

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



**Dissertação**

**Parâmetros Metabólicos e Ruminais de Ovelhas  
Induzidas à Acidose Ruminal Sub-Clínica,  
Suplementadas com Probiótico, Monensina e  
Selênio Levedura**

**Elizabeth Schwegler**

Pelotas, 2009

**Elizabeth Schwegler**

**Parâmetros Metabólicos e Ruminais de Ovelhas  
Induzidas à Acidose Ruminal Sub-Clínica,  
Suplementadas com Probiótico, Monensina e  
Selênio Levedura**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área do conhecimento: Clínica de Ruminantes).

Orientador: Carlos Gil Turnes

Pelotas, 2009

Dados de catalogação na fonte:  
( Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

S412p Schwegler, Elizabeth

Parâmetros metabólicos e ruminais de ovelhas induzidas à acidose ruminal sub-clínica, suplementadas com probiótico, mononensina e selênio levedura / Elizabeth Schwegler. - Pelotas, 2009.

34f. :Il.

Dissertação ( Mestrado em Clínica de Ruminantes ) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária Faculdade de Veterinária. Universidade Federal de Pelotas. - Pelotas, 2009, Carlos Gil Turnes, Orientador.

1. Acidose ruminal sub-clínica 2. Metabolismo 3. Selênio  
4. Probiótico 5. Monensina I Turnes, Carlos Gil (orientador) II  
.Título.

CDD 636.3082

**Banca examinadora:**

Carlos Gil Turnes Dr., Universidade Federal de Pelotas (Orientador)

Marcio Nunes Corrêa, Dr., Universidade Federal de Pelotas

Francisco Augusto B. Del Pino , Dr., Universidade Federal de Pelotas

Félix H. Díaz González, Dr., Universidade Federal do Rio Grande do Sul

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus por sempre estar ao meu lado, me ajudando e confortando quando necessário.

Ao Programa de Pós-graduação em Veterinária e a CAPES pela bolsa de estudos oferecida durante o curso.

Aos meus orientadores Carlos Gil Turnes e Marcio Nunes Corrêa pela paciência, ensinamentos e confiança.

Ao meu Co-orientador Del Pino, pelo seu auxílio em infra-estrutura, ensinamentos e confiança depositada em mim.

Aos integrantes do Núcleo de Pesquisa, Ensino, Extensão em Pecuária (NUPEEC), pelo auxílio em tornar realidade o projeto.

Ao Laboratório de Bioquímica Clínica, Hospital de Clínicas Veterinária pela infra-estrutura e materiais para condução das atividades.

A empresa Irgovel, por seus auxílios nos experimentos realizados por nossa equipe.

Aos meus estagiários “Fritzes” Fabrício, Rodrigo e Pedrinho, pelo companheirismo, dedicação e ter acreditado na idéia.

Meus parceiros de laboratório e amigos queridos, Vivizinha, Paulinha e Mateus, por todo o seu trabalho e amizade.

Aos meus companheiros de jornada Augusto Schneider, Maikel Alan Goulart e Viviane Rabassa, por seus auxílios eternos, sempre dispostos a ajudar.

A todos meus amigos que de alguma forma sempre me auxiliaram, tanto no projeto final como nos pilotos.

Ao Alexandre Hormain Barreto que muito me ajudou durante todo o período do mestrado, com sua disposição, paciência e compreensão.

Aos meus pais pela confiança que sempre depositaram em mim.

## **Lista de Figuras**

|          |                                                                                               |    |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 | Seqüência cronológica das etapas do protocolo de indução da acidose ruminal sub-clínica.....  | 12 |
| Figura 2 | Média do pH ruminal por dia e coleta em animais submetidos a acidose ruminal sub-clínica..... | 14 |

## Lista de Tabelas

|          |                                                                                                                                                                                             |    |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 | Média do pH ruminal de acordo com o dia de indução de acidose ruminal sub-clínica.....                                                                                                      | 13 |
| Tabela 2 | Médias do pH do fluido ruminal por grupo durante o período de indução de acidose ruminal sub-clínica.....                                                                                   | 23 |
| Tabela 3 | Valores médios e o erro padrão da média do pH, da população total de protozoários e dos níveis de cloretos no fluido ruminal durante os dias de indução de acidose ruminal sub-clínica..... | 25 |
| Tabela 4 | Valores médios e o erro padrão da média dos parâmetros sanguíneos durante o período de indução acidose ruminal sub-clínica.....                                                             | 26 |
| Tabela 5 | Valores médios e o erro padrão da média dos parâmetros metabólicos de ovinos após o período de indução de acidose ruminal sub-clínica.....                                                  | 29 |

## Sumário

|                                                                                                                                                                 |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Agradecimentos.....</b>                                                                                                                                      | <b>3</b>  |
| <b>Lista de Figuras.....</b>                                                                                                                                    | <b>4</b>  |
| <b>Lista de Tabelas.....</b>                                                                                                                                    | <b>5</b>  |
| <b>Sumário.....</b>                                                                                                                                             | <b>6</b>  |
| <b>1. Introdução Geral.....</b>                                                                                                                                 | <b>8</b>  |
| <b>2. Objetivo.....</b>                                                                                                                                         | <b>10</b> |
| <b>2.1 Objetivos Específicos.....</b>                                                                                                                           | <b>10</b> |
| <b>3. Protocolo de Indução de Acidose Ruminal Sub-Clínica em Ovinos Mantidos em Sistema De Confinamento.....</b>                                                | <b>11</b> |
| <b>3.1 Introdução.....</b>                                                                                                                                      | <b>11</b> |
| <b>3.2 Materiais e Métodos.....</b>                                                                                                                             | <b>12</b> |
| <b>3.3 Resultados e Discussões.....</b>                                                                                                                         | <b>13</b> |
| <b>3.4 Conclusões.....</b>                                                                                                                                      | <b>14</b> |
| <b>Referências.....</b>                                                                                                                                         | <b>15</b> |
| <b>4. Parâmetros Metabólicos e Ruminais de Ovelhas Induzidas à Acidose Ruminal Sub-Clínica, Suplementadas com Probiótico, Monensina e Selênio Levedura.....</b> | <b>16</b> |
| <b>Resumo.....</b>                                                                                                                                              | <b>17</b> |
| <b>Abstract.....</b>                                                                                                                                            | <b>18</b> |



|                                         |           |
|-----------------------------------------|-----------|
| <b>4.1 Introdução.....</b>              | <b>19</b> |
| <b>4.2 Materiais e Métodos.....</b>     | <b>21</b> |
| <b>4. 2. 1 Análise estatística.....</b> | <b>23</b> |
| <b>4.3 Resultados e Discussão.....</b>  | <b>23</b> |
| <b>4.4 Conclusão.....</b>               | <b>30</b> |
| <b>Referências.....</b>                 | <b>30</b> |

## 1. Introdução Geral

A acidose ruminal sub-clínica (ARS) é uma grande preocupação dentro da pecuária leiteira nos Estados Unidos, pois as perdas econômicas causadas pela ARS são resultantes da redução da eficiência da produção leiteira, abate prematuro de animais, além das perdas por mortes (KRAUSE & OETZEL, 2005). Os custos da ARS, resultantes da produção perdida por animal, é estimado em US\$ 1,12/dia por vaca (STONE, 1999). Com o sistema de produção cada vez mais intensivo, onde se leva em consideração os índices produtivos, é cada vez maior a inclusão de alimentos concentrados na dieta (80-95% da dieta total), acarretando desordens ruminais, como a acidose ruminal (KREHBIEL et al., 1995). A ARS pode atingir até 20% dos rebanhos leiteiros e de corte (OETZEL, 2004), enquanto a acidose ruminal clínica pode atingir em torno de 5% do rebanho (INGVARTSEN, 2006), podendo ainda variar de acordo com o sistema de produção.

O que torna os índices e as perdas maiores com a forma sub-clínica são seus sinais clínicos não evidentes, tornando mais difícil seu diagnóstico. Para se obter um diagnóstico preciso da doença, deve-se levar em consideração além do pH do fluido ruminal e da redução do número de protozoários, a diminuição dos níveis de gordura no leite, redução do pH da urina e aumento de fosfatos inorgânicos, considerando-se a associação destes achados com o histórico do rebanho (ENEMARK, 2009).

Estudos para melhorar a eficiência ruminal, com intuito de aumentar a produção dos ruminantes domésticos, tem sido uma prioridade dos nutricionistas. Durante muitos anos, a fim de reduzir a perda de energia e nutrientes, tem-se utilizado antibióticos nas dietas em doses sub-terapêuticas, as quais se revelaram eficazes (MACDONALD et al., 2002, apud GUEDES et al., 2008). Porém, em janeiro de 2006 a União Européia proibiu o uso de qualquer antibiótico como promotor de crescimento nas rações, o que tem contribuído para intensificar a procura por aditivos alternativos que satisfaçam às exigências do mercado (GATTASS et al., 2008).

Entre os aditivos alternativos existentes no mercado destacam-se as culturas de leveduras, que atuam melhorando a digestão das fibras no rúmen e de sua habilidade para impedir um declínio do pH do fluido ruminal, evitando o aumento dos níveis de ácido láctico (GUEDES et al., 2007). Outro suplemento que vem sendo estudado, para ser aplicado em sistemas de produção é o selênio orgânico, mais

corretamente chamado de selênio levedura. O selênio orgânico, é assim chamado, porque são leveduras que crescem sobre um substrato rico em selênio e pouco enxofre (GIERUS, 2007). Este mineral está sendo enfatizado, pois em sistemas de alta produção devido aos altos níveis de ARS, a sua absorção fica prejudicada. Ainda, segundo ORTOLANI (2002) a baixa do pH do rúmen pode diminuir o aproveitamento do selênio ingerido, sendo que somente 54% deste mineral é absorvido em condições fisiológicas (ORTOLANI, 2002).

## **2. Objetivo**

O objetivo geral desta dissertação foi determinar a eficácia do uso de probióticos, monensina e selênio levedura em situações de acidose ruminal sub-clínica.

### **2.1 Objetivos Específicos:**

- Avaliar parâmetros ruminais e metabólicos de ovelhas suplementadas com probiótico, monensina e selênio levedura, induzidas à acidose ruminal subclínica;
  - Verificar a ocorrência de alterações sub-clínicas através da análise do fluído ruminal (pH, quantificação de protozoários);
  - Avaliação do perfil metabólico sanguíneo pelas avaliações de glicose, desidrogenase láctica, aspartato amino transferase (AST), gama glutaril transferase (GGT), sódio, potássio, magnésio, cálcio, fósforo, cloretos.

### **3. Protocolo de Indução de Acidose Ruminal Sub-Clínica em Ovinos Mantidos em Sistema De Confinamento**

SCHWEGLER<sup>1</sup>, E.; SILVEIRA<sup>1</sup>, P. A. S.; THEOBALD<sup>1</sup>, F.; HAAS<sup>1</sup>, R. R.; GOULART<sup>1</sup>, M. A.; RABASSA<sup>1</sup>, V. R.; DEL PINO<sup>1</sup>, F. A. B.; CORRÊA<sup>1</sup>, M. N.; GIL-TURNES<sup>1</sup>, C..

1- Universidade Federal de Pelotas  
Faculdade de Veterinária - Departamento de Clínicas Veterinária  
Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC)  
Campus Universitário – 96010 900 - Pelotas/RS - [www.ufpel.edu.br/nupeec](http://www.ufpel.edu.br/nupeec)  
E-mail: [nupeec@ufpel.edu.br](mailto:nupeec@ufpel.edu.br) - Tel: (53) 3275 7295

#### **3.1 Introdução**

A acidose ruminal sub-clínica (ARS) é uma doença que acomete rebanhos de alta produtividade, os quais possui sua dieta a base de concentrado. Quando o animal está em ARS, o pH do rúmen permanece a maior parte do dia abaixo de 6,0, o que retarda a fermentação do alimento volumoso e prejudica a biossíntese de proteína bacteriana (MÜHLBACH, 2007). Os animais com ARS apresentam-se aparentemente sadios, sem a presença de sinais clínicos evidentes, porém sua produção é significativamente menor (BOUDA & QUIROZ-ROCHA, 2000).

Este desequilíbrio ruminal pode acontecer em bovinos de corte, sendo que OETZEL (2004) identificou uma prevalência de 20% de ARS em um rebanho comercial, bem como na pecuária leiteira, aonde que STONE (1999) calculou uma perda diária individual de \$1,12 com esta alteração. Ainda, a ovinocultura também deve ser considerada, por expressar importância nos sistemas pecuários (CEZAR et al., 2004), além de servir como modelo experimental para conhecimentos aplicáveis a ruminantes (MIKEL et. al., 2004).

Ainda são poucos os estudos referentes aos mecanismos envolvidos nas perdas produtivas geradas pela ARS, devido à dificuldade de se produzi-la experimentalmente. A falta de um protocolo de indução de ARS, por um período maior que 24 horas, sem que ocorra a doença clínica, levou a procura do

aperfeiçoamento da técnica, de modo que possam ser coletados dados consistentes de perdas nos sistemas de produção.

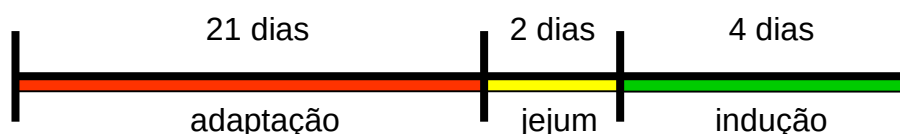
O objetivo deste estudo foi elaborar um protocolo de indução e manutenção de ARS em ovinos mantidos em sistema de confinamento.

### 3.2 Materiais e Métodos

O experimento foi realizado nas dependências do Hospital de Clínicas Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (Pelotas/RS), pelo grupo de pesquisa NUPEEC (Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária). Foram utilizados seis ovinos, sem raça definida (SRD), com peso médio de 35kg, mantidos em sistema de confinamento. Os animais estavam adaptados por mais de 21 dias, a uma dieta a base de feno de tifton e concentrado, recebendo 1% de seu peso vivo de concentrado (ração IRGOVINO PREMIUM®) com 15% de proteína bruta.

Antes do período de indução, os animais foram mantidos em jejum alimentar por dois dias, recebendo apenas dieta hídrica.

A indução da acidose ruminal sub-clínica foi realizada com a mesma ração já utilizada, fornecida à vontade (figura 1). A coleta de líquido ruminal foi realizada quatro vezes ao dia por sondagem oro-ruminal (8h, 12h, 16h e 19h), por quatro dias consecutivos. Após a coleta, o fluído ruminal foi coado e aferido seu pH com um potenciômetro portátil (Phtek®) (ODENYO et al., 1997). Durante todo o período experimental foi observado o comportamento dos animais (alerta ou apatia), presença de ruminação, e ainda a consistência das fezes.



**Figura 1:** seqüência cronológica das etapas do protocolo de indução a acidose ruminal sub-clínica.

Foi utilizado para a análise dos dados software Statistix 8 (2003), utilizando análise de variância.

### 3.3 Resultados e Discussões

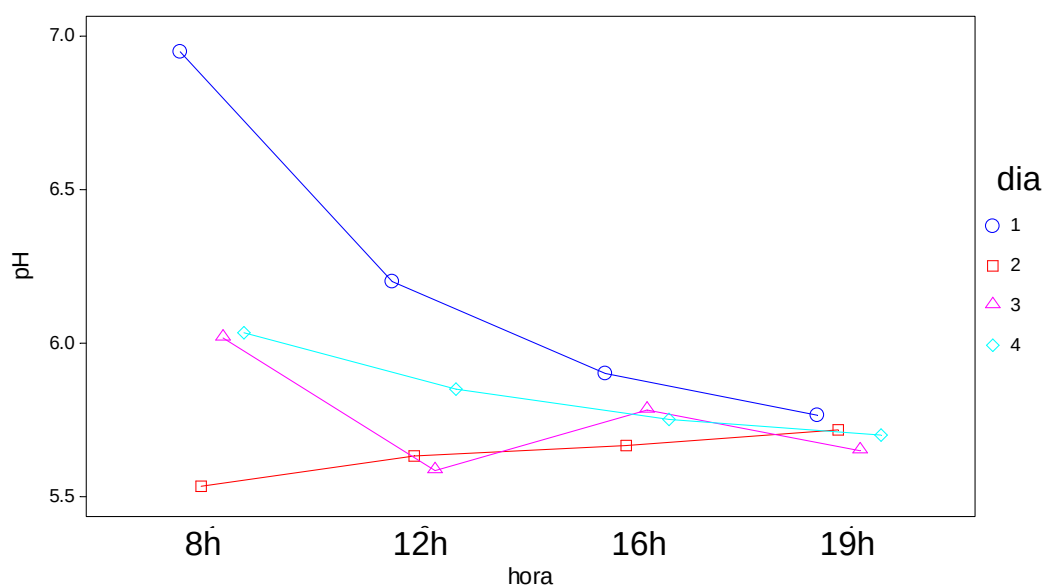
Após oito horas ao início do protocolo de indução, os animais apresentaram seu pH ruminal inferior aos padrões fisiológicos, sendo classificado com ARS (MÜHLBACH, 2007). Os animais responderam ao protocolo de forma homogênea até às 19 h do dia quatro, sendo assim, se mantiveram em ARS durante 75 h consecutivas. Nenhum animal apresentou sinal clínico de acidose ruminal, comprovando a eficácia do protocolo. A tabela 1 demonstra a média de pH diária dos animais de acordo com o dia do protocolo de indução.

**Tabela 1:** Média diária do pH ruminal de acordo com o dia de indução a acidose ruminal sub-clínica

| <b>Dia de indução</b> | <b>Média diária do pH</b> |
|-----------------------|---------------------------|
| 1                     | 6,2 <sup>a</sup>          |
| 2                     | 5,64 <sup>c</sup>         |
| 3                     | 5,76 <sup>bc</sup>        |
| 4                     | 5,83 <sup>b</sup>         |

Valores com letras diferentes entre linhas apresentam diferença  $p < 0,05$ .

A média do pH ruminal por coleta, por dia também estiveram abaixo dos padrões fisiológicos, sendo assim, os animais sempre estiveram em ARS em todas as horas do dia (figura 2).



**Figura 2:** Média do pH ruminal por dia e coleta em animais submetidos a protocolo de indução de acidose sub-clínica.

O protocolo de indução se manteve até o dia 4. No dia 5 os animais começaram a responder de forma heterogênea, e apenas dois animais responderam ao protocolo, sendo que a média se manteve acima de 6.

Os estudos presentes até o momento de ARS, conseguiram manter por apenas dois dias o pH ruminal abaixo de 6 (KRAUSE & OETZEL, 2005).

### 3.4 Conclusão

O protocolo de indução de acidose sub-clínica mostrou-se eficaz por um período de quatro dias. Estes dados são de extrema importância, devido à dificuldade da indução e manutenção da ARS, sem que os animais entrem na forma clínica da doença. O protocolo estudado servirá para estudos futuros, podendo quantificar as perdas causadas por esta doença.



## Referências

BOUDA, J.; QUIROZ-ROCHA, G. **Acidose ruminal crônica e diagnóstico diferencial de transtornos ruminais**. In: González, F. H. D.; Borges, J. B.; Cecim, M. Uso de provas de campo e de laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais de bovinos. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.

CEZAR, M.F.; SOUZA, B.B.; SOUZA, W.H.; FILHO, E.C.P., TAVARES, G.P.; MEDEIROS, G.X. Avaliação de parâmetros fisiológicos de ovinos dorper, santa inês e seus mestiços perante condições climáticas do trópico semi-árido nordestino. **Ciência Agrotécnica de Lavras**, Lavras – MG, v. 28, n. 3, p. 614-620, 2004.

KRAUSE, K. M.; OETZEL, G. R. Inducing Subacute Ruminal Acidosis in Lactating Dairy Cows. *Journal Dairy Science*, v. 88, p. 3633-3639, 2005.

MIKEL, A.; TASENDE, C.; SOSA, C.; GARÓFALO, E. G. The role of sex steroid receptors in sheep female reproductive physiology. **Reproduction, fertility and development**, v. 16, p. 385-394, 2004.

MÜHLBACH, P.R.F. NUTRIÇÃO DA VACA EM LACTAÇÃO E A QUALIDADE DO LEITE. Departamento de Zootecnia – Faculdade de Agronomia – UFRGS. [http://www.nucleovet.com.br/materias\\_arquivos/06.doc](http://www.nucleovet.com.br/materias_arquivos/06.doc), acesso em 13 de julho de 2007.

ODENYO, A.A; OSUJI, P.O.; KARANFIL, O. Effect of multipurpose tree (MPT) supplements on ruminal ciliate protozoa. **Animal Feed Science Technology**, v. 67, p. 169-180, 1997.

OETZEL, G. R.. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. **Veterinary Clinical Food Animal**, v. 20, p. 651-674, 2004.

STONE, W. C. **The effect of subclinical rumen acidosis on milk components**. Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf., Syracuse, NY. Cornell Univ., Ithaca, NY, p. 40-46, 1999.

**4. Parâmetros Metabólicos e Ruminais de Ovelhas Induzidas à Acidose  
Ruminal Sub-Clínica, Suplementadas com Probiótico, Monensina e Selênio  
Levedura**

SCHWEGLER<sup>1</sup>, E.; SILVEIRA<sup>1</sup>, P. A. S.; THEOBALD<sup>1</sup>, F.; HAAS<sup>1</sup>, R. R.;  
HOFFMANN<sup>1</sup>, D.; NETO<sup>1</sup>, J. W. S.; HAX<sup>1</sup>, L. T.; LIMA<sup>1</sup>, M. E.; LOPES<sup>1</sup>, M. S.;  
MONTAGNER<sup>1</sup>, P.; AZAMBUJA<sup>1</sup>, R.; GOULART<sup>1</sup>, M. A.; SILVA, V. M.; RABASSA<sup>1</sup>,  
SCHNEIDER<sup>1</sup>, A.; ROOS, T. B.; V. R.; DEL PINO<sup>1</sup>, F. A. B.; CORRÊA<sup>1</sup>, M. N.; GIL-  
TURNES<sup>1</sup>, C..

1- Universidade Federal de Pelotas  
Faculdade de Veterinária - Departamento de Clínicas Veterinária  
Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC)  
Campus Universitário – 96010 900 - Pelotas/RS - [www.ufpel.edu.br/nupeec](http://www.ufpel.edu.br/nupeec)  
E-mail: [nupeec@ufpel.edu.br](mailto:nupeec@ufpel.edu.br) - Tel: (53) 3275 7295

## Resumo

SCHWEGLER, Elizabeth. **Parâmetros Metabólicos e Ruminais de Ovelhas Induzidas à Acidose Ruminal Sub-Clínica, Suplementadas com Probiótico, Monensina e Selênio Levedura**. 2009. 34f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas.

O objetivo do estudo foi determinar a eficácia do uso de probiótico (*Saccharomyces cerevisiae*), monensina e selênio levedura, sobre parâmetros ruminais e metabólicos de ovinos em situações de acidose ruminal sub-clínica (ARS). Foram utilizados 36 ovinos sem raça definida, com idade média de 12 meses e peso médio de  $31 \pm 8$  kg. Os animais foram mantidos em sistema de confinamento, recebendo dieta a base de feno de tifton (*Cynodon sp.*) e concentrado. O experimento possuía 6 grupos experimentais, com 6 animais em cada grupo, tendo sido diferenciados pelo seu suplemento, sendo a dieta básica a mesma. Os tratamentos utilizados foram: grupo CO: controle, apenas a dieta básica; CS: com adição de 1,5 g /animal/ dia Sel-Plex<sup>®</sup> (selênio orgânico); CM: 11 ppm/ kg matéria seca da dieta de monensina sódica; CSM: 11ppm/kg matéria seca da dieta de monensina sódica, juntamente com 1,5 g/ animal/ dia de Sel-Plex<sup>®</sup>; CY: 3 g/ animal/ dia de Yea-Sacc<sup>®</sup> (probiótico a base de *Saccharomyces cerevisiae*); CSY: 3 g/ animal/ dia de Yea-Sacc<sup>®</sup> e ainda 1,5 g/ animal/ dia de Sel-Plex<sup>®</sup>. Os animais receberam esta dieta durante 21 dias, antes do início das coletas. Após o período de adaptação, os ovinos foram submetidos a 2 dias de restrição ao concentrado e volumoso, recebendo apenas o suplemento e água a vontade. Posteriormente os animais passaram por 4 dias de indução de ARS, com livre acesso à fração concentrada da dieta, recebendo no primeiro arraçoamento do dia os suplementos de cada tratamento. Nos três dias subsequentes ao período de indução, os animais retornavam a dieta do período de adaptação recebendo os respectivos suplementos de acordo com cada tratamento (período de recuperação). Foram realizadas coletas de líquido ruminal 4 vezes ao dia (8, 12, 16 e 19 h), no período de indução, e às 12 h no período de recuperação. No líquido ruminal foi avaliado pH, contagem total de protozoários e teor de cloretos. A coleta de sangue foi realizada 1 vez ao dia no último dia de adaptação da dieta, nos quatro dias de indução e nos três dias de recuperação. Os parâmetros metabólicos avaliados foram: aspartato amino transferase (AST), gama glutaril transferase (GGT), desidrogenase láctica (LDH), glicose, cálcio, cloretos, fósforo, magnésio, sódio, potássio. Os resultados demonstram que o grupo controle se mostrou superior aos demais quanto ao pH do fluido ruminal ( $p < 0,05$ ). Os cloretos ruminais e a contagem total de protozoários não tiveram diferença entre grupos, apenas entre dias de indução. Nos parâmetros metabólicos, os resultados não tiveram diferença entre os tratamentos utilizados, apenas entre os dias de coleta. Conclui-se que os suplementos utilizados não foram eficazes em manter os parâmetros ruminais e metabólicos em níveis fisiológicos em animais submetidos à acidose ruminal sub-clínica.

**Palavras chaves:** acidose ruminal sub-clínica, probiótico, monensina, selênio, metabolismo.

### Abstract

SCHWEGLER, Elizabeth. **Ruminal and metabolic parameters of sheep induced to sub-acute ruminal acidosis and fed with probiotic, monensin and selenium yeast.** 2009. 34p. Master's Dissertation – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brazil.

The aim of this study was to observe the efficiency of probiotics, monensin and selenium yeast fed to sheep induced to sub-acute ruminal acidosis (SARA) on the maintenance of normal ruminal and metabolic parameters. Thirty six sheep that averaged 12 months old and  $31 \pm 8$  kg of body weight were used. The sheep were kept in a confinement system, receiving a diet based on tifton hay (*Cynodon sp.*) and concentrate. The sheep were divided in six groups, each one containing six animals. The treatments were: CO group, control, receiving the diet without any supplement; CS, with the addition of 1.5 g/animal/day of Sel-Plex<sup>®</sup> (selenium yeast); CM, with the addition of 11 ppm/kg of diet dry matter (DM) of monensin; CSM, with the addition of 11 ppm/kg of diet DM of monensin and 1.5 g/animal/day of Sel-Plex<sup>®</sup>; CY, with the addition of 3 g/animal/day of Yea-Sacc<sup>®</sup> (probiotic *Saccharomyces cerevisiae*); CSY, with the addition 3 g/animal/day of Yea-Sacc<sup>®</sup> and 1.5 g/animal/day of Sel-Plex<sup>®</sup>. The sheep receive this diet for 21 days before the start of the experiment. After the adaptation period the sheep were submitted to 2 days of fasting, receiving just the supplement and water *ad libitum*. After this, the sheep were submitted to 4 days of induced SARA, with concentrate *ad libitum* and received in the first morning meal the supplement specific for each group. Three days after the induction period, the sheep received the usual diet, but still receiving the supplements. Ruminal fluid collections were performed four times daily (8 and 12 AM and 4 and 7 PM) during the induction period and once daily (12 AM) in the recuperation period. The ruminal fluid was evaluated for pH, number of protozoa and chlorides concentration. Blood collection was performed once daily in the last day of adaptation, on the four days of induction and on the three days of recuperation. The metabolic parameters evaluated were: aspartate aminotransferase (AST), gamma glutamil transferase (GGT), lactate desidrogenase (LDH), glucose, calcium, chlorides, phosphorus, magnesium, sodium and potassium. The results showed that control group was superior regarding ruminal pH ( $P < 0.05$ ). Ruminal chlorides and number of protozoa did not differ between groups ( $P > 0.05$ ), only between day of the experiment ( $P < 0.05$ ). Also, there was no difference in the blood metabolic parameters between groups ( $P > 0.05$ ), but only between day of the experiment ( $P < 0.05$ ). Thus, the supplements used in this experiment were not efficient in maintaining ruminal and metabolic parameters at physiological levels in sheep submitted to sub-acute ruminal acidosis.

**Keywords:** sub-acute ruminal acidosis, probiotics, monensin, selenium, metabolism.

#### 4.1. Introdução

A Acidose Ruminal Sub-Clínica (ARS) é uma doença comum em bovinos altamente produtivos que recebem uma dieta com ingredientes de rápida digestão (PLAIZIER et al., 2009). OETZEL (2004) constatou que 20% dos bovinos de rebanhos comerciais leiteiros possuem ARS e ENEMARK (2009) estimou o custo associado a ARS nos Estados Unidos, o qual seria de US\$ 500 milhões a US\$ 1 bilhão anualmente, com um custo por animal/dia de US\$ 1,12.

Como esta doença sub-clínica está altamente difundida nas propriedades de alta produção leiteira, NORDLUND et al. (1995) sugeriram dois distintos grupos de risco em rebanhos leiteiros: (1) no início da lactação, em que as vacas são expostas à dieta rica em energia; e (2) as vacas que estão no meio da lactação, devido à sua elevada ingestão destes alimentos altamente energéticos.

Durante a ARS o pH do rúmen é deprimido durante várias horas por dia, devido ao acúmulo de ácidos graxos voláteis e insuficientes tampões ruminais (PLAIZIER et al., 2009). Um animal está com ARS quando o pH do líquido ruminal estiver abaixo de 6,0 após quatro horas da alimentação (PLAIZIER, 2004). Já STONE (2004), considera que ARS ocorre quando o pH do rúmen está igual ou abaixo de 5,6 por um período maior que 3 horas por dia.

A ocorrência da ARS pode acarretar na diminuição da ingesta de matéria seca (IMS), redução do percentual de gordura no leite, diarreia, laminite, abscessos hepáticos, além da produção de endotoxinas bacterianas e inflamação caracterizada por aumento de proteínas de fase aguda (PLAIZIER et al., 2009). A baixa do pH do rúmen também pode diminuir o aproveitamento do selênio ingerido, sendo que apenas 54% deste mineral é absorvido em condições fisiológicas (ORTOLANI, 2002). O Selênio além de eliminar os peróxidos intracelulares, através da enzima glutathione peroxidase (GSH-Px), constatou-se também em ovinos jovens que a sua suplementação aumenta o número de protozoários ruminais (MIHALIKOVÁ, 2005). Quando ocorre deficiência de selênio a atividade da enzima GSH-Px fica reduzida, observando-se aumento dos níveis de enzimas indicadoras de danos musculares, principalmente aspartato amino transferase (AST) e creatina quinase (CK) (GONZÁLEZ & SILVA, 2006).

Várias tentativas vêm sendo utilizadas para permitir que animais se alimentem com altas quantidades de carboidratos, sem que ocorra o comprometimento da flora ruminal. Uma alternativa é a utilização de ionóforos, dentre eles a monensina sódica, que age inibindo o crescimento de bactérias Gram Positivas, como *Streptococcus bovis*, produtora de lactato, que é um dos ácidos responsáveis pela acidose clínica (RANGEL et al., 2008). Os ionóforos modificam a produção de ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen, por meio da diminuição da proporção molar de acetato:butirato, da produção de gás metano e do aumento na produção de propionato (RANGEL et al 2008) .

Uma opção em substituição ao uso de antibióticos em sistemas de produção é a utilização de probióticos. Segundo WALLACE (1994) as leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) removem o oxigênio que chega ao rúmen através do alimento e da saliva, proporcionando aumento no número de bactérias celulolíticas viáveis. Desta forma, o pH do fluído ruminal torna-se mais estável, a metanogênese e a proporção de ácidos graxos voláteis são alteradas e a concentração de ácido láctico diminui (QUEIROZ et al., 2004). Há vários estudos abordando a utilização de probióticos nas dietas, proporcionando o incremento na produção leite e no ganho de peso em bovinos de corte. Este aumento no desempenho produtivo é atribuído ao equilíbrio da flora ruminal, favorecendo as bactérias celulolíticas e as consumidoras de lactato, promovendo um aumento na digestão das fibras e o aumento de proteína microbiana no rúmen, o que é benéfico aos animais em sistemas de confinamento que possuem sua dieta rica em grãos (BEAUCHEMIN et al., 2003). Outro aspecto de extrema relevância é o fato de os probióticos serem microorganismos vivos, tendo a vantagem de eliminar o risco de resistência microbiana aos antibióticos, além de não deixarem resíduo na carne, sendo importante no que diz respeito à alimentação humana (SANTOS, 2004).

A maioria dos trabalhos relata casos de acidose sub-clínica em bovinos, mas esta enfermidade pode acometer a espécie ovina, além destes animais servirem como modelo experimental para os ruminantes (MIKEL et al., 2004).

O diagnóstico da ARS se torna difícil por seus sinais clínicos, por muitas vezes passarem despercebidos, geralmente observado em rebanhos, e não individualmente. Para diagnóstico individual e do rebanho, deve-se levar em consideração além do pH do fluído ruminal e da redução do número de protozoários, a diminuição dos níveis de gordura no leite, redução do pH da urina e aumento de

fosfatos inorgânicos na urina, considerando-se a associação destes achados com o histórico do rebanho (ENEMARK, 2009). Utiliza-se também como auxílio de diagnóstico de doenças de produção (ARS) a análise dos perfis metabólicos. Este permite estabelecer, por meio de análises sanguíneas de um grupo representativo de animais de um rebanho, seu grau de adequação nas principais vias metabólicas (WITTWER, 2000). O perfil metabólico dos animais permite a avaliação da eficiência dos sistemas de alimentação, fornecendo o estudo e diagnóstico de distúrbios nutricionais por meio da avaliação de metabólitos e da comparação dos resultados com valores referenciais populacionais (GONZÁLEZ et al., 2000). Com a determinação do perfil metabólico e da funcionalidade ruminal, podem-se avaliar alterações de ordem clínica e também subclínicas, que comprometem os índices de produtividade dos sistemas (GONZÁLEZ et al., 2000).

#### **4. 2 Materiais e Métodos**

O experimento foi realizado no Hospital de Clínicas Veterinária da Universidade Federal de Pelotas – Brasil, durante o mês de agosto de 2008. Foram utilizados 36 ovinos sem raça definida (SRD), sendo sete ovinos machos e 29 fêmeas. Todos os animais tinham em média 12 meses de idade ( $\pm 4$  meses), peso médio de  $31 \pm 8$  kg e condição corporal de  $2,5 \pm 0,5$  (escala de 1 a 5, RUSSEL, 1991).

Os animais foram divididos em seis grupos experimentais e permaneceram confinados em baias (6 ovinos em cada) com dimensões 2,00 x 3,5 m, com acesso livre à água e recebendo dieta a base de feno de tifton (*Cynodon sp.*, fibra detergente neutra 77,35%, fibra detergente ácida 59,78%, extrato etéreo 1,26%, proteína bruta 7,96%), concentrado (fibra bruta 13,9%, extrato etéreo 5,68%, proteína bruta 14,8%).

A dieta básica de todos os grupos se diferenciava pelo seu suplemento, pois o concentrado (Irgovino Premium® - IRGOVEL - Indústria Riograndense de Óleos Vegetais Ltda., Brasil) e volumoso eram fornecidos na mesma quantidade por tratamento (350 gramas de matéria seca de concentrado e 1650 gramas de matéria seca de feno de tifton) durante o período de adaptação alimentar (21 dias). Os tratamentos utilizados foram: grupo CO: controle, apenas a dieta básica (n=6); grupo

CS: com adição de 1,5 g/ animal/ dia Sel-Plex<sup>®</sup> (selênio orgânico, Sel-Plex-Alltech<sup>®</sup> Lexington, United States); grupo CM: 11 ppm/ kg matéria seca da dieta de monensina sódica (Rumensin 100<sup>®</sup> - Elanco Animal Health, St. Louis, United States); grupo CSM: 11ppm/kg matéria seca da dieta de monensina sódica, juntamente com 1,5 g/ animal/ dia de Sel-Plex<sup>®</sup>; grupo CY: 3 g/ animal/ dia de Yea-Sacc<sup>®</sup> (Alltech<sup>®</sup> Lexington, United States), que é um produto a base de *Saccharomyces cerevisiae* e grupo CSY: 3 g/ animal/dia de Yea-Sacc<sup>®</sup> e ainda 1,5g/ animal/ dia de Sel-Plex<sup>®</sup>. Os suplementos de todos os grupos foram pesados em uma balança de precisão (Bioprecisa<sup>®</sup>) e misturados ao concentrado antes de seu fornecimento aos animais.

Após o período de adaptação os ovinos foram submetidos a 2 dias de restrição ao concentrado e volumoso, recebendo apenas o suplemento diluído em água destilada e fornecido aos animais individualmente por uma seringa, via oral. Após esse período, os animais passaram por 4 dias de indução de ARS, com livre acesso à fração concentrada da dieta, recebendo no primeiro arraçoamento do dia, os suplementos de cada tratamento. Nos três dias subseqüentes ao período de indução, os animais retornavam a dieta do período de adaptação recebendo os respectivos suplementos de acordo com cada tratamento (período de recuperação).

Foram realizadas 4 coletas diárias de líquido ruminal no período de indução (8, 12, 16 e 19 h) e 1 por dia no período de recuperação (12 h). A coleta era realizada por sondagem oro-ruminal e as amostras rapidamente coadas, para a retirada de resíduos alimentares; após o pH foi aferido através de um Peagômetro pHmetro An 2000 microprocessado Analion<sup>®</sup> (Analion Aparelhos e Sensores Indústria e Comércio - São Paulo, Brasil). Posteriormente, o fluído foi filtrado com gaze dobrada 4 vezes, para a obtenção de 5 ml de amostra, destinada a contagem de protozoários (Adaptada de DEHORITY, 1977).

A coleta de sangue foi realizada 1 vez ao dia no último dia de adaptação da dieta, nos quatro dias de indução e nos três dias de recuperação. As amostras foram divididas em dois frascos: frasco 1: EDTA 10% e inibidor de via glicolítica (KF 12%) na proporção de 12 e 16  $\mu\text{L mL}^{-1}$  de sangue, respectivamente; frasco 2: apenas o sangue. Imediatamente, as amostras foram centrifugadas a 1800 X g durante 15 min e divididas em dois tubos tipo eppendorff, previamente identificados, dos quais um foi congelado a -18°C e o outro resfriado a + 4°C.

A quantificação dos metabólitos sanguíneos foi realizada baseada em métodos colorimétricos. As variáveis aspartato amino transferase (AST), cálcio,



cloretos, fósforo, gama glutaril transferase (GGT), glicose, desidrogenase láctica (LDH) e magnésio foram realizadas com kits Labtest® (Labtest Diagnóstica S. A., Minas Gerais, Brasil). As análises de Sódio (Human GmbH® Wiesbaden, Deutschland ) e Potássio (Doles® - Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda., Goiás - Brasil) também foram realizadas pelo método colorimétrico. Para a leitura das amostras utilizou-se um espectrofotômetro de luz visível FEMTO 700 Plus® (Femto Ind. Com. Instrumentos LTDA - São Paulo, Brasil).

#### 4. 2. 1 Análise estatística

Os resultados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média. Todas análises estatísticas foram realizadas no programa SAS 9.0 (SAS Institute Inc., Cary, United States). Os dados foram analisados como medidas repetidas por ovelha usando o ajuste de Compound Symmetry, quando o tratamento, coleta ou interação coleta tratamento foi significativo ( $p < 0,05$ ). Comparações ponto a ponto foram realizadas através do teste de Tukey-Kramer.

#### 4.3 Resultados e Discussões

Os resultados dos valores médios e os efeitos dos tratamentos sobre o pH do fluido ruminal em ovinos induzidos à acidose ruminal sub-clínica (ARS), estão demonstrados na tabela 2.

**Tabela 2:** Médias do pH do fluido ruminal por grupo durante o período de indução de acidose ruminal sub-clínica.

| Parâmetro Ruminal | Médias dos Grupos |                    |                    |                    |                   |                    |
|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
|                   | CO                | CS                 | CM                 | CSM                | CY                | CSY                |
| pH                | 5,98 <sup>a</sup> | 5,85 <sup>ab</sup> | 5,72 <sup>bc</sup> | 5,68 <sup>bc</sup> | 5,66 <sup>c</sup> | 5,74 <sup>bc</sup> |

Médias com diferentes letras na mesma linha indicam diferença estatística  $p < 0,05$ .

CO= controle

CS= adição de 1,5 g de Sel-Plex® por animal

CM= 11 ppm/ Kg de MS ingerida de monensina sódica

CSM= 1,5 g de Sel-Plex® e 11 ppm/ Kg de MS de monensina sódica

CY= 3g de Yea-Sacc® por animal

CSY= 1,5 g de Sel-Plex® e 3g de Yea-Sacc® por animal

Ao avaliarmos a interação entre os grupos experimentais e os dias das coletas, não foram observadas diferenças ( $p>0,05$ ) quanto aos parâmetros ruminiais analisados. No entanto constatou-se diferenças ( $p<0,05$ ) entre os dias de coletas e os valores médios do pH do fluido ruminal entre os grupos experimentais. Além disso, averiguou-se que as médias deste parâmetro diferiram ( $p<0,05$ ) entre os tratamentos (Tabela 1), sendo estes valores de pH ruminal distribuídos dentro dos limites consideráveis para a ocorrência da ARS (pH abaixo de 6,0, conforme PLAIZIER, 2004).

Os resultados demonstraram que ovinos suplementados com dietas contendo probióticos (grupos CY E CSY) e dietas contendo monensina (grupo CM e CSM) apresentaram valores de pH do fluido ruminal abaixo dos observados nos ovinos do grupo controle (CO), durante a indução à ARS, demonstrando que estes suplementos não foram eficazes no controle desta alteração ruminal. Ainda, destaca-se a escassez de estudos avaliando o uso destes suplementos em animais com ARS, havendo somente avaliação em animais com acidose clínica. Em animais saudáveis, estudos realizados por MUTSVANGWA et al. (1992), relataram resultados semelhantes ao do presente trabalho, demonstrando redução do pH do fluido ruminal em bezerros suplementados com probióticos. No entanto, WILLIAMS (1991), observou valores de pH ruminal maiores em animais suplementados com *Saccharomyces cerevisiae* em comparação a animais recebendo dieta controle. Já NUSSIO et al. (2003), reportaram que os valores médios de pH ruminal não diferiram ( $p>0,05$ ) entre animais suplementados com e sem monensina, sendo que estes resultados se equivalem aos nossos achados.

Na tabela 3 estão representados, durante os dias de coletas, os valores médios e o erro padrão da média do pH, da população de protozoários e dos níveis de cloretos no fluido ruminal de ovinos submetidos a indução de ARS.

**Tabela 3:** Valores médios e o erro padrão da média do pH, da população total de protozoários e dos níveis de cloretos no fluido ruminal durante os dias de indução de acidose ruminal sub-clínica.

| Parâmetros<br>ruminais | Dias de Coletas               |                               |                               |                                |
|------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
|                        | 1                             | 2                             | 3                             | 4                              |
| pH                     | 5,53 ± 0,07 <sup>b</sup>      | 5,8 ± 0,06 <sup>a</sup>       | 5,88 ± 0,06 <sup>a</sup>      | 5,84 ± 0,04 <sup>a</sup>       |
| Protozoários/ml        | 40500,95±2742,58 <sup>a</sup> | 29019,29±2400,69 <sup>b</sup> | 19616,43±4811,71 <sup>c</sup> | 34189,86±6445,93 <sup>ab</sup> |
| Cloretos(mEq/L)        | 25,37± 0,78 <sup>a</sup>      | 22,6 ± 1,75 <sup>b</sup>      | 19,67± 0,68 <sup>b</sup>      | 14,04 ± 076 <sup>c</sup>       |

Médias com diferentes letras na mesma linha indicam diferença estatística  $p < 0,005$ .

Os valores médios demonstraram que durante os 4 dias de ARS os animais mantiveram seu pH ruminal abaixo de 6,0. Estes mesmos resultados foram obtidos em outro experimento realizado por nossa equipe (SCHWEGLER et al., 2008), comprovando a eficácia do método de indução. Nos três dias subseqüentes (recuperação), o pH do fluído ruminal de todos animais dos grupos experimentais estavam dentro dos limites fisiológico 6,2 –7,2 descritos por RADOSTITS et al. (2002).

Em relação à população total de protozoários no fluido ruminal, não foram observadas diferenças ( $P > 0,05$ ) entre os grupos experimentais. A população destes protozoários teve redução no período de indução à ARS, estando este resultado de acordo com os achados por NAGARAJA & TITGEMEYER (2007), os quais relatam uma correlação negativa entre a população total de protozoários e a ocorrência da ARS. No entanto AKBAR et al. (1999) observaram aumento significativo na população de protozoários no fluido ruminal de animais que foram suplementados com dietas contendo selênio. Já WILSDORF (1984), sugere que os protozoários são mais resistentes às adversidades do meio quando suplementado com o mineral. Acredita-se que o fato destes animais estarem com ARS, este efeito benéfico do selênio levedura não tenha sido observado. Entretanto, os protozoários desempenham um papel de suma importância no controle do pH do fluido ruminal, pois estes são capazes de engolfar facilmente grânulos de amidos em suspensão no conteúdo ruminal, sendo responsáveis por até 45% da atividade amilolítica no rúmen, e sua população aumenta significativamente em animais suplementados com dietas que possuem um aumento progressivo da fração concentrada (ANTUNES &

RODRIGUEZ, 2006). O número de protozoários não diferiu estatisticamente entre os dias recuperação ( $p>0,05$ ).

Quanto aos níveis de cloretos no fluido ruminal, estes permaneceram dentro dos níveis fisiológicos (15 – 30 mmol/L), segundo BARBOSA et al. (2003). No entanto observa-se ao decorrer dos dias de indução a ARS que estes níveis de cloretos diminuem linearmente ( $p<0,05$ ). Para CAO et al. (1987), a diminuição da concentração de cloretos ruminiais em ovinos induzidos a acidose clínica, ocorre devido ao aumento do gradiente osmótico, acarretando o seqüestro de líquidos da corrente sanguínea para o interior do rúmen, causando uma diluição do fluido ruminal, e reduzindo a concentração deste íon. Os níveis de cloretos não foram avaliados durante o período de recuperação.

Dentre os parâmetros sanguíneos avaliados (Tabela 4), os metabólitos apenas diferenciaram entre dias, independente do seu tratamento.

**Tabela 4:** Valores médios e o erro padrão da média dos parâmetros sanguíneos durante o período de indução acidose ruminal sub-clínica

| Parâmetros sanguíneos | Dias de Coletas           |                           |                           |                           |                           |
|-----------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                       | 0                         | 1                         | 2                         | 3                         | 4                         |
| AST (U/L)             | 55,29± 1,22 <sup>c</sup>  | 59,67± 0,81 <sup>ab</sup> | 59,08± 0,93 <sup>b</sup>  | 58,83± 0,93 <sup>b</sup>  | 61,16± 0,89 <sup>a</sup>  |
| GGT (U/L)             | 84,95± 2,32 <sup>b</sup>  | 102,09± 5,78 <sup>a</sup> | 107,55± 3,78 <sup>a</sup> | 103,86± 3,17 <sup>a</sup> | 110,04± 4,57 <sup>a</sup> |
| LDH (U/L)             | 242,43± 4,83 <sup>a</sup> | 232,94± 4,68 <sup>a</sup> | 242,91± 2,85 <sup>a</sup> | 221,03± 4,07 <sup>b</sup> | 208,25± 3,87 <sup>c</sup> |
| Cloretos (mEq/L)      | 102,09± 0,66 <sup>a</sup> | 82,87± 2,89 <sup>c</sup>  | 94,44± 0,9 <sup>b</sup>   | 105,3± 2,66 <sup>a</sup>  | 102,71± 1,71 <sup>a</sup> |
| Glicose (mg/dl)       | 61,52± 1,13 <sup>c</sup>  | 65,5± 1,79 <sup>bc</sup>  | 73± 1,42 <sup>a</sup>     | 68,28± 2,70 <sup>ab</sup> | 65,48± 1,13 <sup>b</sup>  |
| Magnésio (mg/dl)      | 2,35± 0,09 <sup>b</sup>   | 2,09± 0,04 <sup>c</sup>   | 1,99± 0,03 <sup>d</sup>   | 2,54± 0,07 <sup>b</sup>   | 2,96± 0,08 <sup>a</sup>   |
| Potássio (mmol/L)     | 5,21± 0,09                | 5,08± 0,11                | 4,99± 0,11                | 5,08± 0,11                | 4,88± 0,11                |
| Sódio (mmol/L)        | 129,27± 1,13 <sup>b</sup> | 131,79± 1,37 <sup>b</sup> | 129,3± 0,88 <sup>b</sup>  | 122,95± 0,71 <sup>c</sup> | 135,68± 1,29 <sup>a</sup> |
| Cálcio (mg/dl)        | 9,3± 0,14 <sup>bc</sup>   | 10,3± 0,36 <sup>a</sup>   | 8,58± 1,16 <sup>d</sup>   | 9,08± 0,15 <sup>c</sup>   | 9,46± 0,16 <sup>b</sup>   |
| Fósforo (mg/dl)       | 4,96± 0,22 <sup>c</sup>   | 9,36± 0,28 <sup>a</sup>   | 6,73± 0,26 <sup>b</sup>   | 6,78± 0,28 <sup>b</sup>   | 6,92± 0,31 <sup>b</sup>   |

Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ( $p<0,05$ )

Os parâmetros fisiológicos considerados para discussão dos resultados (Tabela 3) foram descritos por RADOSTITS et al. (2002) e GONZÁLEZ & SILVA (2006).

Os níveis de AST aumentaram durante o período de indução de ARS, mas mantiveram-se dentro dos níveis fisiológicos (60 - 200U/L). Esta enzima é um bom indicador de lesões hepáticas, como também de deficiência de Selênio, devido à necrose segmentar dos músculos esqueléticos causada pela deficiência deste mineral (GONZÁLEZ & SILVA, 2006). Em casos de ARS, o aproveitamento do selênio ingerido é diminuído devido à redução do pH ruminal (ORTOLANI, 2002). Pelos níveis de AST, sugere-se que não há deficiência de selênio, porém, para um diagnóstico mais preciso da deficiência deste mineral deve-se avaliar a atividade da enzima Glutation peroxidase (GSH-Px), pois mais de 75% do selênio ingerido está associado a esta enzima (GONZÁLEZ & SILVA, 2006).

A enzima hepática GGT aumentou significativamente durante o período de indução de ARS, indicando comprometimento deste órgão nos animais submetidos a ARS (MENDONÇA, 2008).

O LDH se manteve dentro dos parâmetros fisiológicos, e estes resultados estão de acordo com BEAUCHEMIN (2003), que observou a atividade desta enzima em animais com ARS dentro dos níveis normais. Ainda, o autor sugere que com a baixa do LDH sanguíneo pode-se descartar os riscos da acidose clínica.

Os teores de cloretos diminuíram nos dois primeiros dias de indução de ARS, permanecendo inferiores aos níveis fisiológicos (95-103 mEq/L). O cloreto é o elemento mais acidogênico da dieta, sendo que em excesso leva a uma acidose metabólica (GOMIDE et al., 2004). RADOSTITS et al. (2002), sugere que em quadros de acidose láctica, a concentração de cloretos diminui, pois o mesmo é seqüestrado para o rúmen.

Quanto aos níveis de glicose, estes aumentaram durante o período de indução, porém mantiveram-se dentro dos parâmetros fisiológicos. Em animais que recebem altas quantidades de concentrado, há um aumento nas proporções de ácido propiônico, o qual é convertido em glicose no fígado (MAAS et al. 2001), aumentando suas concentrações sanguíneas. NOUR (1998), também encontrou elevação dos níveis sanguíneos de glicose após 6 horas de indução a acidose ruminal clínica, sendo que este autor utilizou a farinha de sorgo para indução.

Houve uma redução nos níveis de magnésio nos dois primeiros dias de indução de ARS, sendo que após este período houve uma elevação em seus níveis, ultrapassando o limite fisiológico. OWENS et al. (1998) sugerem que os níveis de magnésio diminuem durante a acidose clínica, concordo com os resultados obtidos

nos dois primeiros dias de indução. Ainda, a hipomagnesemia tem sérias consequências em ruminantes, dentre elas a redução da mobilização das reservas de cálcio (GONZÁLEZ & SILVA, 2006).

As concentrações de potássio não foram alteradas em nenhum dos dias da indução, mantendo-se dentro dos parâmetros fisiológicos. Porém, os níveis de sódio sanguíneo estavam abaixo do fisiológico antes do período de indução, e seus níveis variaram durante os dias de indução, mas se mantiveram levemente inferiores aos níveis fisiológicos. BROWN et al. (2000) comenta que o potássio e o sódio diminuem em casos de acidose clínica, o que não foi observado quanto aos níveis de potássio em animais submetidos à ARS neste estudo. O potássio juntamente com o sódio exercem várias funções no organismo, dentre elas a manutenção no equilíbrio ácido-básico e da pressão osmótica das células (GONZÁLEZ & SILVA, 2006).

Pouco se sabe a respeito dos minerais sanguíneos em animais com acidose ruminal sub-clínica, mas observa-se que o cálcio tem um aumento significativo no primeiro dia de ARS e que o fósforo duplicou seus níveis no primeiro dia e permaneceu elevado nos demais, quando comparado ao dia sem indução. FÜRLL (1994 apud ENEMARK, 2009) se baseou nos níveis de cálcio e fósforo para diagnóstico de acidose clínica, pois estes se apresentam com níveis elevados. Ainda, o fósforo no ruminante tem uma importante função no sistema de tamponamento ruminal. Este atua através de seus altos níveis na saliva, auxiliando na manutenção do pH ótimo do rúmen (GONZÁLEZ & SILVA, 2006). Já RADOSTITS et al. (2002) comenta que a acidose láctica pode levar a uma hipocalcemia temporária, devido à má absorção temporária, e ainda eleva os níveis de fosfato sérico devido a uma falência renal.

A Tabela 5 mostra os níveis sanguíneos nos três dias subseqüentes a indução de ARS, chamado de período de recuperação.

**Tabela 5:** Valores médios e o erro padrão da média dos parâmetros metabólicos de ovinos após o período de indução de acidose ruminal sub-clínica

| Parâmetro metabólico | Dias de Coletas           |                           |                           |                           |
|----------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                      | 0                         | R1                        | R2                        | R3                        |
| AST (U/L)            | 55,29± 1,22 <sup>c</sup>  | 55,03± 1,19 <sup>b</sup>  | 62,39± 1,2 <sup>a</sup>   | 61,8± 0,81 <sup>a</sup>   |
| GGT (U/L)            | 84,95± 2,32 <sup>b</sup>  | 115,6± 2,43 <sup>a</sup>  | 104,94± 3,87 <sup>b</sup> | 104,21±5,1 <sup>ab</sup>  |
| LDH (U/L)            | 242,43± 4,83 <sup>a</sup> | 223,17± 5,07 <sup>b</sup> | 207,17±5,67 <sup>c</sup>  | 227,87±4,16 <sup>b</sup>  |
| Cloretos (mEq/L)     | 102,09± 0,66 <sup>a</sup> | 87,83± 1,66 <sup>c</sup>  | 101,32± 2,55 <sup>a</sup> | 94,02± 3,16 <sup>b</sup>  |
| Glicose (mg/dl)      | 61,52± 1,13 <sup>bc</sup> | 59,89± 0,83 <sup>c</sup>  | 65,51± 1,21 <sup>b</sup>  | 68,7± 1,06 <sup>a</sup>   |
| Magnésio (mg/dl)     | 2,35± 0,09 <sup>b</sup>   | 2,41± 0,05 <sup>b</sup>   | 2,11± 0,06 <sup>c</sup>   | 2,7± 0,08 <sup>a</sup>    |
| Potássio (mmol/L)    | 5,21± 0,09                | 5,05± 0,13                | 5,04± 0,11                | 5,28± 0,13                |
| Sódio (mmol/L)       | 129,27± 1,13 <sup>b</sup> | 132,08± 0,99 <sup>a</sup> | 127,23± 1,91 <sup>b</sup> | 126,02± 1,48 <sup>b</sup> |
| Cálcio (mg/dl)       | 9,3± 0,14 <sup>a</sup>    | 8,33± 0,14 <sup>c</sup>   | 8,92± 0,17 <sup>b</sup>   | 8,11± 0,09 <sup>c</sup>   |
| Fósforo (mg/dl)      | 4,96± 0,22 <sup>c</sup>   | 5,75± 0,27 <sup>b</sup>   | 7,59± 0,29 <sup>a</sup>   | 5,05± 0,14 <sup>c</sup>   |

Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente (p<0,05).

Observa-se na Tabela 5 que mesmo três dias após o final da indução de ARS os animais apresentavam suas enzimas hepáticas elevadas. A AST não ultrapassou os limites fisiológicos para a espécie, mas a GGT permaneceu acima do recomendado. Os níveis de LDH apesar das diferenças estatísticas se mostram inferiores ao limite fisiológico, assim como descrito anteriormente, descartando a hipótese de acidose clínica.

Os teores de cloretos foram reduzidos apenas no primeiro dia após o término de indução de ARS, após permanecendo dentro do limites considerados fisiológicos.

As concentrações de glicose, assim como no período de indução permaneceram levemente elevadas até três dias após do término do período de indução de ARS.

Os níveis de magnésio nos dias de recuperação permaneceram dentro fisiológico, apesar das diferenças estatísticas entre eles. O Potássio assim como durante o período de indução a ARS não alterou seus níveis sanguíneos.

O sódio reduziu suas concentrações a partir do segundo dia de recuperação, e as concentrações de sódio de todos os dias do experimento estiveram levemente abaixo do fisiológico. O cálcio já no primeiro dia de recuperação diminuiu suas concentrações, se mantendo inferior a coleta controle.

As concentrações de fósforo, por dois dias após o termino do período de indução se mantiveram elevados, sendo superior a coleta controle, assim como durante a ARS.

#### 4.4 Conclusão

Os suplementos monensina sódica e *Saccharomyces cerevisiae* propostos no experimento não influenciaram nos parâmetro ruminais e metabólicos de ovelhas induzidas à ARS. Ainda, em animais com ARS a população de protozoários ruminais fica comprometida, bem como há alteração nas concentrações de minerais sanguíneos, mas pouco se sabe como a ARS causa estas alterações metabólicas.

Mais pesquisas devem ser realizados para entender os mecanismos da ARS a nível sanguíneo, devido à importância econômica que esta patologia traz, causando grandes prejuízos em sistemas de produção.

#### Referências

- AKBAR M.A., KULDIP, KUMARI R., SINGH N. Effect of feeding bypass protein with and without biopromotors on milk production, and certain rumen and blood metabolites in lacting Murrah buffaloes. **Indian Journal Animal Science**. v. 69, p. 967–971, 1999.
- ANTUNES, R. C.; RODRIGUEZ, N. M. Metabolismo de Carboidratos Não estruturais. In: **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Ed. Funep, 2006. p 237-238.
- BARBOSA, J. D.; ÁVILA, S. C.; DIAS, R. V. C.; PFEIFER, I. B.; OLIVEIRA, C. M. C. Estudo comparativo de algumas provas funcionais do fluido ruminal e de metabólitos sanguíneos de bovinos e bubalinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira** v.23(1) p. 33-37, 2003
- BEAUCHEMIN, K. A.; YANG, W. Z.; MORGAVI, D. P.; GHORBANI, G. R.; KAUTZ, W.; LEEDLE, J. A. Z. Effects of bacterial direct-fed microbials and yeast on site and extent of digestion, blood chemistry, and subclinical ruminal acidosis in feedlot cattle. **Journal Animal Science** v. 81 p. 1628-1640, 2003.
- BROWN, M. S., C. R. Krehbiel, M. L. Galyean, M. D. Remmenga, J. P. Peters, B. Hibbard, J. Robinson, and W. M. Moseley. Evaluation of models of acute and subacute acidosis on dry matter intake, ruminal fermentation, blood chemistry, and endocrine profiles of beef steers. **Journal Animal Science** v. 78. p. 3155–3168, 2000.



CAO G.R., ENGLISH, P.B., FILIPPICH, L.J.; INGLIS, S. Experimentally induced lactic acidosis in the goat. **Australian Veterinary Journal** v.64, p. 367-370, 1987.

DEHORITY B.A.. **Classification and Morphology of Rumen Protozoa**. Department of Animal Science, Ohio, p.82, 1977.

ENEMARK, J. M. D. The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA): A review. **The Veterinary Journal**, v.176, p. 32–43, 2009.

GATTASS, C. B. A.; MORAIS, M. G.; ABREU, U. G. P.; FRANCO, G. L.; STEIN, J., LEMPP, B. Efeito da suplementação com cultura de levedura na fermentação ruminal de bovinos de corte. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.37, p.711-716, 2008.

GIERUS, M. Fontes orgânicas e inorgânicas de selênio na nutrição de vacas leiteiras: digestão, absorção, metabolismo e exigências. **Ciência Rural**, v.37, p.1212-1220, 2007.

GOMIDE, C. A.; ZANETTI, M. A.; PENTEADO, M. V. C.; SILVA, N. M. A.; DEL CLARO, G. R.; NETTO, A. S. Diferença cátion-aniônica da dieta no balanço de sódio, potássio, cloro e enxofre em ovinos. **Acta Scientiarum Animal Sciences**. v. 26, p. 373-378, 2004.

GONZÁLEZ, F.H.D. et al. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. p. 1-106.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução a Bioquímica Clínica Veterinária**. 2ª Edição. Porto Alegre: Editora da UFRS, 2006. 246 – 247p.

GUEDES, C. M.; GONÇALVES, D.; RODRIGUES, M. A. M.; SILVA, A. D. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. **Animal Feed Science and Technology**. v. 145, p. 27–40, 2008.

INGVARTSEN, K.L. Feeding- and management-related diseases in the transition cow Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. **Animal Feed Science and Technology**, v.126, p. 175–213, 2006.

KRAUSE, K. M.; STONE, W. C. Inducing Subacute Ruminal Acidosis in Lactating Dairy Cows. **Journal Dairy Science** v.88, p.3633–3639, 2005.

KREHBIEL, C. R.; BRITTON, R. A.; HARMON, D. L.; WESTER, T. J.; STOCK, A. The Effects of Ruminal Acidosis on Volatile Fatty Acid Absorption and Plasma Activities of Pancreatic Enzymes in Lambs. **Journal Animal Science** v.73, p. 3111–3121, 1995.

MAAS, J.A.; WILSON, G.F.; McCUTCHEON, S.N.; LYNCH, G.A.; BURNHAM, D.L.; FRANCE, J. The effect of season and monensin sodium on the digestive characteristics of autumn and spring pasture fed to sheep. **Journal of Animal Science**, v.79, p.1052-1058, 2001.

MENDONÇA, F. S.; CAMARGO, L. M.; FREITAS, S. H.; DÓRIA, R. G. S.; EVÊNCIO, L. B.; NETO, J. E. ASPECTOS CLÍNICOS E PATOLÓGICOS DE UM SURTO DE FOTOSSENSIBILIZAÇÃO HEPATÓGENA EM OVINOS PELA INGESTÃO DE *Brachiaria decumbens* (Gramineae) NO MUNICÍPIO DE CUIABÁ. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 1034-1041, 2008.

MIHALIKOVÁ, K.; GREŠÁKOVÁ, L.; BOLDIŽÁROVÁ, K.; FAIX, S.; LENG, L.; KÍŠIDAYOVÁ, S.. The Effects of Organic Selenium Supplementation on the Rumen Ciliate Population in Sheep. **Folia Microbiologia**. v. 50 (4), p. 353–356, 2005.

MIKEL, A.; TASENDE, C.; SOSA, C.; GARÓFALO, E. G..The role of sex steroid receptors in sheep female reproductive physiology. **Reproduction, fertility and development**, v. 16, pág 385-394, 2004.

MUTSVANGWA, T.; EDWARDS, I.E.; TOPPS, J.H. et al. The effect of dietary inclusion of yeast culture (Yea-Sacc) on patterns of rumen fermentation, food intake and growth of intensively fed bulls. **Animal Production**, v.55, n.1, p.35-40, 1992.

NAGARAJA, T. G.; TITGEMEYERT, E. C. Ruminal Acidosis in Beef Cattle: The Current Microbiological and Nutritional Outlook. **Jornal Dairy Science** v. 90; p.(E. Suppl.) E17–E38, 2007

NORDLUND, K.V., Garrett, E.F., Oetzel, G.R.. Herd-based rumenocentesis: a clinical approach to the diagnosis of subacute rumen acidosis. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian** 17, p. 48-56, 1995.

NOUR, M. S. M; ABUSAMRA, M. T.; HAGO, B. E. D. Experimentally induced lactic acidosis in Nubian goats: Clinical, biochemical and pathological investigations. **Small Ruminant Research**, v. 31, p. 7-17, 1998.

NUSSIO, C. M. B.; SANTOS, F. A. P.; ZOPOLLATTO, M.; PIRES, A. V.; MORAIS, J. B.; FERNANDES, J. J. R. Parâmetros de Fermentação e Medidas Morfométricas dos Compartimentos Ruminais de Bezerros Leiteiros Suplementados com Milho Processado (Floculado vs. Laminado a Vapor) e Monensina. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.32, n.4, p.1021-1031, 2003.

OETZEL, G. R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. **Veterinary Clinical Food Animal**, v. 20, p. 651 – 674, 2004.

ORTOLANI, E.L. Macro e microelementos. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**, 2002. p.641-651.

OWENS, F. N., D. S. Secrist, W. J. Hill, and D. R. Gill. Acidosis in cattle: A review. **Journal Animal Science** v.76 p. 275–286, 1998.

PLAIZIER, J.C.,. Alfalfa as chopped hay or silage in alfalfa based total mixed rations for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 87, p. 2495–2505, 2004.

PLAIZIER, J.C.; KRAUSE, D.O; GOZHO, G.N; B.W. McBride. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. **The Veterinary Journal**, v.176, p. 21–31, 2009.

QUEIROZ, R. C.; BERGAMASCHINE, A. F.; BASTOS, J. F. P.; SANTOS, P. C.; LEMOS, G. C. Uso de Produto à Base de Enzima e Levedura na Dieta de Bovinos: Digestibilidade dos Nutrientes e Desempenho em Confinamento. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.33, n.6, p.1548-1556, 2004.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária: Um tratado de Doenças de Bovinos, Ovinos, Suínos Caprinos e Equinos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 157- 262p.

RANGEL, A. H. N.; LEONEL, F. P.; SIMPLÍCIO, A. A.; JÚNIOR, A. F. M. Utilização de ionóforos na produção de ruminantes. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, pág. 264-273, 2008.

RUSSEL, A., 1991. Body condition scoring of sheep. In: Boden, E. (Ed.), *Sheep and goat practice*. Baillière Tindall, Philadelphia, pp. 3-10.

SANTOS, J.R.L. **Efeito de probiótico na translocação de Salmonella enteritidis e na eficiência alimentar de frangos de corte**. 2004. Dissertação (Mestrado em Ciências)-Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

SCHWEGLER, E. ; SILVEIRA, P. A. S.; THEOBALD, F. ; HAAS, R. R.; GOULART, M. A.; RABASSA, V. R.; CORRÊA, M. N.; Del Pino, F. A. B.; GIL-TURNES, C.. Protocolo de Indução de Acidose Ruminal Sub-Clínica em Ovinos Mantidos em Sistema de Confinamento. In: 35 Conbravet - Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 2008, Gramado. **Anais do 35º Conbravet - Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, 2008.

STONE, W. C. The effect of subclinical rumen acidosis on milk components. In: **Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf.**, Syracuse, NY, 1999, p. 40-46.

STONE, W.C.,. Nutritional approaches to minimize subacute ruminal acidosis and laminitis in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.87 p.(E.Suppl.), E13–E26, 2004.

WALLACE, R.J. Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. **Journal of Animal Science**, v.72, p.2992-3003, 1994.

WILLIAMS, P.E.V.; TAIT, C.A.G.; INNES, G.M. et al. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. **Journal of Animal Science** , v.69, n.7, p.3016-3026, 1991.

WILSDORF V.G., HEINZE W. KRENGEL B. Studies into the action of sulfamerazine, sulfur, selenium, and/or vitamin E on rumen infusoria of cattle. **Mh. Veterinary Medicine**, v.39, p.700–703 (1984).

WITTWER, F. (2000) Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; BARCELLOS, J. O.; OSPINA, H.; RIBEIRO, L. A. O. **Perfil Metabólico em Ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.