

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



Tese

Afecções podais em bovinos: diagnóstico, profilaxia e patogenia

Antônio Amaral Barbosa

Pelotas, 2019

Antônio Amaral Barbosa

Afecções podais em bovinos: diagnóstico, profilaxia e patogenia

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Marcio Nunes Corrêa
Coorientador: Charles Ferreira Martins

Pelotas, 2019

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

B238a Barbosa, Antônio Amaral

Afecções podais em bovinos: diagnóstico, profilaxia e patogenicidade / Antônio Amaral Barbosa ; Marcio Nunes Corrêa, orientador ; Charles Ferreira Martins, coorientador. — Pelotas, 2019.

99 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1 . Profilaxia. 2. Inovação. 3. Casco. 4. Laminite. 5. Escorre de locomoção. I. Corrêa, Marcio Nunes, orient. II. Martins, Charles Ferreira, coorient. III. Título.

CDD : 636.2

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Antônio Amaral Barbosa

Afecções podais em bovinos: diagnóstico, profilaxia e patogenia

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 18/02/2019

Banca examinadora:

Prof. Dr. Marcio Nunes Corrêa (Orientador)
Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Félix Hilario Diaz González
Doutor em Bioquímica veterinária pela Universidade Federal do Viçosa

Prof. Dra. Viviane Rohrig Rabassa
Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal de Pelotas

Dr. Cássio Cassal Brauner
Doutor em Zootecnia pela Universidade Federal de Pelotas

Dedico essa tese aos meus pais Paulo e Gisela que me deram todo o apoio e amor para que meus objetivos fossem realizados com sucesso.

Agradecimentos

A Deus, por me proporcionar esta passagem terrena repleta de saúde, família, amigos, oportunidades e conhecimento.

Aos meus pais Paulo e Gisela por me darem todo apoio para que essa fase pudesse ser completada, me acompanhando e comemorando cada etapa desses anos de pós graduação.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), instituições que apostaram e financiaram a minha bolsa de doutorado.

À Universidade Federal de Pelotas, pelo caloroso acolhimento e inúmeras oportunidades concedidas.

Ao meu orientador, professor Marcio Nunes Corrêa e ao co orientador Charles Ferreira Martins que estiveram presentes em todos os sentidos e dividiram desde o início as obrigações da minha orientação e da condução deste trabalho e no fim, se tornaram além de mestres... AMIGOS.

Aos amigos da fazenda granjas LEITE SUL e GRANJA 4 irmãos em especial ao Médico Veterinário Felipe Krolow e Eduardo Xavier e seus funcionários, pelo apoio e paciência durante os experimentos.

Todos amigos e colaboradores do NÚCLEO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENÇÃO EM PECUÁRIA – NUPEEC, grupo ao qual me orgulho em participar, agradeço pelo apoio e conhecimentos transmitidos aos amigos: Josiane Feijo pelas incansáveis correções e paciência, aos meus orientados em especial Maria Carolina e Gabriela Luz que acompanharam quase todos momentos desse período com um aprendizado mútuo, tenho certeza que NÓS aprendemos muito durante esse tempo, meus sinceros agradecimentos.

A todos os professores que me ajudaram de alguma forma em aprimorar meus conhecimentos e proporcionar uma visão melhor e mais crítica.

Ao Laboratório de Análises Clínicas do NUPEEC, o qual foi feito a maioria das análises, fazendo testes e pesquisa, podendo assim qualificar meus conhecimentos teóricos e práticos.

A todos os estagiários, residentes e alunos de graduação e pós-graduação que se revezaram nos auxiliando na condução da parte experimental da tese, encarando noites em claro de muito frio e muito calor... Valeu muito pela força!!!

Aos funcionários da UFPel, pelas orientações e colaborações para que tudo transcorresse da melhor forma, em especial a Daiane secretária do PPGV.

A minha noiva, Nairalice, que, mesmo tendo participado no último ano deste processo, sempre me apoiou e incentivou em todos momentos que pôde.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

MUITO OBRIGADO!

Resumo

BARBOSA, Antônio Amaral. **Afecções podais em bovinos: diagnóstico, profilaxia e patogenia**. 2019. 99f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

Claudicação é um problema recorrente e causador de grandes prejuízos na pecuária. Atualmente os conhecimentos sobre mecanismos que desencadeiam as doenças podais, assim como formas eficientes de controle e profilaxia são escassos. Com isso, o objetivo desta tese foi aprofundar o conhecimento sob algumas formas de controle de claudicação, tornar o principal método profilático sustentável e econômico, assim como compreender melhor os mecanismos metabólicos que levam ao quadro de laminite, para tal foram realizados 5 experimentos *in vivo*, aprovados pelo Comitê de Ética de Experimentação animal da Universidade Federal de Pelotas. O primeiro foi uma patente onde foi possível fazer a reutilização das soluções de pedilúvios de forma sustentável e econômica, possibilitando assim uma forma de aumentar a lucratividade dos sistemas pecuários e diminuir as chances de contaminação ambiental através dos resíduos desses manejos. O segundo concluiu que há uma correlação negativa entre o escore de condição corporal (ECC) e o escore de locomoção (EL) em vacas da raça Holândes submetidas ao regime alimentar semi-extensivo, tornando tal método uma forma eficaz de controle de claudicação durante todo período lactacional. O terceiro foi um aprofundamento dos impactos do EL em vacas leiteiras e demonstrou que o EL no pré-parto foi fundamental no que tange ao diagnóstico populacional do problema apresentando-se como ferramenta importante para a mensuração de possíveis perdas na lactação subsequente, tanto no âmbito metabólico quanto produtivo. O quarto ilustrou informações quanto ao pH ruminal e marcadores hemogasométricos de vacas claudicantes de raça Holandês e, por fim, o quinto documento buscou compreender melhor a relação de acidose ruminal e laminite através do desafio com lipopolissacarídeo exógeno, concluindo que tal desafio não foi capaz de gerar alterações a nível de tecido laminar podal compatíveis com laminite, fazendo assim com que os eventos fisiopatológicos entre a acidose ruminal e laminite sejam mais aprofundados.

Palavras-chave: profilaxia; inovação; casco; laminite; escore de locomoção

Abstract

BARBOSA, Antônio Amaral. **Foot disorders in cattle: diagnosis, prophylaxis and pathogenesis**. 2019. 99f. Tese (Doctor degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

Claudication is a recurrent problem and causes great losses in livestock. Currently, the knowledge about mechanisms that can elucidate foot diseases as well as efficient forms of control and prophylaxis are scarce. Thus, the aim of this document was to deepen the knowledge under some forms of claudication control, to make the main prophylactic method more sustainable and economical, even as to better understand the metabolic mechanisms that lead to the laminitis, for that 5 *in vivo* experiments were carried out, approved by the Animal Experimentation Ethics Committee of the Federal University of Pelotas. The first was a patent where it was possible to reuse the foot care solutions in a sustainable and economical way, thus enabling a way to increase the profitability of livestock systems and decrease the chances of environmental contamination through the residues of these managements. The second study found that there is a negative correlation between the body condition score (BCS) and the locomotion score (LS) in Holstein cows submitted to a semi-extensive breeding regime, making these methods an effective way to control claudication during every lactation period. The third study was an investigation of the impacts of LS on dairy cows, and demonstrated that LS in prepartum was fundamental to the population diagnosis of the problem and presented as an important tool for the measurement of possible losses in subsequent lactation, both in the field metabolic and productive. The fourth work illustrated important results regarding ruminal pH and hemogasometric parameters of claudicating Holstein cows. Finally, the last paper sought to better understand the relation of ruminal acidosis and laminitis through challenge with exogenous LPS, concluding that these challenge was not able to generate alterations in the level of laminar tissue compatible with laminitis.

Keywords: prophylaxis; innovation; hoof; laminitis; locomotion score

Lista de Figuras

Depósito de patente

| | | |
|----------|--|----|
| Figura 1 | Reator eletrolítico utilizado para eletrodeposição do Sulfato de Cobre a 3% antes (A) e depois (B) do processo de eletrodeposição, com a mudança da turbidez da solução..... | 26 |
| Figura 2 | Ilustração do cobre oxidado depositado na placa, na cor marrom, após o processo da eletrodeposição (Figuras C e D)..... | 26 |
| Figura 3 | Desenho esquemático do processo de reabsorção cúprica da solução..... | 27 |

Artigo 2

| | | |
|----------|---|----|
| Figura 1 | Produção de leite nos primeiros 60 dias de lactação de vacas claudicantes e saudáveis..... | 44 |
| Figura 2 | ECC pré e pós parto de vacas claudicantes e saudáveis..... | 44 |
| Figura 3 | Concentrações de cálcio sérico de vacas claudicantes e saudáveis no primeiro mês de lactação..... | 45 |

Artigo 3

| | | |
|----------|---|----|
| Figura 1 | pH ruminal de vacas claudicantes e saudáveis..... | 61 |
| Figura 2 | pH sanguíneo de vacas claudicantes e saudáveis..... | 61 |
| Figura 3 | 3a. Níveis sanguíneos de BE de vacas saudáveis e claudicantes. 3b. Níveis sanguíneos HCO ₃ de vacas saudáveis e claudicantes. | 61 |
| Figura 4 | Níveis séricos de iCa de vacas saudáveis e claudicantes..... | 62 |

Artigo 4

| | | |
|----------|--|----|
| Figura 1 | Esquema simplificado de metodologia experimental..... | 79 |
| Figura 2 | Obtenção de amostras digitais <i>post mortem</i> . A: Coleta de tecido; B: Corte dos dígitos em serra fita; C e D: Ilustração do local de divulsão e secção do tecido laminar e coxim digital..... | 79 |
| Figura 3 | Epitélio laminar sem alteração. HE. Objetiva de 40x..... | 80 |
| Figura 4 | Leucócitos totais de novilhas desafiadas ou não com lipopolissacarídeo intravenoso às 0 e 24 horas..... | 80 |
| Figura 5 | Frequência cardíaca de novilhas desafiadas ou não com LPS às 0 e 24 horas..... | 80 |
| Figura 6 | Frequência respiratória de novilhas desafiadas ou não com LPS às 0 e 24 horas..... | 81 |
| Figura 7 | Temperatura retal (°C) em novilhas de corte desafiadas ou não com LPS às 0 e 24 horas..... | 81 |
| Figura 8 | Relação entre horas ao longo do dia e minutos que os animais permaneceram em ruminação, atividade e ócio..... | 82 |
| Figura 9 | Atividade sérica de PON1 em novilhas desafiadas ou não com LPS às 0 e 24 h..... | 83 |

Lista de Tabelas

Artigo 1

| | | |
|----------|---|----|
| Tabela 1 | Ingredientes disponíveis diariamente para as vacas leiteiras na dieta (kg) e sua composição no pré e pós-parto..... | 32 |
|----------|---|----|

Artigo 2

| | | |
|----------|--|----|
| Tabela 1 | Metabólitos avaliados em vacas da raça holandês claudicantes ou não durante o pré-parto..... | 45 |
|----------|--|----|

Sumário

| | |
|---------------------------------------|-----------|
| 1 Introdução..... | 12 |
| 2 Objetivos..... | 16 |
| 2.1 Objetivo Geral..... | 16 |
| 2.2 Objetivos Específicos..... | 16 |
| 3 Publicações..... | 17 |
| 3.1 Depósito de Patente..... | 17 |
| 3.2 Artigo 1..... | 28 |
| 3.3 Artigo 2..... | 39 |
| 3.4 Artigo 3..... | 52 |
| 3.5 Artigo 4..... | 63 |
| 4 Considerações Finais..... | 84 |
| Referências..... | 85 |
| Anexos..... | 94 |

1 Introdução

Nesta tese serão apresentados quatro artigos científicos e uma patente envolvendo claudicação em bovinos. Com base nesses trabalhos, será possível um melhor entendimento das possíveis ocorrências que fazem com que tanto vacas de corte quanto de leite comecem a claudicar, contribuindo também com possíveis melhorias na forma de usar algumas formas de profilaxia de doenças podais.

O uso do modelo animal variou nos diferentes estudos sendo que a vaca leiteira foi estudada em trabalhos mais específicos onde as individualidades da produção de leite poderiam influenciar. Já o modelo bovino de corte foi utilizado por possibilitar com maior facilidade o estudo post-mortem, além do referido trabalho ser um estudo de base podendo assim a finalidade da espécie ter menos possibilidade de influenciar os resultados.

Na Medicina Veterinária há um crescente avanço na busca de conhecimento sobre afecções locomotoras em bovinos, tendo em vista o significativo aumento dessas lesões e os grandes prejuízos causados, principalmente em vacas leiteiras. Aliado ao estado da arte com poucos avanços nos últimos anos, a claudicação em bovinos vem sendo muito estudada pelo grande impacto que tem causado e pelas escassas informações sobre o assunto.

A podologia bovina e equina são áreas de estudo amplamente difundidas em razão da importância da saúde dos dígitos (ou cascos) para estas espécies e do elevado impacto econômico negativo que as enfermidades podais causam ao desempenho produtivo nestes animais (WARNICK et al., 2001; SHÖPKE et al., 2013).

A prevalência de lesões locomotoras é bastante variável tendo em vista que acredita-se que tais lesões são causadas pela tríade ambiente, anatomia e alterações sistêmicas. Todavia pouco se sabe sobre o quanto cada item interfere, de fato, na ocorrência dessas lesões (KNOTT et al., 2007). As perdas econômicas delas decorrentes são elevadas, tanto em fases precoces como nas fases mais avançadas da vida produtiva dos bovinos.

Esses problemas contribuem, portanto, com uma parcela significativa das perdas econômicas, não somente pela diminuição da produção de leite, mas também por sua interferência negativa nos demais sistemas do organismo (ENTING et al., 1997; FERREIRA, 2003).

A claudicação em bovinos representa a terceira maior causa de perda econômica na bovinocultura leiteira (GREENOUGH, 2007). Exemplificando a magnitude destas perdas, vacas de aptidão leiteira claudicantes apresentaram redução na produção de leite da ordem de 1,5kg/dia (WARNICK et al., 2001). Em estudo mais recente, vacas com problemas de casco tiveram de 5 a 20% de redução na produção de leite em toda a lactação (MARTINS e MELO, 2012). Em levantamento realizado na Inglaterra, o custo médio calculado da claudicação foi de £330/ animal e nos Estados Unidos, cálculo semelhante resultou no valor de \$346/animal (BICALHO, 2011).

Ferreira (2003) estudando rebanho leiteiro confinado encontrou lesões em todos os animais examinados, sendo a maioria de baixa severidade, com a prevalência de claudicação em torno de 29%. Isso mostra que, muitos desses casos, apesar de ainda não apresentarem claudicação já possuem lesões podais.

A laminite é uma manifestação clínica caracterizada pela inflamação asséptica das lâminas do casco, sendo a principal causa de claudicação em bovinos. Essa condição não possui uma etiopatogenia estabelecida, sendo seu desenvolvimento comumente atribuído a causas multifatoriais como manejo alimentar, ambiente ou como manifestação secundária em decorrência de outras enfermidades como a acidose ruminal (NICOLETTI, 2004; BARBOSA et al. 2016). O aumento de volume provocado pelo edema devido à inflamação das estruturas internas do casco associado à rigidez da cápsula córnea que impede a distensão da estrutura geram uma sensação bastante dolorosa ao animal (BARBOSA, et al. 2016).

A laminite, por ser um processo iniciado a partir de um distúrbio vascular tem suas primeiras consequências demonstradas na derme ou córion região responsável pela nutrição das demais estruturas do casco (LARSON et. al., 1956). Os distúrbios vasculares dificultam ou até mesmo impedem a irrigação adequada das células epidermais o que pode ocasionar ao longo prazo a formação de um tecido cornificado de baixa qualidade (FERREIRA et al., 2005). Nutricionalmente, tanto o excesso, quanto a depleção de macro e micronutrientes na dieta de bovinos pode predispor a claudicações ou afetar a saúde dos dígitos (LEAN et al., 2013). A nutrição é um fator

determinante no processo de diferenciação das células epidermais (queratinização). Nutrientes como lipídeos, proteínas, macrominerais (cálcio, fósforo, e enxofre), microminerais (cobre, selênio, zinco e manganês) e vitaminas (biotina, vitamina E) são indispensáveis para a qualidade do casco que será formado (LEAN et al., 2013).

Variações nas proporções de amido da dieta em bovinos de corte podem promover danos ruminais, com efeitos nocivos sistêmicos a outros tecidos inclusive nos constituintes do dígito, como o coxim digital, estando associados aos eventos patológicos ocorridos nos tecidos córion e laminar. Essas mudanças estruturais no casco podem predispor a claudicação e desenvolvimento de lesões podais, gerando perdas econômicas (LEAN et al., 2013; BARBOSA et al., 2016).

Compreender a relação entre as dietas com alto grão e a integridade da parede do casco e a função de suporte oferecido pela almofada digital, através de alterações anatômicas microscópicas pode ser relevante na manutenção da saúde dos cascos de bovinos de corte em confinamento sendo esse um dos objetivos de um trabalho efetuado durante o período do doutorado.

Para Hendry et al. (1997), o esclarecimento da hierarquia dos elementos envolvidos na fisiopatologia da laminite em bovinos dependerá de estudos longitudinais detalhados *in vivo*. Sendo assim, é de grande relevância tentar compreender a relação e ordem de acontecimentos dos eventos metabólicos que culminam com os sinais clínicos de enfermidades locomotoras.

O período de transição da vaca leiteira, que compreende três semanas pré e três pós-parto, é caracterizado por importantes alterações endócrinas, metabólicas e nutricionais que exigem do animal uma alta capacidade de adaptação (CHAPINAL et al., 2012). Manter a saúde e produtividade no período de transição é uma das tarefas mais difíceis para rebanhos leiteiros, pois aproximadamente 75% das doenças em vacas leiteiras acontecem no primeiro mês após o parto (LeBlanc et al., 2006).

Durante as últimas semanas de gestação o animal diminui drasticamente a ingestão de matéria seca (IMS) como resposta fisiológica aos mecanismos do parto, podendo atingir níveis de até 30% especialmente na semana anterior ao parto (CHAPINAL et al., 2012). Quando mecanismos de regulação do organismo são afetados, devido às falhas no manejo nutricional durante o pré-parto, aumenta a prevalência das chamadas “doenças de produção”, entre as quais as lesões podais são das mais frequentes (OETZEL e GOOF, 2008).

Em vacas leiteiras, o período pré-parto é muitas vezes negligenciado pelos produtores, tendo em vista que nesse momento o animal não está produzindo leite, porém esse período é de vital importância para uma lactação subsequente de excelência.

Avaliações visuais como escore de condição corporal (ECC) e escore de locomoção (EL), apesar de subjetivas podem ter grande impacto no monitoramento dos reais problemas e impactos causados pela claudicação e assim auxiliar o produtor a tomar medidas terapêuticas e profiláticas evitando maiores prejuízos.

O principal método profilático utilizado atualmente são os pedilúvios, embora cada vez mais sua utilização vem sendo questionada, levando em conta a ecossustentabilidade desde processo, visto que na grande maioria das vezes o descarte é feito no próprio campo, contaminando mananciais de locais onde os animais bebem água, causando assim uma possível reintoxicação especialmente pelo cobre, principal princípio ativo utilizado. Neste contexto foi elaborada a patente que visa evitar essa intoxicação de uma maneira rentável e sustentável.

Diante dessa problemática, o avanço no conhecimento sobre claudicação em bovinos aliado a formas práticas, eficazes e econômicas de controlar e mensurar as perdas por ela causados, concomitante a um melhor entendimento da forma com que essas afecções acontecem, é de vital importância para que se possa diminuir esses prejuízos e avançar no estado da arte dessas doenças.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Aprofundar informações sobre afecções locomotoras em bovinos no que tange a patogenia, diagnóstico e profilaxia de tais enfermidades, fazendo com que esses resultados tenham aplicação prática, sustentável e econômica pelo produtor.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar a relação de Escore de Condição Corporal e Escore de Locomoção em vacas lactantes.

Demonstrar possíveis alterações metabólicas de vacas claudicantes que envolvem repercussões a nível de tecido podal, sérico e ruminal.

Tornar viável, sustentável e econômico a utilização de pedilúvios para propriedades rurais de diferentes tamanhos mediante a utilização do REC-System.

Demonstrar a importância do escore de locomoção no período seco e os possíveis impactos da claudicação na lactação subsequente.

Demonstrar alterações metabólicas ocorridas em animais com claudicação através de exames hemogasométricos.

3 Publicações

3.1 Depósito de patente

Sistema de recaptação eletrolítica de cobre para sistemas pecuários

Barbosa, A.A.; Pereira, R.A.; Corrêa, M.N.; Daneluz, M.O.; Lucena, R.G.; Luersen, T.; Rodrigues, M.G.

Depósito de patente em 17/12/2015. Número do registro: BR1020150317484, título: "REC SYSTEM: Reciclador Eletrolítico de cobre para sistemas pecuários", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Patente: Privilégio de Inovação

SISTEMA DE RECAPTAÇÃO ELETROLÍTICA DE COBRE PARA SISTEMAS PECUÁRIOS

RESUMO

A presente invenção descreve uma forma inovadora de reciclagem de produtos químicos utilizados em soluções de pedilúvio animal. Através deste processo é possível reduzir ou até mesmo eliminar a toxicidade destes produtos ao meio ambiente e animal, além de permitir a reutilização em outros manejos. Aliado a isso a invenção possui caráter prático e de baixo custo podendo ser aplicada em qualquer propriedade rural. A inovação intitulada REC SYSTEM está direcionada para o fato de permitir a permanência da utilização dos pedilúvios de forma sustentável e econômica, possibilitando a manutenção de todos efeitos terapêuticos e profiláticos que esse método possui.

SISTEMA DE RECAPTAÇÃO ELETROLÍTICA DE COBRE PARA SISTEMAS PECUÁRIOS

REINVINDICAÇÕES

1. Reciclador eletrolítico de cobre e, possivelmente, de outras substâncias presentes em pedilúvios pecuários caracterizado por compreender um processo de eletrodeposição de metais através de corrente elétrica contínua.
2. Após eletrodeposição, o metal oxidado pode ser retirado das placas ocupando um volume muito menor que a solução, facilitando o seu destino para ser reutilizado, tornando-se ainda uma fonte de renda extra para o produtor.
3. Processo de acordo com as reivindicações anteriores que possui caráter sustentável, eliminando a possibilidade de contaminação do meio ambiente e dos animais;

4. De acordo com a reivindicação 1 e 2 reutilização do calcário ou sulfato de zinco, substâncias as quais, apesar de menos utilizadas, são princípios usados nesses procedimentos.
5. De acordo com a reivindicação 1 e 2 reciclagem de outros elementos em solução susceptíveis ao processo de eletrólise e que também possam contaminar o meio ambiente.
6. De acordo com a reivindicação 1 e 2 a utilização do REC System para pedilúvios empregados para outras espécies.
7. Para transporte da corrente elétrica e deposição do cobre, foram utilizados dois eletrodos de aço inoxidável de cerca de 20 cm de comprimento e 5 cm de largura e por eles foi conduzida uma corrente elétrica de 12 volts, inicialmente com 10 amperes, aumentando gradativamente até 20 amperes. Durante cerca de 2hs houve a significativa deposição de cobre sobre a placa, notando-se a mudança da turbidez e a passagem da coloração azul intensa para azul claro, esverdeada;
8. De acordo com 1,2 e 8 a utilização do REC SYSTEM é uma forma de manutenção da utilização dos pedilúvios que é uma forma profilático e terapêutica de evitar ou diminuir dores nas patas desses animais, que, todavia corre um risco iminente de ser proibida caso o meio ambiente siga sendo contaminado. Sistema de reciclagem que pode ser utilizado de maneira fixa ou móvel.

SISTEMA DE RECAPTAÇÃO ELETROLÍTICA DE COBRE PARA SISTEMAS PECUÁRIOS

RELATÓRIO DESCRITIVO

[001] **SETOR TÉCNICO: Sessão A – Necessidades Humanas. A01 – Agricultura; Silvicultura; Pecuária; Caça; Captura Em Armadilhas; Pesca; A01K - Pecuária; Tratamento de Aves, Peixes, Insetos; Piscicultura; Criação ou Reprodução de Animais, Não Incluídos em Outro Local; Novas Criações De Animais. A01K 29/00 -Outros aparelhos para pecuária.**

[002] **ESTADO DA TÉCNICA:** A criação de bovinos é a atividade mais difundida mundialmente devido à sua utilidade histórica que atualmente garante ao homem principalmente carne e leite. A eficiência de uma cadeia produtiva leiteira é atribuída a uma relação de produtividade e custo, objetivando-se sempre maior produtividade com menores custos. Ao analisar essa relação podemos destacar alguns fatores relevantes como a nutrição, sistemas de manejo e afecções podais, esta última destacando-se entre os principais problemas da pecuária leiteira devido à alta prevalência e aos prejuízos produtivos e econômicos que elas causam, com perdas produtivas que podem chegar até 50% dependendo do escore de locomoção do animal. As perdas econômicas se traduzem por queda na produção de leite, perda do escore corporal, problemas reprodutivos, descarte precoce de animais e custo de reposição. Diante disso, o pecuarista deve sempre primar por menor incidência de afecções podais utilizando métodos de prevenção e tratamento dessas lesões, como o casqueamento e o uso de pedilúvios, tendo ambos funções de remover os corpos estranhos entre as unhas, limpar e desinfetar os cascos, além de fortalecer os tecidos queratinizados.

[003] Os pedilúvios são formados basicamente por água e substâncias químicas como sulfato de cobre, sulfato de zinco e formol em diferentes concentrações, os quais ao serem descartadas incorretamente contaminam o solo, atingindo o lençol freático e os campos podendo causar intoxicação nos animais através da água contaminada, ou mesmo comprometer culturas vegetais subsequentes. Nesse contexto, muitos proprietários rurais com o intuito de incrementar sua eficiência produtiva e

implementar avanços em suas criações estão lançando mão de manejos, tanto sanitários quanto reprodutivos, descritos como modernos e eficientes. Porém, devido a falta de conhecimento e assistência técnica, corriqueiramente esses produtores fazem uso equivocado dessas ferramentas, influenciando diretamente na epidemiologia das infecções que acometem os animais, causando grandes prejuízos aos sistemas de criação. Dentre O pedilúvio é uma ferramenta bastante difundida e tem como função atuar de forma preventiva e/ou curativa na saúde dos cascos, podendo conter soluções à base de formol, sulfato de cobre, cloridato de polihexametilenobiguanida e sulfato de zinco ou cal. Todavia, há uma grande dificuldade com o descarte das soluções residuais dos pedilúvios, que precisam ser trocados frequentemente. Estas soluções possuem níveis elevados de compostos químicos e são geralmente descartadas diretamente no solo da fazenda, gerando um grande problema ambiental, pois essa água contamina o solo, contaminando os campos, os quais são geralmente utilizados para alimentação dos animais e também atinge o lençol freático, contaminando a água usada na hidratação dos próprios animais tratados pelo pedilúvio. Essa atitude leva os animais a quadros de intoxicação, podendo gerar acúmulo de resíduos químicos tanto na carne quanto no leite. Atualmente a forma mais correta de descarte existente é o armazenamento das soluções residuais em barris, para posterior utilização na fabricação de cimento para construções civis. Entretanto essa metodologia necessita investimentos para armazenamento, que muitas vezes as pequenas propriedades não têm condições de fazer. Além disso, em grande escala, a demanda elevada por mão-de-obra pode comprometer a viabilidade deste processo.

[004] Relacionado a este tema, Daniel Silva Goulart, em 2011 já conduziu um estudo objetivando detectar no leite e no solo os resíduos de produtos químicos empregados em pedilúvio para bovinos, desenvolvendo o trabalho em duas etapas, primeiramente avaliou-se o resíduo de cobre e cloro no leite de vacas saudáveis após passagens sucessivas por pedilúvios formulados com estas substâncias e avaliou os custos das soluções. Os valores de cloretos totais e de cobre no leite de bovinos saudáveis, após passar pelo pedilúvio, apresentaram variações pequenas e que não representam riscos a saúde humana. Na segunda etapa o pesquisador avaliou os resíduos de cobre em solo tratado com uma mistura de fezes e urina bovina, simulando efluentes de esterqueira usadas na bovinocultura, contendo ou não solução de sulfato de cobre. Neste caso os resíduos de cobre no solo tratado com dejetos de

bovino, associado com sulfato de cobre e água, são maiores em camadas mais superficiais do solo, não apresentando alterações expressivas nas camadas mais profundas após chuvas consecutivas.

[005] Outro estudo de Dutra, A. J. B., et al (2007), objetivou recuperar o cobre diluído em soluções, todavia não estava associado com bovinos tão menos com pedilúvios. Os pesquisadores utilizaram eletrodos porosos como carbono vítreo reticulado ou feltro de carbono para a remoção de metais de soluções diluídas em concentrações inferiores a 1g/L no caso do cobre. Como a recuperação do metal nestas condições laboratoriais ocorreu em baixas quantidades, conclui-se que esse método apesar de interessante, não consegue recuperar todas as substâncias químicas utilizadas nas soluções.

[006] Diante do exposto, fica clara a necessidade de se criar formas alternativas para tratamento dos resíduos gerados pelos pedilúvios, principalmente o sulfato de cobre, visto que sua reintoxicação por despejo inadequado das soluções dos pedilúvios pode acarretar em danos à saúde dos animais irreversíveis, principalmente no que tange ao sistema hepático, podendo causar diminuição da capacidade de metabolização de qualquer substância do organismo, além de, muitas vezes levar o animal ao óbito.

[007] Portanto, o objetivo da presente invenção foi desenvolver um método para a retirada das substâncias químicas (principalmente sulfato de cobre) do pedilúvio utilizado na bovinocultura, garantindo um descarte mais correto das soluções, sem contaminação do solo, lençóis freáticos e plantas. Não há até o momento nenhum método de captura dessas substâncias químicas de pedilúvios utilizados na bovinocultura com eficácia e eficiência garantidas. Por isso, o sistema aqui proposto apresenta um caráter inovador no que tange a praticidade e baixo custo da inovação, necessitando apenas de eletricidade, eletrodos e outros poucos utensílios já descritos para a eletrodeposição de significativa quantidade de cobre da solução, podendo servir para reciclar 100% desse material, permitindo sua eliminação correta além de possibilitar a reutilização desse produto pelos pecuaristas, tendo em vista que, dependendo da amperagem utilizada no processo, o cobre depositado nas placas pode ser reutilizado em soluções posteriores de pedilúvio.

DESCRIÇÃO DA ABORDAGEM DO PROBLEMA TÉCNICO E VANTAGENS

[008] Não existe até então registro de invenções com esse objetivo, tão pouco com algo que se aproxime desta ideia, portanto o principal diferencial está no fato desta invenção prospectar a sustentabilidade ambiental e econômica através da captação de cobre de soluções residuais de pedilúvios, geralmente descartada no ambiente em sistemas pecuários. Após a eletrodeposição, o cobre oxidado pode ser retirado das placas ocupando um volume muito menor que a solução, facilitando seu destino para ser reutilizado tornando-se ainda uma fonte de renda para o pecuarista.

[009] Além da toxicidade ao animal, a poluição do meio ambiente poderá impedir a continuidade do uso de pedilúvios futuramente, o que geraria elevados custos de produção em virtude das doenças decorrente do não uso. Portanto, o uso de pedilúvios associados ao REC System, permitirá a continuidade na utilização destas metodologias profiláticas para afecções podais em bovinos. Utilização segura dos pedilúvios, um método preventivo e profilático de afecções podais, proporcionando bem estar aos animais e redução de prejuízos ao produtor, sem causar contaminação ambiental. Por fim, pela facilidade de instalação e o baixo custo do REC System, ele poderá beneficiar tanto animais de grandes fazendas como de pequenas propriedades (agricultura familiar), além de poder beneficiar não apenas bovinos, mas também pode ser utilizadas em sistemas profiláticos semelhantes para outras espécies animais.

RELAÇÃO DE FIGURAS

[010] Figura 1: Reator eletrolítico utilizado para eletrodeposição do Sulfato de Cobre a 3% antes (A) e depois (B) do processo de eletrodeposição, com a mudança da turbidez da solução

[011] Figura 2: Ilustração do cobre oxidado depositado na placa, na cor marrom, após o processo da eletrodeposição (Figuras C e D)

[012] Figura 3. Desenho esquemático do processo de reabsorção cúprica da solução

DESCRIÇÃO DO MODELO

[013] Para a montagem do REC System, foram necessários 6 litros de água, 180g de sulfato de cobre a 25%, 2 eletrodos e corrente elétrica variável. Utilizou-se 6

litros de água e 180 g de Sulfato de Cobre à 25%, finalizando a solução a uma concentração de 3%. Para transporte da corrente elétrica e deposição do cobre, foram utilizados dois eletrodos de aço inoxidável de cerca de 20 cm de comprimento e 5 cm de largura e por eles foi conduzida uma corrente elétrica de 12 volts, inicialmente com 10 amperes, aumentando gradativamente até 20 amperes. Durante cerca de 2hs houve a significativa deposição de cobre sobre a placa, notando-se a mudança da turbidez e a passagem da coloração azul intensa para azul claro, esverdeada, como observado na Figura 1.

[014] Após a eletrodeposição, o cobre oxidado (figura 2) pode ser retirado das placas ocupando um volume muito menor que a solução, facilitando o destino do cobre, para ser reutilizado, tornando-se ainda uma fonte de renda extra para o produtor.

[015] A eletrodeposição é um processo muito utilizado na indústria para a obtenção de revestimentos metálicos que, em geral, são bastante aderentes. Entretanto, existem casos onde não se consegue a aderência do revestimento aplicado. Historicamente, os banhos de cobre alcalino a base de cianetos são utilizados com sucesso, mas nos últimos anos, as indústrias têm mostrado interesse em substituir estes banhos.

[016] Uma revisão detalhada mostrou que os trabalhos publicados referentes aos novos banhos de cobre são, na sua maioria, patentes, tendo pouca ou nenhuma abordagem focada nos mecanismos de deposição. Em eletrodeposição, a deposição por deslocamento galvânico é altamente indesejável, devendo ser evitada ao máximo, existindo duas maneiras para isto: diminuir o potencial de equilíbrio do metal mais nobre, pois à medida que se subtrai a diferença de nobreza (diferença entre os potenciais de equilíbrio) dos dois metais em questão ocorre melhora na aderência do depósito obtido por deslocamento galvânico ou adotar a “entrada viva”, ou seja, introduzir o cátodo no banho, H_2O_2 já conectado à fonte de corrente. Com isto a peça já entra no banho com o potencial de sua interfase abaixo do potencial de equilíbrio do metal menos nobre, evitando assim a sua corrosão.

[017] Em aproximadamente 2hs houve a significativa deposição de cobre sobre a placa, sendo a reciclagem deste produto de aproximadamente 30%. A velocidade de eletrodeposição pode ser aumentada com a elevação da amperagem, aliado a isso o aumento da eletrodeposição do cobre poderá ser maior. A partir daí pode-se concluir que a presente invenção tem um caráter de grande valia para a pecuária no que se

refere à saúde dos animais, sendo possível dar seguimento a utilização dos pedilúvios proporcionando um menor índice de problemas podais diminuindo também todos sinais álgicos de desconforto que tais lesões causariam, portanto proporcionando maior bem estar aos mesmos, aliado a isso o risco de intoxicação cúprica fica extinto. Outro ponto positivo do REC system seria a praticidade, podendo ser implementado em qualquer propriedade pelo seu baixo custo. Por fim, a economia seria grande vislumbrando a possibilidade de reciclagem desse material e reutilização em soluções posteriores. A figura 3 representa o desenho esquemático de todo o processo de recaptação do cobre a partir da solução do pedilúvio.

EXEMPLO:

[018] Para a comprovação dos benefícios da presente invenção, foi realizado um experimento em escala utilizando-se 6 litros de água e 180 g de Sulfato de Cobre à 25%, finalizando a solução a uma concentração de 3%. Para transporte da corrente elétrica e deposição do cobre, foram utilizados dois eletrodos de aproximadamente 20 cm de comprimento e 5 cm de largura, e por eles foi conduzida uma corrente elétrica de 12 volts com 10 amperes. Em aproximadamente 2 horas houve a significativa deposição de cobre sobre a placa, sendo a reciclagem do cobre de aproximadamente 23%, notando-se a mudança da turbidez, e a passagem da coloração azul intensa para coloração mais clara, esverdeada.

RESULTADOS

[019] Através do presente invento será possível fazer a reutilização das soluções de pedilúvios de forma sustentável e econômica, possibilitando assim uma forma de aumentar a lucratividade dos sistemas pecuários e diminuir as chances de contaminação ambiental através dos resíduos desses manejos.

[020] Além disso, a possibilidade do aparelho ser móvel facilita a utilização em diversos lugares, fazendo assim com que esse procedimento seja efetuado em várias propriedades com um só equipamento.

SISTEMA DE RECAPTAÇÃO ELETROLÍTICA DE COBRE PARA SISTEMAS PECUÁRIOS

DESENHOS

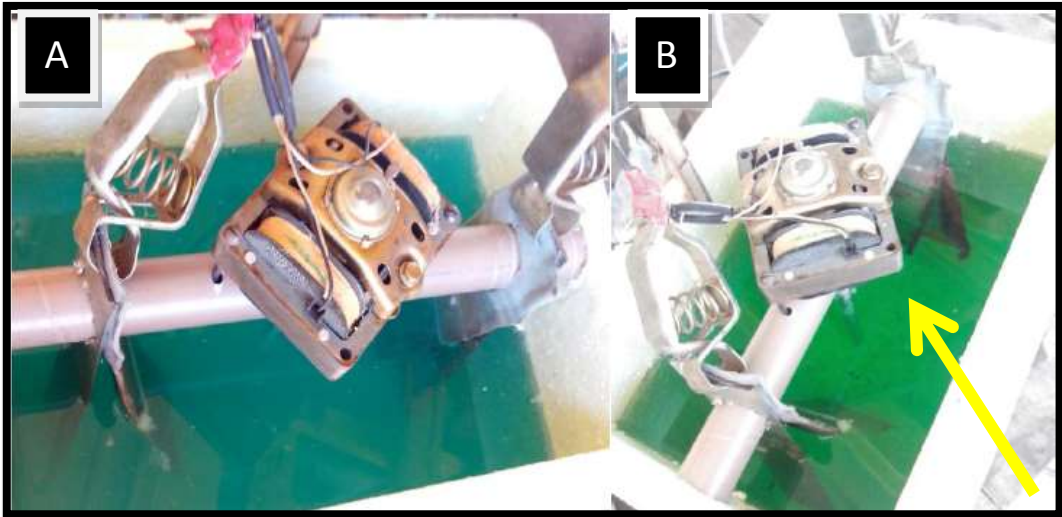


Figura 1: Reator eletrolítico utilizado para eletrodeposição do Sulfato de Cobre a 3% antes (A) e depois (B) do processo de eletrodeposição, com a mudança da turbidez da solução.

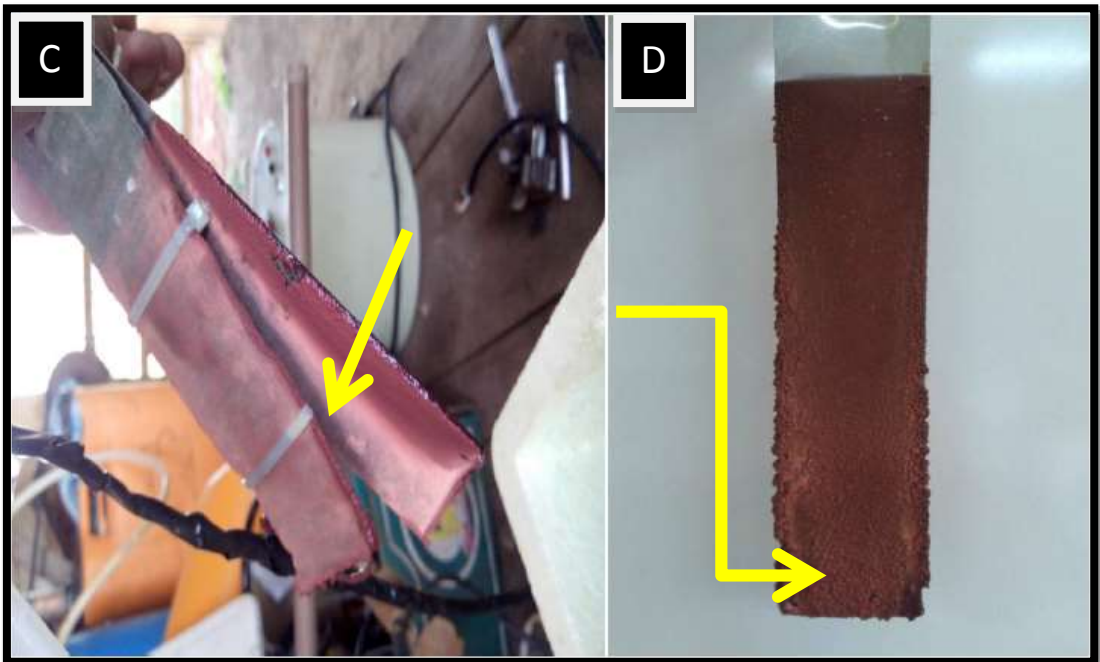


Figura 2: Ilustração do cobre oxidado depositado na placa, na cor marrom, após o processo da eletrodeposição (Figuras C e D).

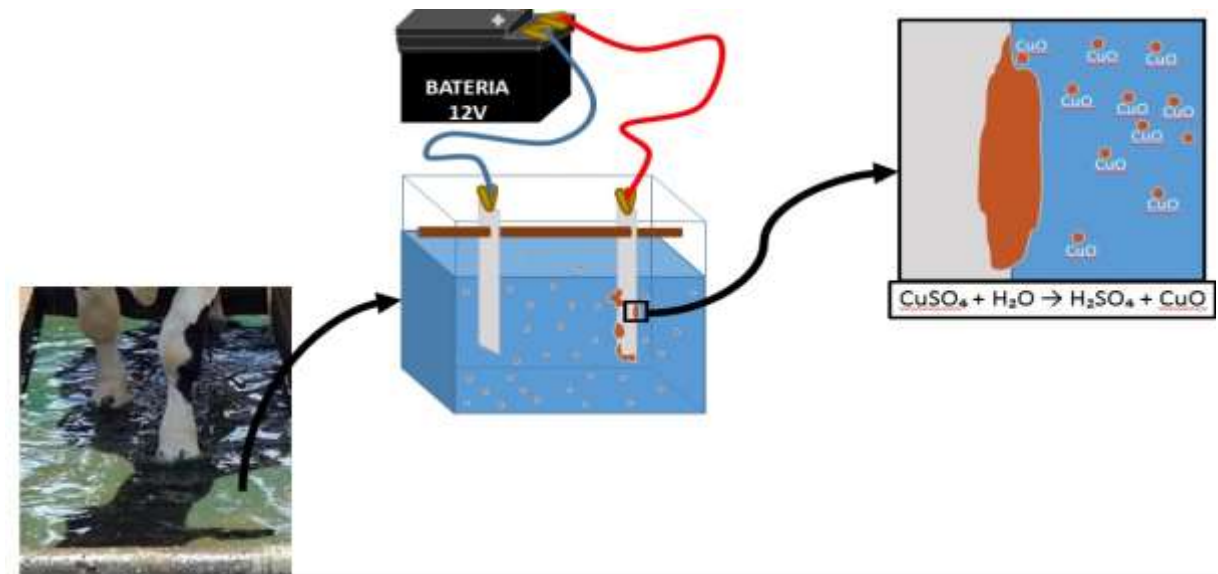


Figura 3: Desenho esquemático do processo de reabsorção cúprica da solução

3.2 Artigo 1

Relação entre escore de condição corporal e escore de locomoção em vacas leiteiras submetidas a manejo semiextensivo de alimentação

Barbosa, A.A.; Pizoni, C.; Luz, G.B.; Corrêa, M.N.; Rabassa, V.R.; Del Pino, F.A.B.;
Moraes, F.P.; Martins, C.F.

Artigo publicado na revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,
v.70, n.4, p.1129-12234, 2018. doi: 10.1590/1678-4162-9978

Relação entre escore de condição corporal e escore de locomoção em vacas leiteiras submetidas a manejo semiextensivo de alimentação

[Relationship between body condition score and locomotion score on dairy cows submitted to semiextensive feeding management]

A. Barbosa, C. Pizoni, G.B. Luz, M.N. Correa, V.R. Rabassa, F.A.B. Del Pino, F.P. Moraes, C.F. Martins
Universidade Federal de Pelotas - Pelotas, RS

RESUMO

Métodos observacionais subjetivos, como escore de locomoção (EL) e escore de condição corporal (ECC), têm sido amplamente utilizados para avaliação populacional de diferentes graus de claudicação e estado nutricional em bovinos. Este estudo objetivou verificar a associação longitudinal entre o escore de condição corporal e o escore de locomoção em vacas da raça Holandesa submetidas a um regime alimentar semiextensivo. O período experimental compreendeu dois anos de observações, em uma propriedade localizada no sul do Rio Grande do Sul. O grupo experimental foi constituído por 900 vacas lactantes, que foram avaliadas trimestralmente por dinâmica ortopédica pelo EL e do estado metabólico pelo ECC. A coleta desses dados foi realizada por três veterinários treinados. A fim de se verificar a correlação entre variáveis, utilizou-se o programa SAS, por meio do método de correlação de Pearson, para determinar a associação entre as variáveis avaliadas (EL e ECC), com nível de significância de 5%. A distribuição dos diferentes escores de locomoção durante o período foi a seguinte: 57,2% dos animais tiveram o escore de locomoção 1, ou seja, estavam saudáveis em relação ao sistema locomotor. O restante dos animais que apresentou algum grau de dificuldade de locomoção distribuiu-se da seguinte forma, segundo a intensidade: 21,6% dos animais apresentaram EL2, 15,5% deles EL3, 3,5% deles EL4 e 2,2% deles EL5. Quanto ao resultado da correlação, observou-se associação negativa ($r = -0,57$) entre ECC e EL ($P = 0,03$), com ECC médio de $2,97 \pm 0,33$ e EL de $1,35 \pm 0,24$ durante o período experimental. Portanto, há uma correlação negativa entre o escore de condição corporal e o escore de locomoção em vacas da raça Holandesa submetidas ao regime alimentar semiextensivo.

Palavras-chave: casco; escore; metabolismo.

ABSTRACT

Subjective observational methods such as locomotion score (LS) and body condition score (BSC) have been widely used for populations evaluation of different degrees of claudication

and nutritional status in cattle. This study aimed to verify the longitudinal association between body condition score and locomotion score in Holstein cows submitted to a semi-extensive breeding regime. The experimental period comprised two years of observations at a property located in the South of Rio Grande do Sul. The experimental group consisted of 900 lactating cows, which were evaluated quarterly, being evaluated by orthopedic dynamics through LS and of the metabolic status through BCS. The collection of these data was performed by three trained veterinarians. To verify the correlation between variables, the SAS program was used using the Pearson Correlation method to determine the association between the variables evaluated (LS and BSC), at a significance level of 5%. The rest of the animals that showed some degree of locomotion difficulty, were distributed following intensity: 21.6% of LS2 animals, 15.5% of LS3 animals, 3.5% with LS4, and 2.2% with LS5, while 57,2% were without locomotion difficulty (LS1). Regarding the correlation result, a negative association ($r = -0.57$) was found between BSC and LS ($P = 0.03$), with an overall of BSC of 2.97 ± 0.33 and LS of $1,35 \pm 0.24$ during the experimental period. Therefore, there is a negative correlation between body condition score and locomotion score in Holstein cows submitted to the semi-extensive breeding regime.

Keywords: hoof; metabolsim; score.

INTRODUÇÃO

As alterações do sistema locomotor em bovinos leiteiros vêm sendo associadas aos baixos índices de produção leiteira, o que interfere na dinâmica de produção, com reflexos negativos proporcionados ao estabelecimento rural. Talvez seja um dos maiores desafios a serem superados dentro das propriedades. As afecções podais acarretam perdas significativas, que chegam a estimar valores aproximados a 1,5kg/leite/dia por animal acometido (Warnick *et al.*, 2001).

As perdas ligadas a afecções podais não afetam somente a produção, mas também tangem o bem-estar animal, sendo responsáveis por emagrecimento progressivo e deficiência nutricional (Bicalho *et al.*, 2009; Barbosa *et al.*, 2016). Isso pode acarretar anestro prolongado (Barbosa *et al.*, 2016), o que aumentaria o tempo de intervalo entre partos, com consequente impacto negativo à fertilidade. Bicalho *et al.* (2007) citam que o alto índice de descarte precoce é um fator que vem se agravando diante dessas perdas, com possibilidade duas vezes maior de descarte, quando se compara uma vaca claudicante com outra sem sinais álgicos ortopédicos.

Os diversos aspectos vinculados à ocorrência das afecções podais nos distintos sistemas de produção têm influenciado diretamente nos índices de acometimento ortopédico. Como exemplo, destacam-se os efeitos da sazonalidade climática ao sistema de produção semiextensivo, que, associados a características de diferentes solos, interferem na integridade física do estajo córneo (Barbosa *et al.*, 2016). A dinâmica de locomoção dentro dos estabelecimentos rurais de criação semiextensiva é um fator limitante, aliado à ausência de preocupação com ações corretivas à aparência física da cápsula do casco, condições frequentemente observadas e negligenciadas na criação de bovinos leiteiros (Flor e Tadich, 2008).

Métodos observacionais subjetivos (escore de locomoção – EL; escore de condição corporal – ECC) para a identificação e avaliação populacional de diferentes graus de claudicação e estado metabólico em bovinos vêm sendo utilizados com o intuito de diagnosticarem um estado de saúde populacional. Bicalho *et al.* (2009) relacionam diferentes graus de escore de locomoção com escore de condição corporal, que mostram associação positiva entre ECC com a espessura das almofadas digitais palmares e/ou plantares. De acordo com os autores, essas interferem significativamente no amortecimento biomecânico da estrutura física do estajo córneo ao solo no andamento a passo. No período de lactação, as reservas corporais são mobilizadas e canalizadas diretamente para a glândula mamária para dar suporte à produção (Rennó *et al.*, 2011), com reflexo na perda de condição corporal e consequente impacto negativo ao sistema podal. Conforme exposto por Bicalho *et al.* (2009), esse fato está associado a maior ou menor grau de claudicação em rebanhos leiteiros em período de transição.

Diante de possíveis interferências do estado nutricional na dinâmica de locomoção em vacas leiteiras, este estudo teve por objetivo verificar a associação longitudinal entre escore de condição corporal e de locomoção em vacas da raça Holandesa submetidas a regime semiextensivo de criação.

METODOLOGIA

O estudo foi realizado em uma propriedade leiteira de criação de bovinos da raça Holandesa, localizada na região sul do estado do Rio Grande do Sul, na cidade de Rio Grande (latitude: -32°15'51.46" e longitude: -52°32'21.42", com características de relevo plano e relativamente úmido. O rebanho foi criado em sistema de manejo semiextensivo.

Os animais envolvidos neste experimento foram divididos em quatro lotes, segundo produção, idade e presença de mastite, sendo submetidos a dois períodos de ordenha, com intervalo de 12 horas. A produção média foi de 23 litros/vaca/dia. Ao término da ordenha os

animais eram conduzidos à praça de alimentação, onde recebiam uma dieta com concentrado com composição segundo a Tab. 1, sendo, posteriormente conduzidos aos piquetes formados por pastagem cultivada de inverno com aveia e azevém e pastagem de verão com milho.

Tabela 1. Ingredientes disponíveis diariamente para as vacas leiteiras na dieta (kg) e sua composição no pré e pós-parto

| Alimentos | Pré-parto (%) | | Pós-Parto (%) | | |
|-----------------|---------------|-------------|---------------|------------|-------------|
| | Forragem | Concentrado | Forragem | Pré-secado | Concentrado |
| Matéria Seca | 89,2 | 87,67 | 27,4 | 52,94 | 87,31 |
| FDN | 67,65 | 47,42 | 64,32 | 63,46 | 32,57 |
| FDA | 51,37 | 13,56 | 41,74 | 45,75 | 13,14 |
| Proteína total | 9,16 | 15,61 | 9,84 | 8,88 | 14,92 |
| Extrato Etéreo | 1,73 | 3,57 | 2,02 | 2,00 | 4,01 |
| Minerais totais | 9,23 | 8,9 | 9,99 | 8,84 | 9,02 |

A determinação da variável escore de condição corporal foi conduzida de acordo com método proposto por Rennó *et al.* (2011), em que o animal com ECC 1 era considerado severamente magro, e o animal com ECC 5 era classificado como obeso.

No decorrer de dois anos, entre 2012 e 2014, um grupo experimental de 900 vacas lactantes foi, trimestralmente, submetido a avaliação da dinâmica ortopédica através de escore de locomoção (EL) e condição corporal (ECC). A coleta desses dados foi realizada por três médicos veterinários treinados. O EL variou de 1 a 5, sendo 1 para perfeita locomoção e 5 para dificuldade de levantar o membro e andar, conforme Phillips (2010). A determinação da variável escore de condição corporal foi conduzida de acordo com método proposto por Rennó *et al.* (2011), em que o animal com ECC 1 era considerado severamente magro e 5 classificado como obeso.

Todos os animais claudicantes, ou seja, que manifestavam sinais de irregularidade em sua dinâmica ortopédica eram submetidos a avaliação clínica geral e específica do sistema locomotor.

Em relação aos resultados, para se verificar a correlação entre as variáveis, foi utilizado o programa SAS (SAS, Institute Inc. Cary, NC, EUA), por meio do método de correlação de Pearson, com o propósito de se determinar a associação entre as variáveis avaliadas (EL e ECC), em nível de significância de 5%.

Este estudo foi aprovado (número 6243) pela Comissão de Ética em Uso de Animais na Universidade Federal de Pelotas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O diagnóstico populacional da quantidade de animais claudicantes por meio do EL e do ECC tem sido de grande relevância no mapeamento diagnóstico dos fatores desencadeantes de problemas locomotores em bovinos (Bicalho *et al.*, 2007). Desse modo, contribui para a identificação de pontos críticos e possibilita a tomada de decisões preventivas e/ou o controle, com o propósito de reduzir os efeitos negativos proporcionados à criação.

Os arranjos dos diferentes escores de locomoção durante o período se deram da seguinte forma: 69,8% dos animais apresentaram escore de locomoção 1, ou seja, eram saudáveis no que tange ao sistema locomotor. Já os animais com algum grau de escore de locomoção se distribuíram com o restante dos animais que apresentou algum grau de dificuldade de locomoção da seguinte forma, segundo a intensidade: 21,6% dos animais apresentaram EL2, 15,5% deles EL3, 3,5% deles EL4, e 2,2% deles EL5, portanto 57% dos animais encontravam-se sem nenhum tipo de dificuldade de locomoção. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Bicalho *et al.* (2007), que encontraram 11,5 (EL1), 17,3% (EL2), 36,5% (EL3), 37,6% (EL4) e 1% (EL5). Todavia, esses autores detectaram um número maior de vacas com sinais mais evidentes de claudicação, talvez pelo fato de o referido estudo ter ocorrido em vacas no sistema de *free-stall*, momento em que a vaca é mais desafiada, principalmente no que tange ao sistema locomotor, devido ao tipo de piso, mais abrasivo no *free-stall*, quando comparado ao sistema semiextensivo. Além disso, a taxa de animais saudáveis no estudo efetuado por Bicalho era bem menor (11,5%) comparada à do presente trabalho. Entretanto, é importante ressaltar que a distância média percorrida diariamente pelos animais deste estudo, do campo onde se localizavam até a sala de ordenha, era de aproximadamente 2,2km, sendo o relevo plano, porém com alto grau de umidade, fatores esses que provavelmente contribuem negativamente para a ocorrência de afecções podais.

A distribuição dos escores de condição corporal durante o período de avaliação foi a seguinte: ECC 1 (0%), ECC 1,5 (0,3%), ECC 2 (9%), ECC 2,5 (33%), ECC 3 (32,8%), ECC 3,5 (16,9%), ECC 4 (4,4%), ECC 4,5 (3,6%) e ECC 5 (0%). Assim, os resultados do presente estudo comprovaram a teoria discutida por Bicalho *et al.* (2009), pois encontrou-se associação negativa ($r=-0,57$) entre ECC e EL ($P=0,03$), com média geral de ECC de $2,97\pm 0,33$ e de EL de $1,35\pm 0,24$ durante o período experimental. Bicalho *et al.* (2009), ao estudarem a relação do ECC e a presença de claudicação com a espessura de coxins digitais em seu estudo

desenvolvido com 700 animais, demonstraram que vacas apresentando graus de claudicação elevados apresentaram ECC e espessura de coxim digital inferiores.

O coxim tem como principal função o amortecimento da concussão do dígito ao solo; logo, quanto menor for a espessura dessa região anatômica, maior seria a predisposição a lesões que cursariam com claudicação (Bicalho *et al.*, 2009). Portanto, conforme os dados obtidos na análise que resultou em correlação negativa para EL e ECC, pode-se sugerir que quanto menor o ECC, maiores as chances de essas vacas apresentarem claudicação. Esse resultado demonstra que a baixa condição corporal pode ser um fator que contribui para a ocorrência de possíveis danos ao sistema digital pela vulnerabilidade biomecânica de absorção do impacto das unhas ao solo. O mesmo resultado foi encontrado por Randall *et al.* (2015), em um estudo realizado durante oito anos em um rebanho leiteiro, o qual indica que um ECC inferior a 2 está associado com uma maior chance de claudicação em vacas leiteiras e que o risco de claudicação diminui com o aumento do ECC.

Para Buckley *et al.* (2003), vacas que perdem índices de condição corporal no periparto apresentam maior concentração de ácidos graxos não esterificados (AGNE), tornando-se, possivelmente, mais vulneráveis a desequilíbrios metabólicos, assim como à laminite. Esta doença, também denominada pododermatite asséptica difusa, é responsável por aproximadamente 70% das causas de claudicação em bovinos de leite e está relacionada com eventos inflamatórios e oxidativos proporcionados por esses processos (Warnick *et al.*, 2001). O aumento nos níveis de AGNE é resultado de altas taxas de lipólise, ou seja, da mobilização de reservas lipídicas, e provoca profundo impacto no escore de condição corporal. Segundo Hoedemaker *et al.* (2009), existe associação entre esses fatores e o aumento do risco de claudicação. Esses autores reportaram que vacas com baixo ECC próximo ao parto tiveram de três a nove vezes mais chances do desenvolvimento de claudicação em comparação a vacas com maior ECC.

Em contrapartida ao mencionado por Buckley *et al.* (2003), é interessante salientar que não se pode afirmar que a associação entre emagrecimento e claudicação é um processo de causa e efeito, pois é difícil detectar as causas e as consequências, já que tanto um quanto outro podem ocorrer independentemente da ordem, bem como não se sabe se simplesmente ocorrem de forma concordante. Portanto, seria interessante um estudo analisando o início dos dois extremos: o emagrecimento e a claudicação, para, assim, compreender, de forma mais elucidativa, o mecanismo dos problemas citados, além de suas possíveis inter-relações.

Durante a lactação, as exigências energéticas são atendidas por uma combinação de nutrientes da dieta juntamente com mobilização de reservas corporais. A fase inicial da lactação

é um período de grande desafio a esses animais, visto que há aumento significativo na produção leiteira e baixo consumo de matéria seca, o que resulta em um balanço energético negativo (BEN), ou seja, a ingesta alimentar não supre as necessidades metabólicas, culminando em um déficit energético, por muitas vezes fisiológico, nesse período (Rennó *et al.*, 2011). Entretanto, há momentos em que o metabolismo compensatório acaba utilizando vias alternativas para suprimento da glicose sanguínea, acontecendo a gliconeogênese. Dessa forma, não falta suprimento para o animal manter suas atividades fisiológicas, porém tal situação pode refletir-se em demasiada perda de condição corporal, bem como em comprometimento dos status metabólico, energético e imune (Drackley, 1999).

Além disso, aspectos relacionados à condição corporal e à lipomobilização com espessura de coxim digital demonstram que não só a perda de condição corporal e a consequente espessura de coxim podem estar correlacionadas com a ocorrência de afecções podais. Em estudo realizado avaliando-se o conteúdo e a composição lipídica da almofada digital de vacas e novilhas, verificou-se que a proteção do casco depende, de certa forma, da composição lipídica de ácidos graxos da almofada digital, bem como da irrigação sanguínea dele (Räber *et al.*, 2006).

O BEN é agravado pela claudicação, pois, de acordo com Bicalho *et al.* (2007), vacas claudicantes têm maior dificuldade de locomoção, devido ao desconforto a que estão sendo submetidas, conseqüentemente não têm acesso facilitado à alimentação, o que diminui a ingestão de alimento e provoca perda de ECC. Segundo Randall *et al.* (2015), vacas que perdem ECC durante as primeiras quatro semanas após o parto apresentam maior fator de risco de claudicação no futuro.

No sistema de criação semiextensivo, as vacas devem ser locomovidas dos piquetes até a sala de ordenha. Conforme citaram Bicalho *et al.* (2007), ao serem manejadas em duas ordenhas diárias, mesmo estando claudicantes, repousam nos piquetes, com isso ingerem maior quantidade de matéria seca e chegam a produzir até 3,5 litros de leite por dia a mais do que vacas submetidas a outros sistemas de ordenha.

Ferreira (2003), ao estudar a incidência de claudicação no Brasil, realizou um ensaio com animais mantidos em sistema de confinamento (*free-stall*) na bacia leiteira de Minas Gerais, onde encontrou uma ocorrência anual de 122% de prevalência de lesões ortopédicas nesses rebanhos. Tal resultado demonstra que não somente 100% das vacas foram acometidas por alguma afecção podal como 22% desses animais ainda foram reincidentes mediante episódios de claudicação durante um período de 12 meses.

Pesquisas conduzidas por Flor e Tadich (2008), com rebanhos em sistema extensivo ou sem estabulação no inverno, obtiveram uma prevalência de claudicação de 28,7% e 32%, respectivamente. Esses dados demonstram o benefício dos sistemas de produção não confinados para o aparelho locomotor dos animais, os quais levam a menores taxas de ocorrência de afecções podais do que os sistemas de produção confinados. Além disso, demonstraram a necessidade de investimento em tratamento e prevenção das afecções podais nos rebanhos leiteiros confinados diante dos grandes prejuízos causados.

Existem diferentes fatores que podem estar associados à ocorrência dessas desordens podais, bem como à relação entre eles. Investigam-se causas decorrentes de alteração de dieta e o reflexo desta nos status metabólico, inflamatório e fisiológico desses animais, mas ainda há escassez de informações a respeito do envolvimento de outras doenças que possam estar implicadas no desencadeamento de distúrbios ortopédicos (Lean *et al.*, 2013). Especula-se ainda que casos de nutrição inadequada ou de doenças que provoquem quadros de anemia, levando a quadros de baixa vascularização sanguínea, vasoconstrição e possível comprometimento da circulação sanguínea podal, possam agravar, ainda mais, a hipóxia, muitas vezes citada como causa da morte das lâminas epidermais do casco (Thoefner *et al.*, 2004).

De acordo com Rennó *et al.* (2011), conforme a fisiologia da lactação, esperam-se alterações fisiológicas metabólicas que relacionem a mobilização lipídica e a produção de leite ao longo de uma lactação. Essas alterações modificam a condição corporal e, conseqüentemente, ocorre perda de peso. Ao se avaliar o ECC e associá-lo com o EL, pode-se precocemente prevenir e diagnosticar a claudicação no rebanho, considerando-se os métodos avaliativos uma etapa fundamental para que haja redução dos impactos ao bem-estar, à produção leiteira e, principalmente para que não ocorra a desestruturação econômica e financeira das propriedades que adotam o sistema de manejo semiextensivo.

Com base nos efeitos deletérios de um alto ECC em bovinos, principalmente no período de transição, e na característica de correlação positiva com o amortecimento comprovada desse ECC com a diminuição de lesões ortopédicas (Bicalho *et al.*, 2009; Buckley *et al.*, 2003), o ECC ideal do período de transição seria em torno de 3,5, visto que possibilitaria um amortecimento razoável, sem comprometer o estado metabólico do animal

CONCLUSÃO

Existe uma correlação negativa entre escore de condição corporal e de locomoção em vacas da raça Holandesa submetidas ao regime semiextensivo de criação. A implantação de

práticas de execução do ECC e do EL como rotina nas propriedades rurais tem o potencial de possibilitar a visualização da oscilação do status metabólico do rebanho e suas possíveis causas/consequências ao sistema locomotor de bovinos ao longo do tempo, podendo-se, assim, tomar medidas de controle e profilaxia.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, A.A; LUZ, G.B; RABASSA, V.R. *et al.* Concentration of minerals in the hoof horny capsule of healthy and lame dairy cows. *Semin: Ciên. Agrár*, v.37, n.3, p. 1423-1430, 2016.
- BICALHO R.C.; MACHADO, V.S.; CAIXETA, L.S. Lameness in dairy cattle: A debilitating disease or a disease of debilitated cattle? A cross-sectional study of the prevalence of lameness and the thickness of the digital cushion. *J. Dairy Sci.*, v.92, n.7, p.3175-3184, 2009.
- BICALHO, R.C; VOKEY, F; ERB, H.N; GUARD, C.L. Visual locomotion scoring in the first seventy days in milk: Impact on pregnancy and survival. *J. Dairy Sci.*, v.90, n.10, p.4586-4591, 2007.
- BUCKLEY, F; O’SULLIVAN, K; MEE, J.F. Relationships among milk yield, body condition, cow weight, and reproduction in spring-calved Holstein-Friesians. *J. Dairy Sci.*, v. 86, n.7, p. 2308–2319, 2003.
- DRACKLEY, J. K. ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal of Dairy Science*, v.82, p.2259-2273, 1999.
- FERREIRA, P.M. *Enfermidades podais em rebanho leiteiro confinado*. 2003. 79f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- FLOR, E.; TADICH, N. Claudicaciones en vacas de rebaños lecheros grandes y pequeños del sur de Chile. *Arch. Med. Vet.*, v. 40, n.2, p. 125-134, 2008.

HOEDEMAKER, M.; PRANGE, D.; GUNDELACH, Y. Body condition change ante- and postpartum, health and reproductive performance in German Holstein cows. *Reprod. Domest. Anim.*, v.44, n.2, p.167–173, 2009.

LEAN, I.J.; WESTWOOD, C.T.; GOLDBERGER, H.M.; VERMUNT, J.J. Impact of nutrition on lameness and claw health in cattle. *Livestock Science*, v. 156, p. 71-87, 2013.

PHILLIPS, C.J. *Principles of Cattle Production*. 2^a Ed. Cambridge University Press, 2010. p. 75-129.

RÄBER, M.; SCHEEDER, M. R. L.; OSSENT, P.; LISCHER, CH. J.; GEYER, H. The content and composition of lipids in the digital cushion of the bovine claw with respect to age and location – A preliminary report. *Veterinary Journal*, v. 172, p. 173-1177, 2006.

RANDALL, L.V.; GREEN, M.J.; CHAGUNDA, M.G. *et al.* Low body condition predisposes cattle to lameness: An 8-year study of one dairy herd. *J. Dairy Sci.*, v. 98, n.6, p.3766–3777, 2015.

RENNÓ, F.P.; BARLETTA, R.V.; J.E.F. JUNIOR, *et al.* Escore de condição corporal e sua relação com a produtividade, saúde e bem estar de vacas em lactação. In: III SIMPÓSIO NACIONAL DE BOVINOCULTURA LEITEIRA E I SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 2011, Viçosa. *Anais...* Viçosa: [s.n.] 2011. p 335 - 370.

THOEFNER, M.B.; POLLITT, C.C.; VAN EPS, A.W. *et al.* Acute bovine laminitis: a new induction model using alimentary oligofrutose overload. *Journal of Dairy Science*, v.8, n.9, p. 2932-2940, 2004.

WARNICK, L.D; JANSSEN, D; GUARD, C.L; GRÖHN, Y.T. The effect of lameness on milk production in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.84, n.9, p.1988-1997, 2001.

3.3 Artigo 2

Impactos da claudicação pré-parto na lactação subsequente de vacas da raça holandês durante o período de transição

Barbosa, A.A.; Martins, C.F.; Krusser, R.H.; Schmoeller, E.; Corrêa, M.N.

Submetido à revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

Impactos da claudicação pré-parto na lactação subsequente de vacas da raça holandês durante o período de transição

[Impacts of prepartum claudication on subsequent lactation of Holstein cows during the transitional period]

A.A. Barbosa¹, C.F. Martins¹, R.H. Krusser¹, E. Schmoeller¹, M.N. Corrêa^{1*}

¹Universidade Federal de Pelotas - Pelotas, RS

*E-mail: marcio.nunescorrea@gmail.com

RESUMO

O objetivo do estudo foi verificar as possíveis consequências da claudicação pré-parto na lactação subsequente de vacas da raça Holandês. Vacas da raça holandês (n=27), multíparas, foram monitoradas do dia -30 até o dia 60, em relação ao parto. Trinta dias antes do parto os animais foram divididos em dois grupos de acordo com o escore de locomoção (EL) onde o EL 1 é uma vaca sem claudicação e 5 um animal com dificuldade de caminhar. No grupo claudicantes (n=15) os animais apresentavam $EL \geq 3$ e no grupo controle (n=15) apresentavam EL de 1. Foi mensurada a produção de leite, escore de condição corporal (ECC) e as concentrações sanguíneas de betahidroxibutirato (BHB), uréia, fósforo, cálcio, aspartato aminotransferase (AST), gama glutamil transferase (GGT) e proteínas plasmáticas totais (PPT). A produção de leite ($P < 0,001$) e concentração de cálcio sanguíneo ($P < 0,001$) foram menores nas vacas claudicantes. Além disso, vacas claudicantes perderam mais ECC no pós-parto recente ($P < 0,001$). Os metabólitos AST, GGT, PPT, uréia, BHBA e fósforo não diferiram entre grupos durante o período avaliado. A avaliação visual do escore de locomoção de vacas da raça holandês no pré-parto mostrou-se fundamental no que tange ao diagnóstico populacional do problema. Adicionalmente, apresenta-se como ferramenta importante para a mensuração de possíveis perdas na lactação subsequente, tanto no âmbito metabólico quanto produtivo.

Palavras-chave: Claudicação, bovino, período de transição.

ABSTRACT

The aim of the study was to verify the possible consequences of prepartum claudication on subsequent lactation of Holstein cows. Holstein cows (n=27), multiparous, were monitored from day -30 to day 60, relative to calving. Thirty days before delivery the animals were divided into two groups according to the locomotion score (EL). In the claudicating group (n=15), the animals had $EL \geq 3$ and in the control group (n=15) they had EL of 1. Milk production, body condition score (ECC) and blood concentrations of betahydroxybutyrate (BHBA), urea,

phosphorus, calcium, aspartate aminotransferase (AST), gamma glutamyl transferase (GGT) and total plasma proteins (PPT). Milk production ($P < 0.001$) and blood calcium concentration ($P < 0.001$) were lower in lame cows. In addition, lame cows lost more ECC in the postpartum period ($P < 0.001$). The metabolites AST, GGT, PPT, urea, BHBA and phosphorus did not differ between groups during the period evaluated. The visual evaluation of the locomotion score of cows of the Dutch breed in pre-partum showed to be fundamental with regard to the population diagnosis of the problem. Additionally, it is an important tool for the measurement of possible losses in subsequent lactation, both metabolically and production.

Keywords: claudication, bovine, transition period.

INTRODUÇÃO

A claudicação em bovinos leiteiros se apresenta como um problema de grande relevância no que tange aos prejuízos por ela causados ao sistema produtivo (Souza, 2006; Silveira, 2011). As perdas econômicas em virtude das afecções podais são devido ao descarte prematuro de animais (geralmente os animais mais produtivos e de maior valor zootécnico), queda na produção de leite, custos com tratamentos, aumento do período de serviço e redução da fertilidade (Molina *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 2001).

Apesar das afecções podais serem o terceiro sistema mais prevalente na ordem de doenças, elas configuram-se como a maior razão de perdas econômicas, visto que interferem de forma direta nas duas principais causas que a antecedem. Neste contexto, formas de avaliar e quantificar os impactos causados ao sistema são cada vez mais importantes (Souza, 2006; Greenough, 2007). Além disso, alterações de saúde como emagrecimento, anestro prolongado, diminuição na produção de leite e deficiências nutricionais foram relatadas em vacas com lesões podais graves e claudicação (Silveira *et al.*, 2011).

Métodos observacionais subjetivos, como escore de locomoção (EL) e escore de condição corporal (ECC), por exemplo, tem sido amplamente utilizados para avaliação populacional de diferentes graus de claudicação e estado corporal dos animais, visto que são de fácil aplicação e possibilitam um monitoramento sem custos (Barbosa *et al.*, 2016). Todavia a execução desta ferramenta no período seco tem sido pouco aplicada devido, muitas vezes, à desatenção com os animais no período não lactante.

O período seco, normalmente dura em torno de 60 dias e não é apenas um momento de descanso para a vaca de leite durante o ciclo de produção, mas sim uma fase tão relevante como qualquer outra do período lactacional, na qual importantes mudanças estão ocorrendo, sendo de

grande valor reduzir e amenizar ao máximo os impactos que tais mudanças possam ter no metabolismo da vaca, constituindo, então, um dos pontos chaves para proporcionar uma transição adequada no início da lactação (Drackley, 1999). Todavia, o período seco tem sido negligenciado pela maioria dos produtores, com a concepção de que os animais não estarem produzindo neste período, necessitariam de menos atenção.

O ECC e EL, ambas avaliações subjetivas e visuais possuem uma relação direta e inversamente proporcional (Bicalho *et al.* 2009; Barbosa *et al.* 2018) demonstrando uma relação entre ECC, espessura de coxim digital e EL de forma que, quanto maior for o ECC, mais espessa seria a camada de tecido adiposo do coxim digital. Consecutivamente existiria uma menor absorção do impacto do dígito ao solo toda vez que o animal caminhasse, fazendo que diminuíssem as chances de claudicação por essa melhora no amortecimento da concussão do dígito ao solo.

Já existem alguns estudos evidenciando os impactos negativos da claudicação sobre o metabolismo (Lacetera, 2005; Gandra, 2012) e até mesmo estimativas de perda de leite de acordo com os diferentes escores de locomoção em vacas leiteiras, porém ainda são escassas pesquisas que relacionem efeitos de claudicação pré parto na lactação pós parto em animais voltados a produção de leite.

Sendo assim o objetivo deste trabalho foi verificar as possíveis consequências da claudicação pré parto na lactação subsequente quanto ao metabolismo e produção de leite em vacas da raça Holandês.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Pelotas (Protocolo: 23110.009378/2016-01). Foram selecionadas 193 vacas da raça Holandês, múltíparas, sendo que o experimento começou com 27 animais, fato esse justificado pela dificuldade em ter animais sem nenhuma doença durante o período, além do fato de ainda se ter a necessidade possuir animais hígidos quanto ao sistema locomotor no mesmo período. Caso algum animal apresentasse problema quanto a saúde da glândula mamária e/ou sistema reprodutor durante todo o período experimental eram excluídas do estudo. Toda população experimental (27 animais), ficou recebendo a mesma dieta, instaladas em fazenda comercial no sul do Brasil. A dieta foi formulada para atender às necessidades nutricionais de vacas leiteiras no pós-parto (NRC, 2001) e foi composta por: 71,87% de silagem de milho, 10,27% de aveia pré-seca, 12,32% de polpa cítrica, 4,52% de farelo de soja, 0,82% de vitamina pré-mistura e 0,21% de ureia. As vacas tinham acesso *ad libitum* à água.

As vacas foram monitoradas 30 dias antes do parto até os 60 dias pós-parto. Os animais foram divididos em dois grupos de acordo com o e EL (Ferreira *et al.*, 2005) pré-parto, sendo essa avaliação feita aos 30 dias pré-parto. Grupo claudicantes (n=15) e grupo controle (n=12). Foram consideradas claudicantes vacas com EL igual ou maior a 3, enquanto o outro grupo: vacas saudáveis (controle) tinham EL de 1. A avaliação do EL foi realizada mensalmente durante todo período experimental.

A produção de leite era medida duas vezes por dia, de 7 dias pós parto (DPP) a 63 DPP, utilizando o leitor de sistema de ordenha digital GEA. O ECC foi realizado a cada 30 dias desde os 30 dias pré parto até 60 DPP (dias pós parto), através de avaliação visual realizada pelo mesmo técnico, com base em uma escala de cinco pontos, onde 1 é um animal caquético e obesidade é igual a 5 (Wildman *et al.*, 1982).

Foram realizadas coletas de sangue nos dias 0, 7, 14 e 21 dias após o parto, as amostras de sangue foram coletadas através de punção da veia coccígea com um frasco de 10 mL sem anticoagulante, afim de aferir a betahidroxitirato (BHB), uréia, fósforo, cálcio, aspartato aminotransferase, gama glutamil transferase, proteínas plasmáticas totais, sendo os tubos centrifugados a 1800 rpm por 15 minutos. Após foram divididos em microtubos, e congelados a - 20° C para posterior análise.

As análises de todos os parâmetros foram realizadas pelo aparelho Labmax Pleno, com a utilização de kits comerciais específicos (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil). O BHB foi obtido usando um kit comercial (Wako BHBA-HR, WakoChemicals, USA).

As variáveis respostas referentes aos parâmetros fisiológicos, parâmetros metabólicos e produtivos foram avaliadas pelo método procedimento MIXED (SAS), através da análise de medidas repetidas, considerado nível de significância de $P < 0,05$. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SAS (SAS 9.1- SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA).

RESULTADOS

A produção de leite foi menor nas vacas claudicantes ($P < 0,001$) possuindo interação grupo/dia ($P < 0,002$) a partir do dia 35 como ilustrado na Figura 1, demonstrando assim o efeito da claudicação em um período de grande desafio a esses animais.

O ECC, outra avaliação visual, bastante conectada com EL, devido a sua relação inversamente proporcional, teve um resultado até então pouco comentado na literatura. Vacas claudicantes, mesmo possuindo ECC igual a vacas saudáveis no pré-parto sofreram significativamente mais no pós parto recente ($P < 0,001$; Figura 2).

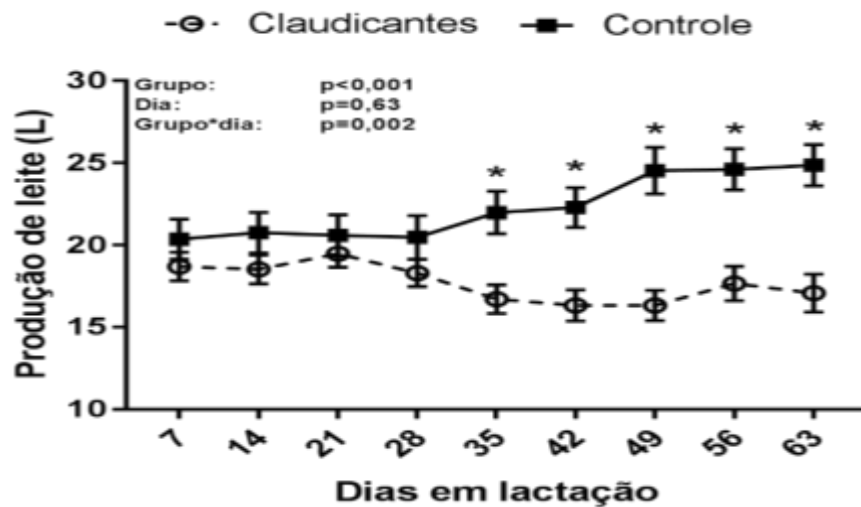


Figura 1. Produção de leite nos primeiros 60 dias de lactação de vacas claudicantes e saudáveis.

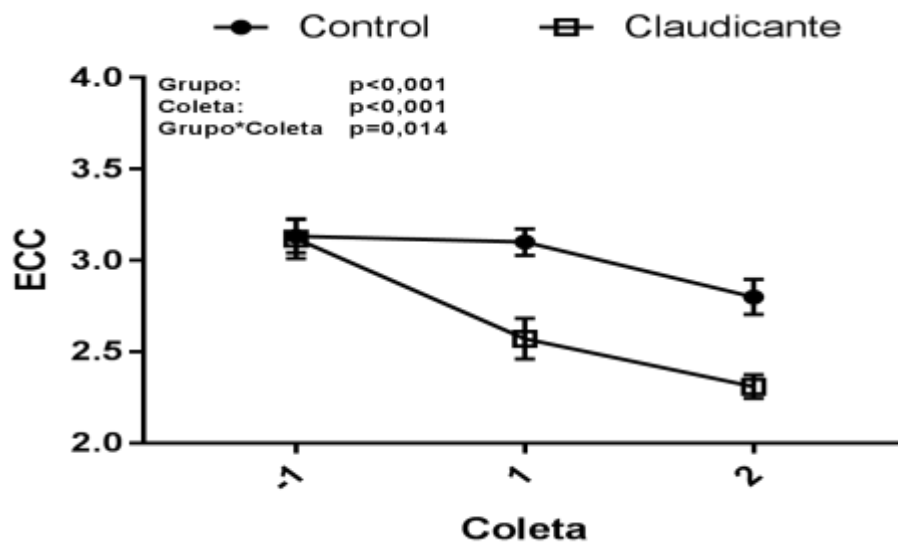


Figura 2. ECC pré e pós parto de vacas claudicantes e saudáveis

Observa-se que o cálcio sérico foi menor ($P < 0,001$) nas vacas claudicantes quando comparado com vacas saudáveis durante o período avaliado (Fig. 3).

Dentre os parâmetros avaliados, os metabólitos AST, GGT, PPT, uréia, BHB e fósforo não mostraram diferença estatística entre grupos durante o período (Tab. 1).

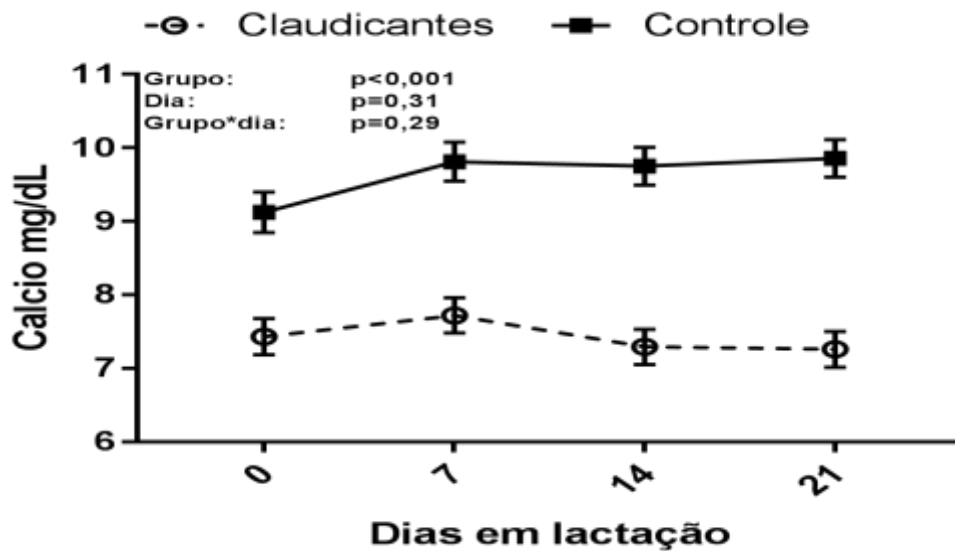


Figura 3. Concentrações de cálcio sérico de vacas claudicantes e saudáveis no primeiro mês de lactação.

Tabela 1. Metabólitos avaliados em vacas da raça holandês claudicantes ou não durante o pré-parto.

| Metabólito | Cludicante | Controle | Valor de P | | |
|-------------------------|--------------------------|--------------|------------|--------|-----------|
| | Média ± EPM ¹ | Média ± EPM | Grupo | Dia | Grupo*Dia |
| BHB (U/L) ² | 0,751±0,050 | 0,654±0,050 | 0,172 | <0,001 | 0,060 |
| Ureia (mg/dL) | 30,876±1,087 | 30,481±1,575 | 0,838 | 0,923 | 0,755 |
| AST(U/L) ³ | 77,611±3,017 | 71,425±2,584 | 0,125 | <0,001 | 0,146 |
| GGT(U/L) ⁴ | 29,723±2,038 | 30,686±2,058 | 0,741 | 0,126 | 0,497 |
| Fósforo(mg/dL) | 6,200±0,160 | 6,000±0,311 | 0,015 | <0,15 | 0,560 |
| PPT(mg/dL) ⁵ | 7,724±0,098 | 7,986±0,112 | 0,085 | <0,001 | 0,827 |

1: Erro padrão da média 2: beta-hidroxibutirado 3: Aspartato aminotransferase 4: gama glutamil transferase 5: proteínas plasmáticas totais.

DISCUSSÃO

O EL pré parto, apesar de fácil execução não tem sido rotina na maioria das propriedades leiteiras, sendo assim o estudo tanto dos impactos como das possíveis consequências dessa ferramenta na produção de leite são de grande importância no que se refere a evitar severas perdas na lactação subsequente e a conscientização dos produtores da utilização desta avaliação.

A produção de leite nos primeiros 63 dias de lactação de vacas claudicantes foi menor quando comparada com vacas saudáveis ($P<0,001$) sendo que as vacas claudicantes produziram

em litros por dia ($17,675 \pm 0,310$) enquanto o outro grupo produziu ($22,271 \pm 0,425$), demonstrando assim a importância da execução desta ferramenta já no pré parto e a partir daí o começo da adoção de medidas de controle e prevenção visando diminuir os prejuízos no que tange a produção leiteira. O momento de maior desafio durante esse período parece ser no início do pico de lactação, Martinez (2010) cita que quando uma vaca perde 0,5 kg de leite no pico de lactação, isto equivale a uma perda de produção de 110 kg de leite na lactação total.

Robinson (2001) cita que vacas com EL 2 apresentam uma diminuição da produção de 4% da real capacidade produtiva dela, sendo que essa relação aumenta em progressão geométrica, portanto um vaca score 5 estaria perdendo 32% da sua real capacidade produtiva. No entanto há relatos de perdas significativamente maiores em vacas nitidamente claudicantes, chegando a até mais que 50% da produção (Warnick, 2001). Green *et al.* (2014) cita que, vacas claudicantes iniciam o processo de perda em produção de leite, antes mesmo de serem diagnosticadas claudicantes enfatizando que a importância da identificação precoce da claudicação clínica diminuindo os prejuízos que, neste trabalho, chegaram a 500kg de leite por lactação.

Todavia o impacto da claudicação pré-parto na lactação subsequente ainda é pouco estudado, muito pelo fato da grande maioria dos produtores negligenciarem a período seco, devido a que nesse período os animais não estão produzindo leite. Entretanto, a realidade é que esse período necessita tanta atenção quanto a lactação, visto que é nessa fase que devem ser tomadas grande parte das medidas de controle e profilaxia no intuito de tornar a próxima lactação o mais saudável e rentável possível.

Métodos observacionais subjetivos, como EL e ECC, têm sido amplamente utilizados para avaliação populacional de diferentes graus de claudicação e estado nutricional em bovinos. Todavia no período pré parto ainda não se tem estudos da relação ECC X EL com produção de leite (Barbosa *et al.*, 2016). O presente trabalho demonstrou que, apesar dos animais apresentarem o mesmo ECC pré-parto, vacas claudicantes possuem menor ECC ($P < 0,001$) nos primeiros meses de lactação, demonstrando assim que, animais com problemas podais sofrem com mais intensidade os desafios metabólicos impostos pelo início da lactação culminando com uma queda acentuada do ECC. Com isso, é sabido que existe uma relação direta entre ECC e EL, visto que o ECC tem correlação positiva com o coxim digital que, por sua vez, exerce um papel de amortecimento da concussão do dígito com o solo. Sendo assim, é possível especular que a claudicação e o maior desafio pós-parto fizeram com que vacas claudicantes perdessem ECC. Concomitante a isso, diminuíram o amortecimento efetuado pelo coxim tornando então

esses animais mais vulneráveis ainda aos efeitos negativos da claudicação (Barbosa *et al.*, 2016).

Por outro lado, muitas variáveis podem contribuir para alteração na almofada digital, incluindo espessura de tecido adiposo, fatores que poderiam influenciar o aparelho suspensório do casco como parto, patologia laminar ou até mesmo claudicação prévia incluindo mecanismos fisiológicos mal compreendidos que poderiam incorporar resistência à insulina e perda condicional corporal (Bicalho *et al.*, 2009; Cecen *et al.*, 2015; Newsome *et al.*, 2016) Além de fatores de risco extrínsecos, como ambiente e umidade. Além disso, trabalhos recentes descobriram que as vacas leiteiras não prenhas alimentadas com uma dieta de energia mais alta antes do abate tiveram maior regulação positiva de genes lipogênicos dentro da almofada digital (Iqbal *et al.*, 2016), mas como equilíbrio energético negativo ou o estado fisiológico mais amplo interagem com vias lipolíticas e mobilização de gordura da almofada digital ainda não está claro. Portanto parece que a claudicação e sua relação com ECC e coxim digital continua a ser uma área onde há muito conhecimento para ser estudado.

Quanto a análise de minerais, o cálcio se mostrou menor desde o pré-parto nas vacas claudicantes, se mantendo assim durante todo período experimental, fato esse explicado por Mülling *et al.* (1999) e Barbosa *et al.* (2016) onde comentam que a diferenciação de células epidérmicas é muito sensível a alterações nos níveis plasmáticos de cálcio. Em animais com hipocalcemia, identificaram tecidos da córnea com queratinização deficiente, indicando a influência do cálcio na diferenciação das células epidérmicas. Além disso, Casagrande (2013) relatou que animais hipocalcêmicos apresentam maior desgaste da parede do casco que animais normocalcêmicos, demonstrando o efeito da concentração de cálcio no metabolismo podal.

Segundo Mülling *et al.* (1999) há uma relação entre a concentração de cálcio no tecido córneo e a produção de queratinócitos, promovendo a ativação da transglutaminase epidérmica, que participa do processo de ligação entre as fibras queratínicas do envelope celular e a diferenciação final das células epidérmicas. Há alguma especulação de que normocalcemia e leve deficiência de íon cálcio no tecido córneo podem estar relacionadas à insuficiência circulatória no tecido digital de vacas claudicantes; quando associados a concentrações locais mais baixas de magnésio como encontradas por Barbosa *et al.* (2016) levando em consideração as funções do cofator enzimático, esses achados poderiam contribuir para a ocorrência diminuição da dureza do tecido podal.

Já valores de PPT apresentaram uma aproximação da significância entre grupos ($P=0,09$) durante o período, no entanto houve uma diferença entre os mesmos nos dias 14 e 21, sendo que vacas saudáveis obtiveram valores maiores que animais claudicantes, com valores

acima do fisiologicamente aceitável segundo (KaneKo *et al.* 2008) $67,4 - 74,6$ g/L. Especula-se que tal fato ocorreu pois, sabendo-se que o PPT é o resultado da soma das globulinas e albumina sérica é sabido que vacas claudicantes possuem uma menor ingesta de matéria seca, até 10% menos quando comparadas com vacas saudáveis, (Robinson, 2001) sendo assim com o menor consumo de alimentos teriam menores níveis de albuminas. Aliado a isso também é descrito por Algiers (2009) que vacas com afecções locomotoras possuem menor capacidade de resposta imune por apresentarem menores quantidades de células imunes e menor qualidade dessa mesma resposta refletindo diretamente na quantidade de globulinas, portanto, provavelmente tais fatores estejam diretamente ligados por esses níveis de PPT menores nos referidos dias.

Os valores de AST, GGT, uréia, BHBA e fósforo se encontraram dentro dos valores de referência durante todo período experimental. Sendo assim essas diferenças não foram consideradas como significantes no que tange a efeitos da claudicação, visto que a homeostase metabólica até o presente momento estava mantida.

CONCLUSÃO

A avaliação visual do escore de locomoção de vacas da raça Holandês no pré-parto mostrou-se fundamental no que tange ao diagnóstico populacional do problema. Além disso, apresenta-se como ferramenta importante para a mensuração de possíveis perdas na lactação subsequente, tanto no âmbito metabólico quanto produtivo.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

ALGERS, B.; BLOKHUIS, H.J.; BOTNER, A. et al. Scientific opinion on the overall effects of farming systems on dairy cow. *The EFSA Journal*. n.1143, 1–38, 2009.

BARBOSA, A.A.; LUZ, G.B.; RABASSA, V.R. et al. Concentration of minerals in the hoof horny capsule of healthy and lame dairy cows. *Semin. Ciênc. Agrár.*, v.37, p.1423-1430, 2016.

BARBOSA, A.A.; PIZONI, C.; LUZ, G.B. et al. Relação entre escore de condição corporal e escore de locomoção em vacas leiteiras submetidas a manejo semiextensivo de alimentação. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.70, n.4, p.1129-1134, 2018.

BICALHO, R.C.; MACHADO, V.S.; CAIXETA, L.S. Lameness in dairy cattle: a debilitating disease or a disease of debilitated cattle? A crosssectional study of the prevalence of lameness and the thickness of the digital cushion. *J. Dairy Sci.*, v.92, p.3175-3184, 2009.

CASAGRANDE, F.P. *Perfil metabólico e mineral de vacas no período peri-parto: qualidade e conformação dos cascos*. 2013. 125f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

CECEN, G.H.; SALCI, D.S.; INTAS, N. et al. Ultrasonographic and macroscopic comparison of the thickness of the capsule, corium, and soft tissues in bovine claws: An in vitro study. *J. Vet. Sci.*, v.16, p.107-112, 2015.

DRACKLEY, J.K. ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J. Dairy Sci.*, v.82, p.2259-2273, 1999.

FERREIRA, P.M.; CARVALHO, A.U.; FILHO, E.J.F. et al. Afecções do sistema locomotor de bovinos. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE BUIATRIA, 2005, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: [s.n.] 2005. p.24. (Resumo)

GANDRA, J.F. Fontes e ácidos graxos 3 e 6 em dietas de vacas leiteiras no período de transição e início de lactação. 2012. 170f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP.

GREEN, L.E.; HUXLEY, J.N.; BANKS, C.; GREEN, M.J. Temporal associations between low body condition, lameness and milk yield in a UK dairy herd. *Prev. Vet. Med.*, v.113, n.1, p.63-71, 2014.

GREENOUGH, P.R. *Bovine laminitis and lameness: a hands-on approach*. Saskatoon: Saunders Ltd., 2007. 311p

IQBAL, Z.M.; AKBAR, H.; HOSSEINI, A. et al. Digital cushion fatty acid composition and lipid metabolism gene network expression in Holstein dairy cows fed a high-energy diet. *PLoS One*, v.11, e0159536, 2016.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. San Diego: Academic Press, 2008. 928p

LACETERA, N.; SCALIA, D.; BERNABUCCI, U. et al. Lymphocyte functions in overconditioned cows around parturition. *J. Dairy Sci.*, v.88, n6, p.2010-2016, 2005.

MARTINEZ, J.C. Guia rápido para nutrição de vacas leiteiras, Milkpoint. 2010, Disponível em: <http://www.portaleducacao.com.br/veterinaria/artigos/18023/curva-de-lactacaoem-vacas-leiteiras>> acesso em 02/01/2013. Acesso em: 10 jul. 2018.

MOLINA, L.R.; CARVALHO, A.U.; FACURY FILHO, E.J. et al. Prevalência e classificação das afecções podais em vacas lactantes na bacia leiteira de Belo Horizonte. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.51, n.2, p.149-152, 1999.

MÜLLING, C.; BRAGULLA, H.; REESE, S. How structures in bovine hoof epidermis are influenced by nutritional factors. *Anat., Histol. Embryol.*, v.28, n.2, p.103-108, 1999.

NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL) Nutrient requirements of Dairy Cattle, Washington: Academy Press, 2001. 381p.

NEWSOME, R.F.; GREEN, M.J.; BELL, N.J. et al. A prospective cohort study of digital cushion and corium thickness. Part 1: Associations with body condition, lesion incidence, and proximity to calving. *Dairy Sci.*, v.100, p4745-4758; 2017.

ROBINSON, P.H. Locomotion Scoring Dairy Cows. Cooperative Extension Specialist, University of California, 2001. Disponível em: https://animalscience.ucdavis.edu/sites/g/files/dgvnsk446/files/inline-files/web201312_locomotion_scoring_your_cows.pdf> Acesso em: 10 jul. 2018.

SILVA, L.A.F.; SILVA, L.M.; ROMANI, A.F. et al. Características clínicas e epidemiológicas das enfermidades podais em vacas lactantes do município de Orizona, GO. *Ciênc. Anim. Bras.*, v.2, n.2, p.119-126, 2001.

SILVEIRA, J.A.S.; SILVA, N.S.; ALBERNAZ, T.T. et al. Afecções podais em bovinos associado à sodomia. *Vet. Zootec.*, v.18, n4, Supl.3, p.294-297, 2011.

SOUZA, R.C.; FERREIRA, P.M.; MOLINA, L.R. et al. Perdas econômicas ocasionadas pelas enfermidades podais em vacas leiteiras confinadas em sistema free stall. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.58, n.6, p.982-987, 2006.

WARNICK, L.D.; JANSSEN, D.; GUARD, C.L.; GRÖHN, Y.T. The effect of lameness on milk production in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.84, p.1988-1997, 2001.

WILDMAN, E.E., JONES, G.M., WAGNER, P.E. et al. A dairy body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J. Dairy Sci.*, v. 65, n.3, p.495-501, 1982.

3.4 Artigo 3

Avaliação Ruminal e Hemogasométrica de Vacas Claudicantes da Raça Holandês

Barbosa, A.A.; Martins, C.F.; Corrêa, M.N.; Franck, J.S.; Araújo, M.C.N.; Noschang,
J.P.; Buchain, O.Z.; Schmitt, E.

Será submetido à revista Ciência Rural

Avaliação Ruminal e Hemogasométrica de Vacas Claudicantes da Raça Holandês**Ruminal and Hemogasometric Evaluation of Claudicant Holstein Cows****Antônio Amaral Barbosa¹ Charles Ferreira Martins¹ Marcio Nunes Corrêa¹ Jorge Silva****Franck¹ Maria Carolina Narval de Araújo¹ Joana Piagetti Noschang¹ Otávio Zacher****Buchain¹ Eduardo Schmitt^{1*}****-NOTA-****RESUMO**

O objetivo deste estudo foi avaliar o pH ruminal e marcadores hemogasométricos de vacas claudicantes de raça Holandês. Foram utilizadas oito vacas múltiparas, com produção média de $25,19 \pm 4,92$ L/dia e com 67 ± 6 dias em lactação e contagem de células somáticas $< 150,00$ cel./mL. Os animais foram divididos em dois grupos conforme a avaliação do escore de locomoção(EL) onde EL 1 é uma vaca hígida e EL5 um animal com dificuldade de se locomover: controle (n = 4) e claudicantes (n = 4). A partir do diagnóstico de claudicação, foram realizadas diariamente coletas de líquido ruminal para avaliação do pH ruminal e de sangue para análises de pH, bicarbonato, excesso de base e cálcio ionizado. Vacas claudicantes apresentaram menor pH ruminal ($P=0,002$) do que vacas saudáveis, caracterizando um quadro de acidose ruminal. Além disso, os animais claudicantes apresentaram alcalose metabólica, suportado pelo maior pH sanguíneo ($P=0,01$), pressão de base ($P=0,007$), bicarbonato ($P=0,06$) e menor cálcio ionizado ($P=0,09$). Conclui-se que, vacas claudicantes parecem apresentar acidose ruminal e como mecanismo compensatório, esses animais podem desenvolver alcalose metabólica. Além disso, comprovou-se que vacas claudicantes apresentam alterações importantes no perfil hemogasométrico.

Palavras-chave: casco, sistema locomotor, acidose ruminal

¹Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária - Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, RS- Brasil. *E-mail para correspondência: schmitt.edu@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the ruminal pH and hemogasometric markers of claudicating cows of the Holstein cows. Eight multiparous cows were used, with a mean production of 25.19 ± 4.92 /day and 67 ± 6 days in lactation and somatic cell count <150.00 cells/mL. The animals were divided into two groups according to the locomotion score: control (n=4) and claudicants (n=4). From the diagnosis of claudication, ruminal fluid samples were collected daily to evaluate ruminal and blood pH for analysis of pH, bicarbonate, baseline pressure and ionized calcium. Claudicating cows presented lower ruminal pH ($P=0.002$) than healthy cows, characterizing a rumen acidosis. In addition, the claudicating animals presented metabolic alkalosis, supported by higher blood pH ($P=0.01$), base pressure ($P=0.007$), bicarbonate ($P=0.06$) and lower ionized calcium ($P=0.09$). It was concluded that claudicating cows present ruminal acidosis and as a compensatory mechanism, these animals may develop metabolic alkalosis. In addition, it was verified that lame cows present changes in the hemogasometric profile.

Keywords: hoof, locomotor system, ruminal acidosis

Alterações do sistema locomotor em bovinos leiteiros vêm sendo associadas a baixos índices produtivos que acarretam perdas econômicas significativas, as quais atingem valores aproximados de 1,5 kg/leite/dia por animal acometido (WARNICK et al., 2001). Estima-se que esses prejuízos por claudicações em vacas leiteiras só são menores que os causados por mastites e doenças do trato reprodutivo (GREENOUGH, 2007). Tais perdas podem ser reduzidas se for possível reconhecer a tempo (BRUIJNIS et al., 2009) e monitorar a evolução de alterações nas respostas adaptativas do casco, ou conseguir-se antecipar e identificar o desenvolvimento de condições patológicas associadas a problemas ortopédicos. Como alternativa, o

desencadeamento inicial do processo patológico ligado à estrutura digital em bovinos pode ser diagnosticado precocemente através da análise de marcadores biológicos e exames complementares relacionados com afecções podais, como descrito por KNOTT et al. (2007) através de estudos realizados em equinos.

A síndrome da acidose láctica bovina está associada a grandes aumentos de ácido láctico no rúmen, resultante de dietas ricas em carboidratos, forragem de baixa fibra ou ambos. O impacto sistêmico da acidose pode ter múltiplas implicações fisiológicas, incluindo inflamação asséptica difusa das lâminas digitais (laminite) causando severos sinais álgicos nesses animais. A laminite é responsável por 70% a 80% de todos casos de claudicação em bovinos (NAGARAJA e LECHTENBERG, 2007; AMETAJ et al., 2010; BARBOSA et al., 2016) e sua ligação com a acidose parece estar associada a uma hipoperfusão persistente, que resulta em isquemia no dígito, sendo a gestão da acidose considerada então um ponto crítico na prevenção da laminite.

A alta produção dos rebanhos leiteiros impõe um desafio contínuo aos animais, exigindo que eles maximizem o consumo e utilização de energia, o que favorece o aparecimento de distúrbios metabólicos, principalmente, a acidose ruminal e a laminite. Levando em consideração que a acidose é a principal causa da laminite e esse desequilíbrio ácido-básico pode ter consequências negativas ao sistema podal, nos últimos anos, ampliou-se o entendimento dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na patogênese dos transtornos dos dígitos dos bovinos, especialmente sobre a laminite (MULLING et al., 2006). Sua relação com as demais enfermidades e também com o bem estar animal, tem sido intensamente estudada. (RAMA, 2006), fazendo com que esta possível correlação necessite ser melhor compreendida, principalmente através de métodos complementares de diagnóstico. Assim, este estudo teve por objetivo avaliar o pH ruminal e hemogasometria de vacas claudicantes da raça Holandês.

O estudo foi conduzido no Município de Capão do Leão (RS) e todos os procedimentos aqui realizados foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Pelotas. Foram utilizadas oito vacas da raça Holandês, ordenhadas duas vezes ao dia, multíparas, equilibradas quanto à produção de leite ($25,19 \pm 4,92$ L/dia), dias em lactação (DEL; 67 ± 16) e contagem de células somáticas (CCS; < 150.000 cél./mL). Os animais eram mantidos em um sistema *Freestall*, alimentados com TMR à base de silagem de milho, polpa cítrica, milho, soja e núcleo mineral e vitamínico, disponibilizado aos animais duas vezes ao dia (manhã e tarde).

Seguindo a metodologia de FERREIRA (2003), foi realizada a avaliação do escore de locomoção (EL) e partir disso, os animais foram divididos em dois grupos experimentais: controle (n=4) e claudicantes (n=4). No grupo claudicante todos animais apresentaram EL acima de 2, sendo a erosão de talão a doença digital diagnosticado em todos casos.

Para avaliação do pH ruminal foram coletados 30 mL de líquido ruminal, três horas antes da alimentação, através de bomba vácuo de dupla via adaptada para bovinos, a cada três dias durante 10 dias, desprezando os primeiros jatos para diminuir a contaminação com saliva. O pH foi avaliado através de medidor de bancada portátil.

A análise da gasometria, foi efetuada a cada três dias durante 15 dias, sendo determinada a partir da coleta de sangue venoso por punção da jugular, utilizando o equipamento i-STAT (abbot) dotado do cartucho CG8+. Dessa forma foram analisados cálcio ionizado (iCa), pH, excesso de base (BE) e bicarbonato de sódio (HCO_3).

Os resultados foram analisados através do método MIXED MODEL, considerando como efeitos fixos o grupo (presença de claudicação) e o dia de coleta, bem como as interações entre estas variáveis.

Constatou-se que vacas claudicantes possuem menor pH ruminal ($P=0,002$) quando comparadas com vacas sadias, caracterizando assim um quadro de acidose ruminal nos animais

que apresentam dificuldade de locomoção (Fig. 1). Por outro lado, as vacas claudicantes apresentaram maior pH sanguíneo ($P=0,001$; Fig. 2), caracterizando um quadro de alcalose metabólica, isso provavelmente como efeito compensatórios da acidose ruminal. A alcalose metabólica, foi confirmada pela tendência de índices mais elevados de pressão de base (BE; $P=0,007$) e bicarbonato (HCO_3 ; $P=0,06$) sanguíneos, já que ambas são substâncias alcalinizantes, justificando a elevação do pH sanguíneo (Fig. 3a e 3b). Aliado a isso, observou-se tendência de menores índices de iCa ($P=0,09$; Fig 4.) no sangue de animais claudicantes, sendo que esse íon participa da regulação do equilíbrio ácido-básico. Isso pode ser justificado pela forma com que esse íon é liberado na circulação, visto que o paratormônio, principal hormônio envolvido na retirada do cálcio do osso, tem maior sensibilidade ao pH sérico ácido.

A queda do pH pode estar envolvida na etiopatogenia da laminite, principal enfermidade causadora de dificuldades de locomoção em bovinos (NOCEK, 1997; SHEARER, 2006). Ainda não se conhece exatamente qual fator determina o aparecimento da inflamação no tecido lamelar, bem como a extensão dessa inflamação em outras estruturas do casco tanto em bovinos (THOEFNER et al., 2005) quanto em equinos (LINFORD, 2006), outra espécie em que a laminite tem grande importância clínica e econômica.

Em bovinos, existem diversas teorias que buscam explicar a laminite. A teoria isquêmica tem sido a mais aceita, pois acredita-se que a acidose ruminal provoca a liberação de substâncias vasoativas na corrente circulatória, causando alterações vasculares no cório digital levando à laminite (NICOLETTI, 2004). Em virtude das alterações vasculares reduzem o aporte de nutrientes e oxigênio para a camada de células vivas da epiderme, as fases de proliferação e diferenciação das células epidermais ficam comprometidas resultando em formação de estrato córneo macio e de baixa qualidade que por consequência predispõe o animal a apresentar lesões associadas à laminite (SHEARER, 2006). Neste contexto, o efeito compensatório da acidose ruminal é a alcalose metabólica, ou seja, o organismo tenta equilibrar

a desregulação do equilíbrio ácido/básico através da liberação de álcalis na circulação. Essa compensação fisiológica em busca da homeostase foi comprovada neste trabalho, já que as vacas claudicantes que detinham pH ruminal menor, apresentaram elevação no pH sanguíneo quando comparadas com vacas saudáveis. Portanto apresentaram um quadro de alcalose metabólica, tendo em vista que o limite superior fisiológico é 7,45. Tal alteração no pH se deve a aumento de HCO_3 na circulação, como evidencia este estudo.

Em conclusão, vacas claudicantes apresentam acidose ruminal, suportado pela diminuição do pH ruminal, em consequência, parece que como mecanismo compensatório, esses animais podem desenvolver alcalose metabólica possuindo efeitos no perfil hemogasométrico de vacas claudicantes.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Todos os procedimentos realizados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Pelotas (Protocolo: 23110).

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Não temos conflitos de interesse a declarar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMETAJ, B.N. et al. Nutrition, microbiota and endotoxin-related disease in dairy cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.433-444, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982010001300048> Aceso em: 10 set. 2018. doi: 10.1590/S1516-35982010001300048
- BARBOSA, A.A. et al. Lesões associadas à laminite subclínica e exame radiográfico digital em vacas da raça Holandês no período transicional. **Ciência Animal Brasileira**, v.17, n.4, p.557-563, 2016. Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/33702/21914>> Aceso em: 5 set. 2018. doi: 10.1590/1089-6891v17i433702
- BRUIJNIS, M.R. et al. Assessing economic consequences of foot disorders in dairy cattle using a dynamic stochastic simulation model. **Journal Dairy Science**, v.93, n.6, p.2419-2432, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20494150>> Aceso em: 10 jul. 2018. doi: 10.3168/jds.2009-2721.
- FERREIRA, P.M. **Enfermidades podais em rebanho leiteiro confinado**. 2003. 79f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.
- GREENOUGH, P.R. **Bovine Laminitis and Lameness: a Hands on Approach**. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007. 311 p.
- KNOTT, L. et al. Effects of housing, parturition and diet change on the biochemistry and biomechanics of the support structures of the hoof of dairy heifers. **The Veterinary Journal**, v.174, n.2, p.277-287, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17110142>> Aceso em: 10 jul. 2018. doi: 10.1016/j.tvjl.2006.09.007
- LINFORD, R.L. Laminite (aguamento). In: Smith B.P. (Ed), **Medicina interna de grandes animais 3ª ed**. São Paulo: Manole e Barueri, 2006. p.1116-1124.

MULLING, C.K.W. et al. Risk factors associated with foot lameness in dairy cattle and a suggested approach for lameness reduction. In: XXIV World Buiatrics Congress, 2006.

NAGARAJA, T.G; LECHTENBERG, K.F. Liver Abscesses in feedlot cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.23, n.2, p.351-369, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17606156>> Acesso em: 10 jul. 2018. doi: 10.1016/j.cvfa.2007.05.002

NICOLETTI, J.L.M. **Manual de podologia bovina**. São Paulo: Manole e Barueri, 2004. 126p.

NOCEK, J.E. Bovine acidosis: implications on laminitis. **Journal of Dairy of Science**, v.80, n.5, p.1005-28, 1997. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9178142>> Acesso em: 10 jun. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(97)76026-0

SHEARER, J.K. The transition period and lameness due to claw disorders in dairy cows. In: PROCEEDINGS OF THE NORTH AMERICAN VETERINARY CONFERENCE, Orlando, Florida, 2006.

Rama, J M.R. Risk factors of lameness in dairy cattle and its interaction with the grazing ecosystem of milk production. In Proceedings of the XIV International Meeting Lameness in Ruminants, Colonia, Uruguay (pp. 69-73), 2006.

THOEFNER, M.B. et al. Histopathology of oligofructose-induced acute laminitis in heifers. **Journal of Dairy of Science**, v.88, n.8, p.2774-82, 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16027191>> Acesso em: 20 set. 2018. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72957-X

WARNICK, L.D. et al. The effect of lameness on milk production in dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.84, n.9, p.1988-1997, 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11573778>> Acesso em: 15 jul. 2018. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(01)74642-5

FIGURAS

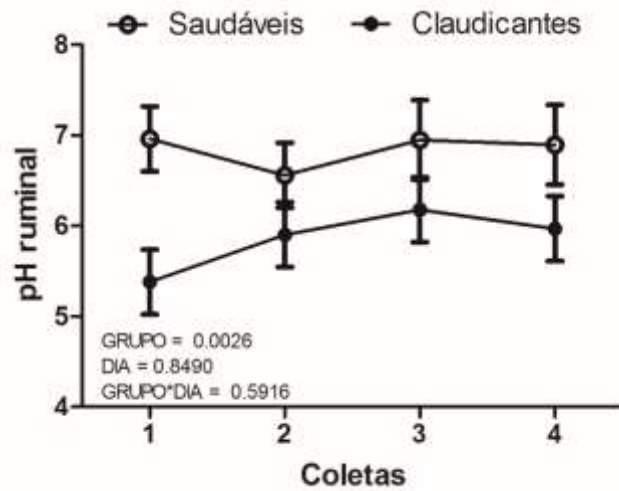


Figura 1. pH ruminal de vacas claudicantes e saudáveis.

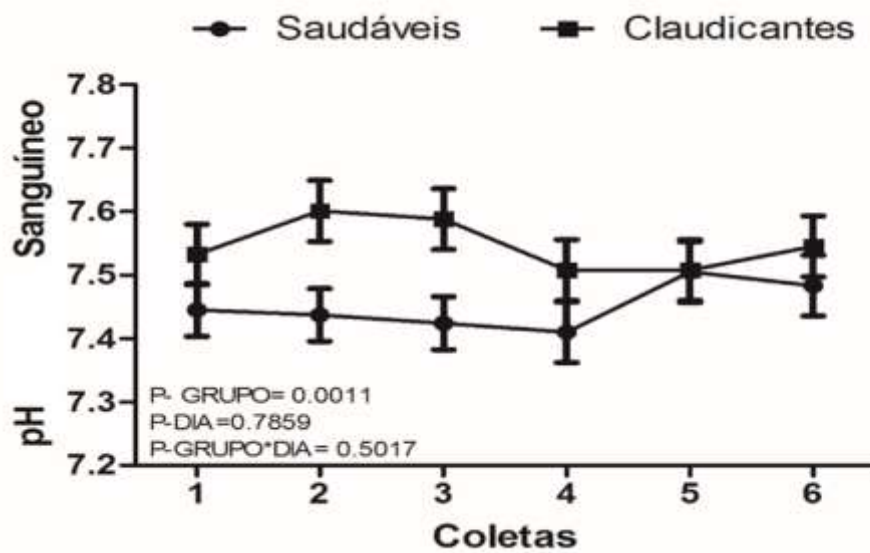


Figura 2. pH sanguíneo de vacas claudicantes e saudáveis.

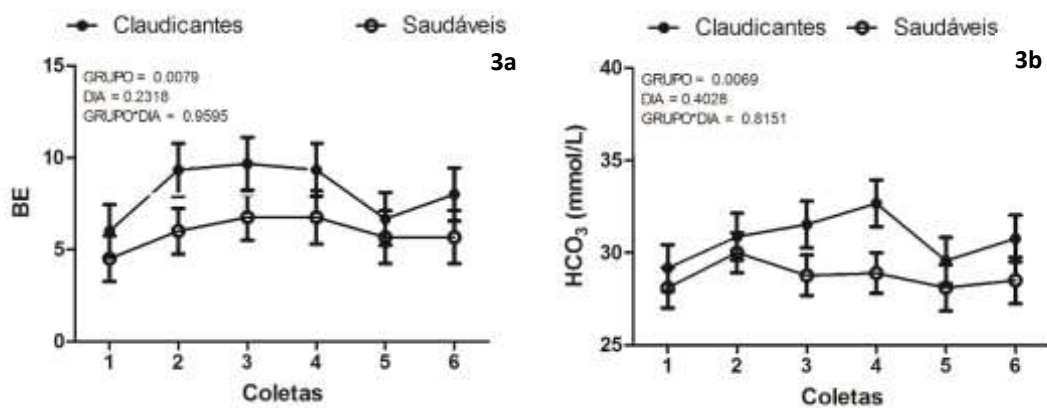


Figura 3a. Níveis sanguíneos de BE de vacas saudáveis e claudicantes. Figura 3b. Níveis sanguíneos HCO₃ de vacas saudáveis e claudicantes.

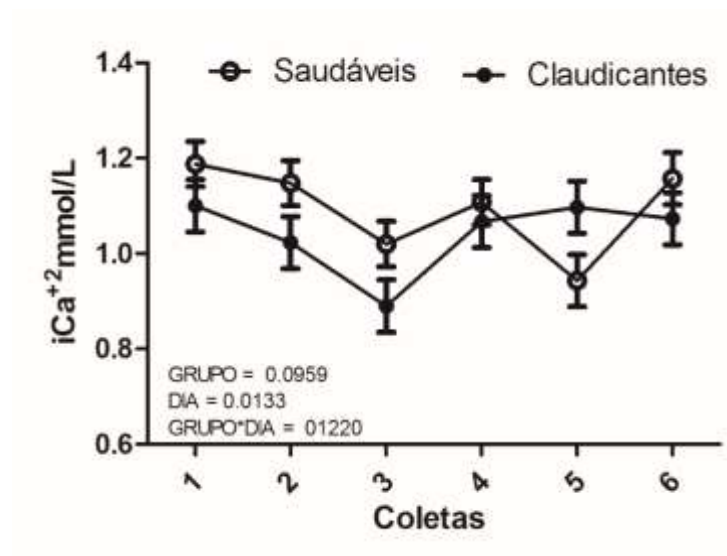


Figura 4. Níveis séricos de iCa de vacas saudáveis e claudicantes.

3.5 Artigo 4

Efeito do desafio com lipopolissacarídeos sobre o metabolismo podal de bovinos

Barbosa, A.A.; Maffi, A.M.; Rincón, J.A.A.; Brauner, C.C.; Corrêa, M.N.

Será submetido à revista Tropical Animal Health and Production

Efeito do desafio com lipopolissacarídeos sobre o metabolismo podal de bovinos

Antônio Amaral Barbosa¹, Andressa Stein Maffi¹, Joao Alveiro Alvarado Rincón¹, Cassio Cassal Brauner¹, Marcio Nunes Corrêa^{1*}

¹Universidade Federal de Pelotas - Pelotas, RS

*E-mail: marcio.nunescorreia@gmail.com

Resumo

O objetivo deste trabalho foi verificar possíveis alterações a nível clínico, sérico e histológico de animais com altos níveis de lipopolissacarídeo (LPS) exógeno. Foram utilizadas 16 novilhas de corte, em torno de 14 meses de idade, pesando aproximadamente 330 kg, clinicamente saudáveis, manejadas em sistema intensivo com livre acesso a água. Os animais foram divididas em dois grupos: o grupo LPS (n=8), que recebeu duas aplicações de 2 mL de solução salina contendo 0,5 µg/kg de peso corporal de LPS via intravenosa, com intervalo de 24 horas; e o grupo controle (n=8) que recebeu duas aplicações de 2 mL de solução salina com o mesmo intervalo de tempo. Todos os animais receberam uma coleira com acelerômetro para avaliação do comportamento. Foi realizado exame clínico geral, mensuração da temperatura corporal e coleta de sangue às 0, 4 e 8 horas após dois desafios com LPS, sendo a hora 0 o momento da infusão do LPS ou solução salina. No sangue, foi realizado hemograma e analisada a atividade de paroxonase-1 (PON1). Quatro dias após a primeira aplicação de LPS, todos os animais foram abatidos e foi realizada a coleta das lâminas epidérmicas e coxim digital, para análise histológica. A temperatura corporal do grupo LPS foi superior quatro horas após cada desafio ($P<0,05$). A contagem de leucócitos totais foi inferior no grupo LPS ($P<0,05$). A frequência cardíaca também foi afetada pelo desafio com LPS ($P<0,05$) e a frequência respiratória não diferiu entre grupos. O grupo LPS apresentou maior tempo de atividade do que o grupo controle ($P<0,05$), o tempo de ruminação e ócio não diferiu entre grupos. Nenhum animal apresentou algum sinal de anormalidade compatível com algum tipo de patologia através da análise histológica. Em conclusão, o desafio com LPS exógeno mostrou ser eficiente na simulação de liberação de LPS *in vivo*, suportado pelo aumento de temperatura, leucograma e frequência cardíaca. No entanto, o desafio com LPS não foi capaz de gerar alterações a nível de tecido laminar podal compatíveis com laminite. Sendo assim, torna-se necessário a realização de mais estudos que permitam melhorar a compreensão da relação de acidose ruminal e laminite.

Abstract

The aim of this study was to verify possible alterations at clinical, serum and histological state of animals with high exogenous LPS levels. The experimental utilized 16 beef heifers, with 14 months of years old, body weigh ± 330 Kg, clinically healthy, submitted to an intensive system with free access to water. The animals were divided into two groups: LPS group (n=8), were infused intravenously (i.v.) 2 mL of sterile saline containing with 0.5 μ g of LPS/Kg of body weight (BW), with interval of 24 hours; and control group (n=8), received 2 infused i.v. 2 mL of sterile saline with the same interval. The behaviour of all the animals were monitored by collars. At 0 (moment of infused LPS/ NaCl), 4 and 8 hours, during the two intervals, were realized clinical exam, body temperature mensuration and blood samples were collected for blood counts and for analysis of the activity of paraoxonase-1 (PON1). Four days after the first LPS application, all animals were slaughtered and the epidermal leaf and digital cushion were collected for histological analysis. The body temperature of the LPS group was higher four hours after each challenge ($P < 0.05$). The total leukocyte count was lower in the LPS group ($P < 0.05$). The heart rate was also affected by the LPS challenge ($P < 0.05$) and the respiratory rate did not differ between groups. The LPS group presented higher activity time than the control group ($P < 0.05$), the rumination and leisure time did not differ between groups. No animal showed any signs of abnormality compatible with some type of pathology through histological analysis. In conclusion, challenge with exogenous LPS was shown to be efficient in the simulation of LPS release in vivo, supported by increased temperature, leukogram and heart rate. However, the challenge with LPS was not able to generate laminitis changes in lamellar tissue compatible with laminitis. Therefore, it is necessary to carry out further studies to improve the understanding of the relation of ruminal acidosis and laminitis

Introdução

A claudicação é uma questão fundamental na produção leiteira, que está relacionada ao bem-estar e pode causar desconforto e dores persistentes (Green et al. 2002, Vermunt 2007). As afecções locomotoras constituem um tema importante de bem-estar devido a sua alta prevalência em rebanhos distribuídos ao redor do mundo e aos consequentes efeitos debilitantes (Bicalho et al. 2007, Cook 2003). A incidência de claudicação tem sido crescente no decorrer dos anos. Dados britânicos mostram a evolução das taxas de incidência em rebanhos leiteiros sendo 4% em 1960, 11% em 1977, 25% em 1983, 54,6% em 1996 e 68,9% em 2000 (Blowey

2008). No Brasil, Barbosa et al. (2018) encontraram 42,8% de animais claudicantes submetidos a manejo semiextensivo de alimentação.

Estima-se que as perdas econômicas causadas por claudicações em vacas leiteiras só são menores que os prejuízos causados por mastites e doenças do trato reprodutivo (Greenough 2007). As claudicações interferem diretamente na produção de leite causando perda estimada de mais de 20% da lactação em casos graves e exercendo efeitos diretos sobre a reprodução na medida em que reduzem a manifestação de cio e a taxa de concepção, além de interferirem diretamente na incidência de mastite do rebanho (Ferreira 2003).

Apesar da laminite ser considerada uma doença de etiologia multifatorial em que, a associação entre o ambiente, o manejo e a condição corporal estão sendo discutidas como fatores que contribuem para a ocorrência da doença. O manejo nutricional ainda é considerado um componente chave no desenvolvimento de doenças podais, visto que animais submetidos a dietas com elevado teor de carboidratos podem desenvolver acidose ruminal, que por sua vez, possui relação direta com a laminite (Enemark 2008, Nocek 1997).

A laminite é definida como a inflamação das lâminas da parede do casco de bovinos e equinos. Sua fisiopatologia envolve degeneração, necrose e inflamação das lâminas. Essa patologia também é chamada de pododermatite asséptica difusa ou de coriose (Nicoletti 2004). Ainda não se conhece exatamente qual fator determina o aparecimento da inflamação no tecido lamelar, bem como a extensão dessa inflamação em outras estruturas do casco tanto em bovinos (Thoefner et al. 2005) como em equinos (Linford 2006).

Existem algumas teorias sobre a fisiopatologia dessa afecção, como por exemplo a isquêmica, a tóxica-enzimática, a da síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) e da insulino-resistência. Porém, a patogenia mais aceita pela comunidade científica se configura da seguinte forma: após a ingestão de grãos, ricos em carboidratos, ocorre a multiplicação de bactérias Gram-positivas (*Streptococcus bovis* e *Lactobacillus sp*) no rúmen com a produção resultante de ácido lático. O ácido lático, por sua vez, leva à ativação de enzimas metaloproteinases e diminuição do pH intra-luminal (acidose), resultando na morte de bactérias Gram-negativas e liberação de endotoxinas presentes em suas estruturas, os lipopolissacarídeos (LPS). Concomitantemente, respostas inflamatórias (edema e hemorragia) ocorrem na mucosa levando a um aumento de permeabilidade vascular com conseqüente absorção destas toxinas, principalmente LPS, pela corrente sanguínea, desencadeando distúrbios endotoxêmicos e deflagrando o início do processo da pododermatite asséptica (Bailey et al. 2004).

A comprovação da relação de acidose induzida experimentalmente com sobrecarga de oligofrutose ou através da dieta e a ocorrência de laminite foi comprovada tanto em equinos

como em bovinos (Nilsson 1963, Thoefner et al. 2005), todavia o mecanismo de ação que envolve LPS e inflamação até então são especulados sem uma comprovação científica de como uma acidose ruminal poderia desencadear uma laminite.

As endotoxinas ou LPS são componentes da parede celular de bactérias Gram-negativas, constituídos de uma cadeia lateral O-específica, um núcleo de polissacarídeos e lipídeo A (Andersen 2003). A proliferação ou destruição de grandes quantidades de bactérias Gram-negativas leva à formação de endotoxinas livres em quantidade suficiente para serem absorvidas na circulação. A interação das endotoxinas com o sistema imune inicia uma cascata de eventos levando a consequências graves, especialmente na microcirculação (Smith 2005). Fagócitos mononucleares, sob influência das endotoxinas, produzem citocinas pro-inflamatórias como interleucina 1, interleucina 6 e fator de necrose tumoral alfa. A liberação desses mediadores estimula a produção hepática de proteínas de fase aguda, como amilóide sérica A, haptoglobina, proteína ligante de lipopolissacarídeo e fibrinogênio (Danscher et al. 2010, Dong et al. 2011). Acredita-se que o papel das endotoxinas na laminite se deva aos seus efeitos hemodinâmicos no cório, como lesão endotelial, a formação desordenada de coágulos ou ao seu papel como ativador de enzimas degradadoras de colágeno no cório (Greenough 2007).

Diante do que foi descrito, é visível que o LPS tem papel fundamental nas inter-relações metabólicas que iniciam em acidose e culminam com laminite. Todavia, a mensuração ou o isolamento do efeito deste LPS ainda é pouco estudado. Sendo assim, a hipótese deste trabalho é que animais submetidos a altos níveis de LPS exógeno apresentarão alterações clínicas, sérias e/ou histológicas principalmente no que se refere a sistema locomotor. Já o objetivo deste projeto foi verificar possíveis alterações a nível clínico, séricas e/ou histológico de animais com altos níveis de LPS exógeno.

Materiais e métodos

O estudo avaliou o efeito a curto prazo do desafio com LPS sobre metabolismo e suas possíveis consequências a nível sérico e/ou lâminas epidermais do casco. O modelo experimental escolhido foram novilhas, pois estas tiveram menos exposição ao LPS durante sua vida, quando comparada a uma vaca múltipara. A dose utilizada baseou-se em um estudo prévio realizado por (Waldron et al. 2003).

Foram utilizadas 16 novilhas de corte de raça europeia (Hereford/Angus), em torno de 14 meses de idade, pesando aproximadamente 330kg, clinicamente saudáveis, manejadas em sistema intensivo com livre acesso a água. Os animais permaneceram alocados em um galpão coberto, com aberturas laterais, ficando divididos por baias, em um total de 8 animais/baia. No

período do estudo, receberam uma dieta a base de silagem de milho, farelo de soja e grão de milho, contendo 60 % de matéria seca, 65 % de NDT, 26,8% de FDN e 12,6% de proteína bruta, além de livre acesso à água. Optou-se pela utilização de uma dieta com uma proporção de 60% volumoso e 40% concentrado para evitar quadros de acidose e alterações nos resultados (NRC 1996).

As novilhas foram separadas em dois grupos: o grupo LPS (n=8), que recebeu duas aplicações de 2 mL de solução salina (0,9% de NaCl) contendo 0,5 µg/kg de peso corporal de LPS (Sigma Aldrich Missouri, EUA) via intravenosa, com intervalo de 24 horas; e o grupo controle (n=8) que recebeu duas aplicações de 2 mL de solução salina (0,9% de NaCl) com o mesmo intervalo de tempo (Fig. 1). Todos os procedimentos realizados neste experimento foram aprovados pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil (Protocolo 9364).

Controle da ingestão de alimento e comportamento dos animais

Todos os animais receberam uma coleira com acelerômetro (Chipinside), para avaliação do seu comportamento, sendo coletado os dados de tempo de ócio, atividade e ruminação de cada animal em 24 horas. Além disso, foi realizada a pesagem da dieta ofertada aos animais e das sobras, no turno da manhã e da tarde.

Avaliação clínica

Para a realização do exame clínico os animais foram contidos em um brete e foi realizada a avaliação da temperatura retal, frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e movimentos ruminais (MR).

Nos dias das aplicações do LPS (D1 e D2) os animais foram avaliados antes do tratamento e 4 e 8 horas pós desafio. Nos demais dias, os animais foram avaliados 1 vez ao dia com intervalos de 24 horas.

A temperatura dos animais foi registrada a cada 30 minutos durante todo o período experimental, considerando a hora 0 como o momento da primeira aplicação de LPS, assim, a segunda aplicação foi realizada na hora 24. Para isso, foi utilizado termômetro data logger (Ibutton, Thermochron, Whitewater, USA). Além disso, fez-se a avaliação da temperatura nas horas 0, 4 e 8 dos dias D1 e D2 através de termômetro digital.

Coletas de sangue

As coletas de sangue foram realizadas através do complexo arteriovenoso da coccígeo com a utilização de sistema Vacutainer (BD Diagnostics, São Paulo, Brasil). As coletas foram realizadas concomitantemente às avaliações clínicas e, após a coleta, os tubos foram centrifugados e o soro foi armazenado em eppendorfs para posterior análises.

Para determinação da atividade PON1 sérica foi utilizado um protocolo previamente descrito (Browne et al. 2007). Brevemente, foi utilizado um tampão Tris/HCl 20 mM, contendo 1 mM de cloreto de cálcio e 4mM de fenilacetato como solução de trabalho. As amostras foram diluídas (1:3) em Tampão 20mM Tris/HCl. A leitura foi realizada em espectrofotômetro, adicionando-se 3,3 µL da amostra diluída em 500 µL da solução de trabalho. O comprimento de onda utilizado foi de 270 nm e um tempo de leitura de 1 minuto. A atividade da enzima foi determinada pela seguinte fórmula: Δ Absorbância x 115 x 3. A atividade da PON1 foi expressa em U/mL.

Coleta de tecido

No dia do abate foi realizada uma coleta das lâminas epidérmicas e do coxim digital. Uma amostra foi destinada à avaliação histológica e outra foi armazenada em criotubos contendo trizol e acondicionada em nitrogênio líquido para posterior avaliação.

Avaliação histológica

Seguinte a abertura dos dígitos foi realizada a divulsão e secção do coxim digital completo e tecido laminar na região próximo distal dorsal da unha de todos os dígitos dos membros coletados (Fig. 2). A fixação foi realizada, com solução de formalina a 10% para posterior processamento histológico (Luna 1968).

Após os recortes e aparas das amostras que possuem a finalidade de remover as áreas manipuladas com as pinças histológicas, as amostras de tecido laminar e coxim digital foram processadas seguindo a metodologia tradicional de processamento histológico, com posterior inclusão em blocos de parafina, conforme técnica de rotina. Na sequência, cortes histológicos de 5 µm de espessura foram montados em lâminas histológicas e corados pelas técnicas de hematoxilina e eosina (H&E) e ácido periódico de Shiff (PAS) (Luna 1968).

Morfo quantificação tecidual

As avaliações histológicas referentes ao tecido laminar foram realizadas conforme descrito por (Thoefner et al. 2005) que elencou em seu trabalho características histopatológicas

que podem representar possíveis lesões causadas por laminite induzida experimentalmente e segundo Mendes et al. (2013) que caracterizou escores como forma de quantificação. Nas lâminas coradas com H&E foi avaliado a morfologia das células epidermais, presença e grau de infiltrado inflamatório, hemorragia, congestão e afunilamento e estiramento das lâminas epidermais.

Resultados

No presente trabalho nenhum animal apresentou algum sinal de anormalidade compatível com algum tipo de patologia através da análise histológica (Fig. 3). Os animais desafiados (LPS) apresentaram uma contagem de leucócitos totais inferior ao grupo controle (LPS: $12884,64 \pm 1129,17$; Controle: $17029,54 \pm 1129,17$; $P=0,02$). Além disso, ao avaliar a proporção de leucócitos totais no decorrer das horas após as infusões de LPS (Fig. 4), observou-se a redução leucométrica na hora quatro ($P=0,00005$) nos animais desafiados.

O grupo LPS apresentou FC aumentada durante todo o período quando comparado com o grupo Controle (Fig. 5). Não houve diferença na frequência FR entre grupos (Figura 6). A temperatura retal dos animais desafiados com LPS foi maior ($P<0,05$) 4 horas após cada um dos desafios (Fig. 7), caracterizando a resposta sistêmica. O tempo de ruminação e ócio não diferiu entre os grupos, mas a atividade foi menor nos animais desafiados. (Fig. 8). Adicionalmente, a atividade sérica de PON1 não diferiu entre o grupo LPS e o controle (Fig. 9).

Discussão

O conhecimento das características histológicas normais da junção derme-epiderme do casco de bovinos é fundamental para o entendimento da sua fisiologia e biomecânica. Por sua vez, a caracterização das alterações teciduais que ocorrem durante a laminite auxilia na compreensão da fisiopatologia desta afecção (Mendes et al. 2013).

Sendo assim, no presente trabalho nenhum animal apresentou algum sinal de anormalidade compatível com algum tipo de patologia através da análise histológica (Fig. 3.).

A respeito das alterações histológicas na laminite, a literatura sobre a espécie equina é muito vasta. O estudo detalhado das alterações histopatológicas do casco de equinos com laminite contribuem para o melhor entendimento desta doença na espécie (Faleiros et al. 2009, Faleiros et al. 2011, Visser e Pollitt 2011). Já na espécie bovina, são escassos os estudos de natureza histopatológica no casco de animais com laminite. Este pode ser um fator limitante para o avanço no entendimento da doença.

Os relatos na literatura científica abordam as alterações histopatológicas do casco de bovinos com laminite naturalmente adquirida (Nilsson 1963) ou induzida (Danscher et al. 2010, Nilsson 1963, Thoefner et al. 2005). Os achados histopatológicos geralmente estão ligados à inflamação e às modificações na morfologia das células epidermais e da membrana basal (Danscher et al. 2010, Mendes et al. 2013, Nilsson 1963, Thoefner et al. 2005). Entretanto, em um trabalho com animais sem laminite foram detectados aumento da expressão de colágeno nas lâminas dermais e desvio do eixo queratinizado das lâminas epidermais em função do período periparto. Estas alterações foram hipoteticamente implicadas nas lesões podais do período periparto (Tarlton et al. 2002). Assim, é possível pressupor a existência de alterações na estrutura tecidual do casco não ligadas à inflamação, ou à modificação das células epidermais e da membrana basal que possam estar relacionadas à laminite.

Em bovinos de corte, mesmo modelo experimental utilizado no presente estudo, com supercrescimento da sola foram descritos hiperplasia do epitélio das lâminas epidermais da região dorsal do casco, arteriosclerose e formação de trombos em pequenas arteríolas. A presença destas lesões configura um diagnóstico de laminite crônica, que possivelmente esteve ligada à superalimentação, apesar da dieta dos animais neste estudo ser desconhecida (Singh et al. 1993). Já em modelo experimental de laminite aguda por oligofrutose, foram descritos o arredondamento das células epidermais, a redução da densidade de sua cromatina (Danscher et al. 2010, Thoefner et al. 2005), afilamento da lâmina epidermal, colapso da membrana basal, edema, hemorragia e infiltrado leucocitário na derme da região dorsal do casco (Thoefner et al. 2005).

Acredita-se que os eventos metabólicos que envolvem as alterações podais compatíveis com laminite oriundas de uma acidose ruminal sejam causados pela introdução do LPS vindo da morte das bactérias ruminais causando uma endotoxemia com efeitos sistêmicos graves que culminariam com sequelas a nível de metabolismo podal, principalmente lâminas epidermais e membrana basal (Faleiros et al. 2009, Tarlton et al. 2002). Todavia, através do presente estudo, onde foi feita a simulação exatamente deste processo, não foi possível comprovar tais resultados.

Sendo assim, é possível especular que a exposição ao LPS, apesar de ter sido efetiva, pode não ter permanecido por um tempo suficientemente longo na circulação para que o animal apresentasse as alterações já encontradas em outros estudos (Danscher et al. 2010, Mendes et al. 2013, Nilsson 1963, Thoefner et al. 2005). Porém, outra hipótese seria que, embora a acidose ruminal seja comprovadamente relacionada com sequelas a nível podal com aparecimento de

sinais de laminite, o LPS pode não ser a causa do desencadeamento do processo que faz com que ocorra tais patologias.

Os animais desafiados (LPS) apresentaram uma contagem de leucócitos totais inferior ao grupo controle (LPS: $12884,64 \pm 1129,17$; Controle: $17029,54 \pm 1129,17$; $P=0,02$). Além disso, ao avaliar a proporção de leucócitos totais no decorrer das horas após as infusões de LPS (Fig. 4), observou-se a redução leucométrica na hora quatro ($P=0,00005$) nos animais desafiados. Analisando os efeitos sobre os subgrupos de leucócitos, Diez-Fraile et al. (2003) concluíram que há uma diminuição sérica das células polimorfonucleadas em vacas leiteiras em decorrência das alterações nas moléculas de adesão (Lselectina e $\beta 2$ – integrinas). Mais especificamente, Periasamy et al. (2018) observaram a apoptose de neutrófilos de bovinos entre três a seis horas após as infusões LPS como consequência da disfunção mitocondrial. No estudo desenvolvido por Peñailillo et al. (2016) em coelhos, cuja administração também foi via intravenosa, houve na hora quatro a diminuição do número de linfócitos em virtude do sequestro rápido dessas células em resposta à invasão. Além disso, também averiguaram a ocorrência de alterações com menor intensidade nas horas subsequentes à segunda aplicação, o que sugere o desenvolvimento de tolerância ao LPS. Um padrão semelhante pode ser observado em nosso estudo, onde a redução nos níveis de leucócitos totais foi mais marcada após a primeira aplicação, demonstrando claramente uma resposta inerente à infusão de LPS, havendo um retorno gradual aos níveis iniciais, porém somente equilibrando-se novamente após 48 horas do desafio. Isso indica o potencial imunossupressor do LPS (mesmo que de forma artificial/induzida) no organismo animal. Assim, pressupõe-se um maior impacto na contagem de leucócitos totais em situações de infecções mais agudas e/ou prolongadas.

Avaliando a FC, pode-se observar que o grupo LPS apresentou FC aumentada durante todo o período quando comparado com o grupo Controle (Fig. 5), sendo que os valores fisiológicos se encontram entre 60 e 80 bpm (Feitosa 2008). Esse efeito pode ser devido à capacidade do LPS em estimular a produção de óxido nítrico (Cerqueira e Yoshida 2002) que, por sua vez, promove vasodilatação, e produção de citocinas como interleucina-1 (IL-1) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) que estimulam a degranulação de plaquetas e aderência de leucócitos ao endotélio (Beyaert e Fiers 1998), sendo capazes de promover a hipotensão e aumento da permeabilidade vascular o que torna o sangue mais viscoso e concentrado diminuindo a perfusão tecidual (Gerros et al. 1995). Como resposta compensatória, há ativação do sistema nervoso simpático, liberação hormonal de renina-angiotensina-aldosterona e do hormônio antidiurético, além da redução da pressão hidrostática nos capilares sanguíneos. Devido a esses mecanismos, há um aumento da retenção de líquidos e vasoconstrição periférica,

resultando na elevação do volume circulatório, débito cardíaco e perfusão tecidual (Bistner et al. 2002), explicando, assim o aumento da FC.

Ao analisar a FR, (Fig. 6) não houve diferença entre grupos, ocorrendo um aumento progressivo ao longo do tempo, valores fisiológicos estão na faixa de 10 mrpm a 30 mrpm (Feitosa 2008), sendo que o dia 3 foi diferente do dia 1 e dia 2, 0 e 4 horas (Fig. 2). Sabendo que o LPS altera a distribuição do fluxo sanguíneo, era esperado que houvesse um desequilíbrio entre a demanda tecidual e a oferta de oxigênio, ocasionando um quadro onde há tecidos com elevado fluxo sanguíneo, mas insuficiente para atender às necessidades metabólicas (Siqueira e Schmidt 2003). Apesar de não ter havido diferença entre os grupos (possivelmente por uma baixa dose de endotoxina), tanto o grupo controle quanto o grupo LPS apresentaram FR acima do fisiológico é provável que essa taquipneia seja explicada devido ao manejo diário já que, como eram animais de corte, não estavam acostumados com essa manipulação, sendo assim, um estresse para esses animais. Já é relatado que animais em situação de estresse liberam glicocorticóides, os quais possuem ação anti-inflamatória e imunossupressora, além de liberarem catecolaminas que promovem maior circulação sanguínea (Breazile 1987). Esse mesmo efeito ocorre com a presença de endotoxina, levando a alteração do fluxo sanguíneo e como mecanismo compensatório, ocorre a aceleração do ritmo respiratório.

Ocorreu um aumento ($P < 0,05$) de temperatura 4 horas após o desafio no grupo LPS (fig. 7), considerando-se que os valores fisiológicos situam-se entre $38^{\circ},4^{\circ}\text{C}$ a $39,2^{\circ}\text{C}$ (Feitosa 2008). Segundo Quinn et al. (2005), baixas concentrações de LPS induzem febre devido à liberação de pirógenos endógenos, como interleucina-1 e fator de necrose tumoral dos leucócitos. Essas citocinas pró-inflamatórias proporcionam a liberação de prostaglandinas as quais agem no centro termorregulador hipotalâmico alterando o limiar da termorregulação para uma temperatura mais alta, promovendo, assim, mecanismos de aumento de temperatura do corpo acima dos níveis homeostáticos (Cruz-Machado 2018). Conforme Andersen (2003), acredita-se que a resposta de hipertermia inicial tenha um tempo de latência de aproximadamente uma hora e que, se houver um segundo pico, ele aparecerá aproximadamente quatro horas após a aplicação do LPS.

Os resultados clínicos (FC, FR) e hematológicos, assim como a temperatura, acima descritos, comprovam que a simulação com doses baixas de LPS simularam de forma efetiva uma inflamação sistêmica com mesma etiologia, quando comparadas às reações fisiologicamente apresentadas por animais sob as mesmas circunstâncias em situações patológicas espontâneas.

Ao analisar o comportamento dos animais foi possível diagnosticar uma diminuição da atividade no grupo LPS, fato esse até então esperado justamente por esses animais estarem apresentando sinais característicos de inflamação, como já foi mencionado nos resultados de hemograma e avaliação clínica, que culminariam com reações de prostração e diminuição da atividade por tais motivos. A ruminância e o ócio não diferiram entre grupos. Acredita-se que um dos motivos de tal resultado seja que: animais de confinamento já detêm tais análises, de certa forma, comprometidas pela forma que são manejados, sendo assim somente variações e desafios mais bruscos e por um maior período de tempo talvez tenham impactos de maior relevância.

Embora o LPS tenha gerado uma resposta sistêmica, as doses utilizadas não afetaram a atividade sérica de PON1 durante o período estudado, quando comparado ao grupo controle, diferente do reportado por Campos et al. (2017), que observaram uma diminuição da atividade sérica de PON1 decorrente do desafio com uma única dose de LPS (2,5 µg/kg de peso corporal). Isso ocorreu, provavelmente, porque antes do primeiro desafio com LPS (-24 horas) o grupo controle já apresentava menor atividade de PON1 do que o grupo LPS. Alguns fatores podem interferir na atividade sérica da PON1 em bovinos, como idade e estado de saúde dos animais (Folnožić et al. 2015), porém um fator muito importante é variabilidade genética, como no caso dos SNP'S (Polimorfismos de nucleotídeo único) relatados por Silveira et al. (2015), que reportou vários genótipos da enzima em bovinos e sua associação com a atividade sérica da PON1.

Contudo, o desafio com LPS intravenoso mostrou-se eficiente para simular a liberação de LPS *in vivo*, suportado pelas alterações clínicas (FR, FC, temperatura retal) e mudanças no leucograma. Entretanto, o LPS não gerou alterações a nível de tecido laminar podal compatíveis com laminite. Sendo assim, torna-se necessário a realização de mais estudos que permitam melhorar a compreensão da relação de acidose ruminal e laminite. Somado a isso, é necessário determinar se um período maior de exposição ao LPS poderia afetar o metabolismo podal. O melhor entendimento das rotas que fazem com que uma acidose ruminal leve a uma laminite são de vital importância para que seja compreendida a patogenia desta enfermidade podal.

Conflitos de interesse

Não temos conflitos de interesse a declarar.

Referências

- Andersen, P.H., 2003. Bovine endotoxemia—some aspects of relevance to production diseases. A review, *Acta Veterinaria Scandinavica*, 44, S141
- Bailey, S.R., Marr, C.M. e Elliott, J., 2004. Current research and theories on the pathogenesis of acute laminitis in the horse, *The Veterinary Journal*, 167, 129-142
- Barbosa, A., Pizoni, C., Luz, G., Correa, M., Rabassa, V., Del Pino, F., Moraes, F. e Martins, C., 2018. Relação entre escore de condição corporal e escore de locomoção em vacas leiteiras submetidas a manejo semiextensivo de alimentação, *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 70, 1129-1134
- Beyaert, R. e Fiers, W., 1998. Tumor necrosis factor and lymphotoxin. *Cytokines*, 1998, (Elsevier, California), 335-360
- Bicalho, R., Cheong, S., Cramer, G. e Guard, C., 2007. Association between a visual and an automated locomotion score in lactating Holstein cows, *Journal of dairy science*, 90, 3294-3300
- Bistner, S.I., Ford, R.B., Raffe, M.R. e de Oliveira, P.M.A., 2002. Manual de procedimentos veterinários & tratamento emergencial, (Roca, São Paulo)
- Blowey, R.W., 2008. Claudicação. *Medicina bovina: doenças e criação de bovinos*, 2008, (Roca, São Paulo),
- Breazile, J.E., 1987. Physiologic basis and consequences of distress in animals, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 191, 1212
- Browne, R.W., Koury, S.T., Marion, S., Wilding, G., Muti, P. e Trevisan, M., 2007. Accuracy and biological variation of human serum paraoxonase 1 activity and polymorphism (Q192R) by kinetic enzyme assay, *Clinical Chemistry*, 53, 310-317
- Campos, F.T., Rincon, J.A.A., Acosta, D.A.V., Silveira, P.A.S., Pradieé, J., Correa, M.N., Gasperin, B.G., Pfeifer, L.F.M., Barros, C.C., Pegoraro, L.M.C. e Schneider, A., 2017. The acute effect of intravenous lipopolysaccharide injection on serum and intrafollicular HDL components and gene expression in granulosa cells of the bovine dominant follicle, *Theriogenology*, 89, 244-249
- Cerqueira, N.F. e Yoshida, W.B., 2002. Óxido nítrico: revisão, *Acta Cirúrgica Brasileira*, 417-423
- Cook, N.B., 2003. Prevalence of lameness among dairy cattle in Wisconsin as a function of housing type and stall surface, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223, 1324-1328

- da Silveira Cruz-Machado, S., 2018. Lipopolissacarídeo (LPS): ativador e regulador da transcrição gênica via fator de transcrição NF κ B, *Revista da Biologia*, 4, 40-43
- Danscher, A.M., Tølbøll, T.H. e Wattle, O., 2010. Biomechanics and histology of bovine claw suspensory tissue in early acute laminitis, *Journal of dairy science*, 93, 53-62
- Diez-Fraile, A., Meyer, E., Duchateau, L. e Burvenich, C., 2003. L-selectin and β 2-integrin expression on circulating bovine polymorphonuclear leukocytes during endotoxin mastitis, *Journal of dairy science*, 86, 2334-2342
- Dong, G., Liu, S., Wu, Y., Lei, C., Zhou, J. e Zhang, S., 2011. Diet-induced bacterial immunogens in the gastrointestinal tract of dairy cows: impacts on immunity and metabolism, *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53, 48
- Enemark, J.M., 2008. The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA): A review, *The Veterinary Journal*, 176, 32-43
- Faleiros, R., Nuovo, G. e Belknap, J., 2009. Calprotectin in myeloid and epithelial cells of laminae from horses with black walnut extract-induced laminitis, *Journal of veterinary internal medicine*, 23, 174-181
- Faleiros, R., Nuovo, G., Flechtner, A. e Belknap, J., 2011. Presence of mononuclear cells in normal and affected laminae from the black walnut extract model of laminitis, *Equine veterinary journal*, 43, 45-53
- Feitosa, F.L.F., 2008. *Semiologia Veterinária: A Arte Do Diagnóstico*, (Roca, São Paulo)
- Ferreira, P., 2003. *Enfermidades podais em rebanho leiteiro confinado*, (Tese de Doutorado, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas ...)
- Folnožić, I., Turk, R., Đuričić, D., Vince, S., Pleadin, J., Flegar–Meštrić, Z., Valpotić, H., Dobranić, T., Gračner, D. e Samardžija, M., 2015. Influence of body condition on serum metabolic indicators of lipid mobilization and oxidative stress in dairy cows during the transition period, *Reproduction in domestic animals*, 50, 910-917
- Gerros, T.C., Semrad, S.D. e Proctor, R.A., 1995. Alterations in clinical, hematological and metabolic variables in bovine neonatal endotoxemia, *Canadian Journal of Veterinary Research*, 59, 34
- Green, L., Hedges, V., Schukken, Y., Blowey, R. e Packington, A., 2002. The impact of clinical lameness on the milk yield of dairy cows, *Journal of dairy science*, 85, 2250-2256
- Greenough, P.R., 2007. *Bovine laminitis and lameness: a hands on approach*, (Elsevier Health Sciences, St. Louis)
- Linford, R.L., 2006. *Laminite (Aguamento)*. *Medicina interna de grandes animais*, 2006, (Manole, São Paulo), 116-1124

- Luna, L.G., 1968. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology, (McGraw Hill Book Company, New York)
- Mendes, H.M., Casagrande, F.P., Lima, I.R., Souza, C.H., Gontijo, L.D., Alves, G.E., Vasconcelos, A.C. e Faleiros, R.R., 2013. Histopathology of dairy cows' hooves with signs of naturally acquired laminitis, *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33, 613-619
- Nicoletti, J.L.M, 2004. Manual de podologia bovina, (Manole, Barueli)
- Nilsson, S.A., 1963. Clinical, morphological, and experimental studies of laminitis in cattle, *Acta veterinaria scandinavica*, 4, 188-222
- Nocek, J.E., 1997. Bovine acidosis: Implications on laminitis, *Journal of dairy science*, 80, 1005-1028
- NRC, 1996. Nutrient Requirements of Beef Cattle, (National Academy Press, Washington, DC)
- Peñailillo, A., Sepulveda, M., Palma, C., Espinoza, A., Aguilera, M., Burgos, R., Carretta, D., Islas, A. e Pérez, R., 2016. Haematological and blood biochemical changes induced by the administration of low doses of *Escherichia coli* lipopolysaccharide in rabbits, *Archivos de Medicina Veterinaria*, 48, 315-320
- Periasamy, S., Praveena, P.E. e Singh, N., 2018. Effects of *Pasteurella multocida* lipopolysaccharides on bovine leukocytes, *Microbial pathogenesis*, 119, 225-232
- Quinn, P., Markey, B., Carter, M., Donnelly, W. e Leonard, F., 2005. *Microbiologia veterinária e doenças infecciosas*, (Artmed, São Paulo)
- Silveira, P.A., Schwegler, E., Montagner, P., Krause, A.R., Acosta, D.A., Halfen, J., Garlet, T., Barros, C.C., Correa, M.N. e Schneider, A., 2015. Characterization of single nucleotide polymorphisms in the promoter region of the bovine paraoxonase 1 (PON1) gene affecting serum enzyme activity in dairy cows, *Veterinary journal*, 205, 101-103
- Singh, S., Ward, W. e Murray, R., 1993. Technique of hoof biopsy in cattle, *Veterinary Record*, 133, 190-191
- Siqueira, B.G. e Schmidt, A., 2003. Choque circulatório: definição, classificação, diagnóstico e tratamento, *Medicina (Ribeirao Preto. Online)*, 36, 145-150
- Smith, G.W., 2005. Supportive therapy of the toxic cow, *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 21, 595-614
- Tarleton, J., Holah, D., Evans, K., Jones, S., Pearson, G. e Webster, A., 2002. Biomechanical and histopathological changes in the support structures of bovine hooves around the time of first calving, *The Veterinary Journal*, 163, 196-204
- Thoefner, M., Wattle, O., Pollitt, C., French, K. e Nielsen, S.S., 2005. Histopathology of oligofructose-induced acute laminitis in heifers, *Journal of dairy science*, 88, 2774-2782

- Vermunt, J.J., 2007. One step closer to unravelling the pathophysiology of claw horn disruption: for the sake of the cows' welfare, *Veterinary journal*, 174, 219
- Visser, M. e Pollitt, C., 2011. The timeline of lamellar basement membrane changes during equine laminitis development, *Equine veterinary journal*, 43, 471-477
- Waldron, M.R., Nishida, T., Nonnecke, B.J. e Overton, T.R., 2003. Effect of lipopolysaccharide on indices of peripheral and hepatic metabolism in lactating cows, *Journal of dairy science*, 86, 3447-3459

Figuras

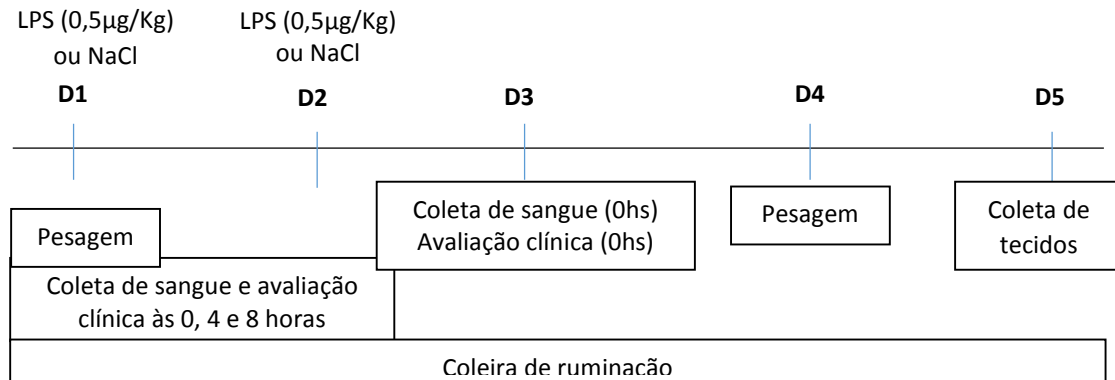


Fig. 1 Esquema simplificado de metodologia experimental

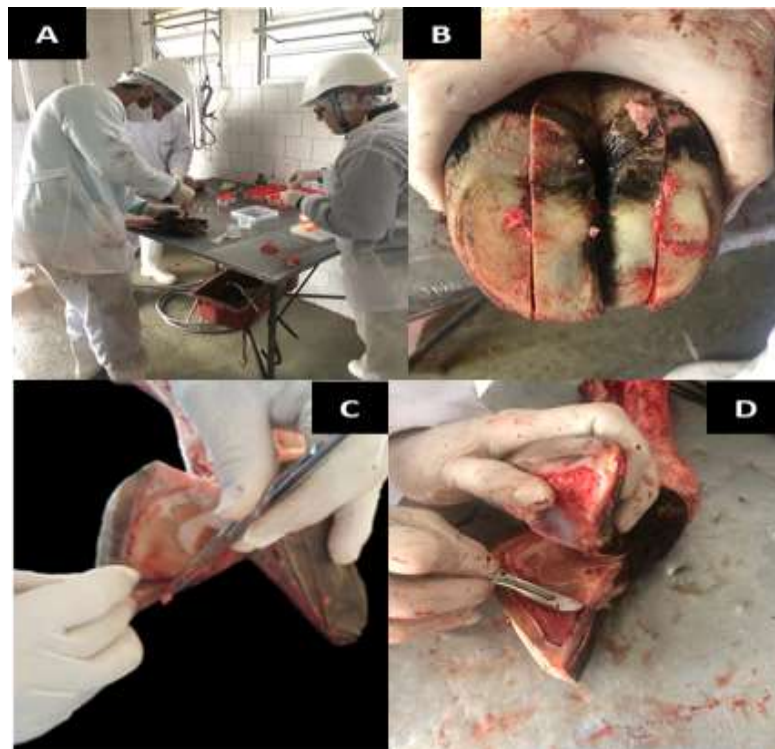


Fig. 2 Obtenção de amostras digitais *post mortem*. A: Coleta de tecido; B: Corte dos dígitos em serra fita; C e D: Ilustração do local de divulsão e secção do tecido laminar e coxim digital

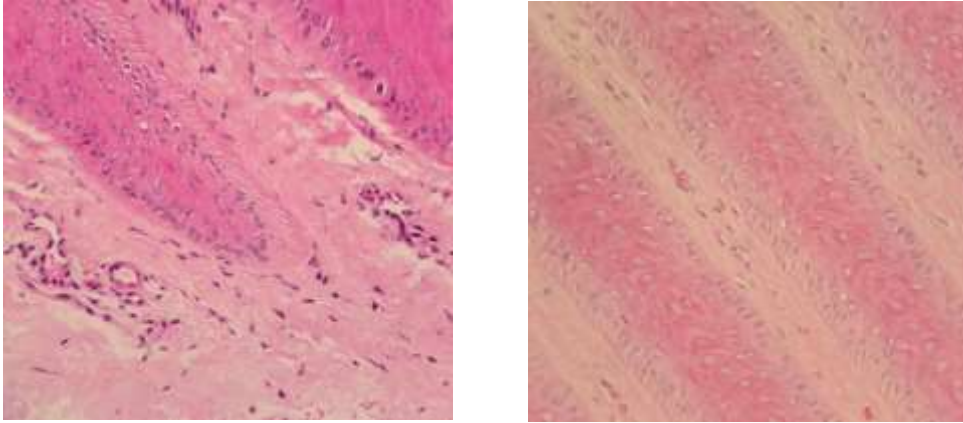


Fig. 3. Epitélio laminar sem alteração. HE. Objetiva de 40x.

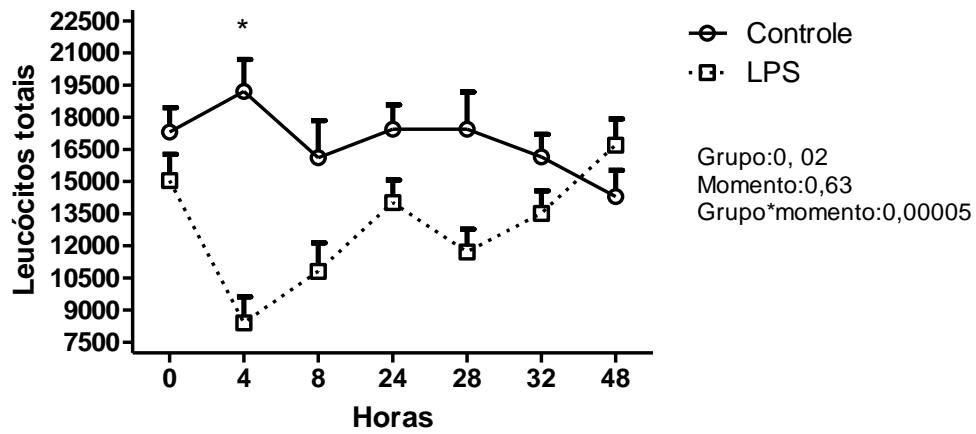


Fig. 4 Leucócitos totais de novilhas desafiadas ou não com lipopolissacarídeo intravenoso às 0 e 24 horas.

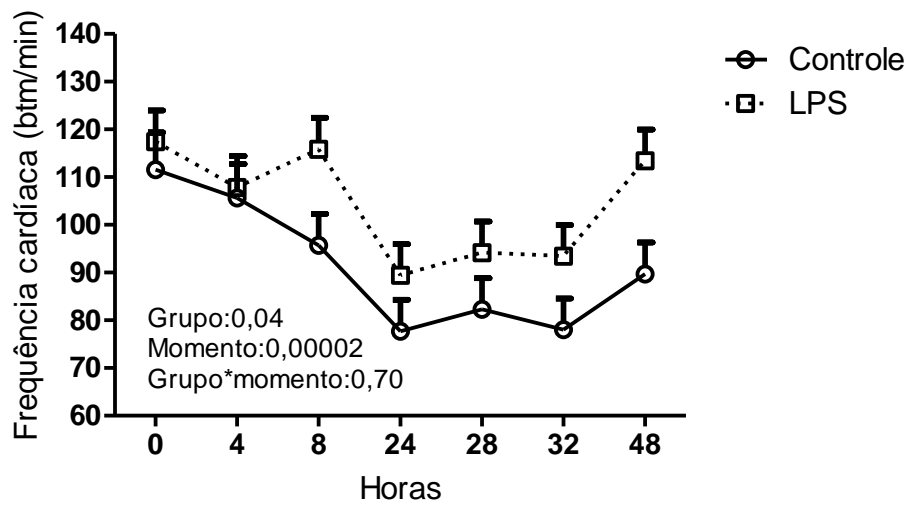


Fig. 5 Frequência cardíaca de novilhas desafiadas ou não com LPS às 0 e 24 horas.

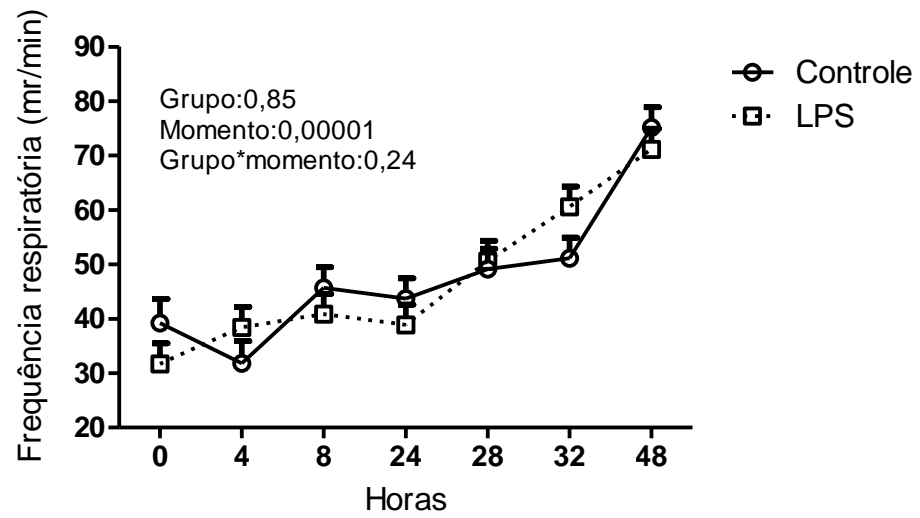


Fig. 6 Frequência respiratória de novilhas desafiadas ou não com LPS às 0 e 24 horas.

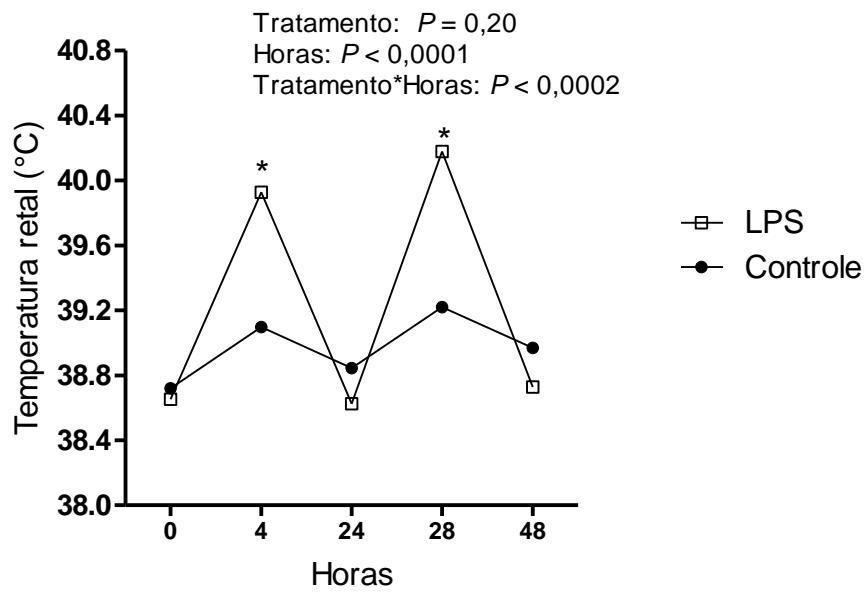


Fig. 7 Temperatura retal (°C) em novilhas de corte desafiadas ou não com LPS às 0 e 24 horas.

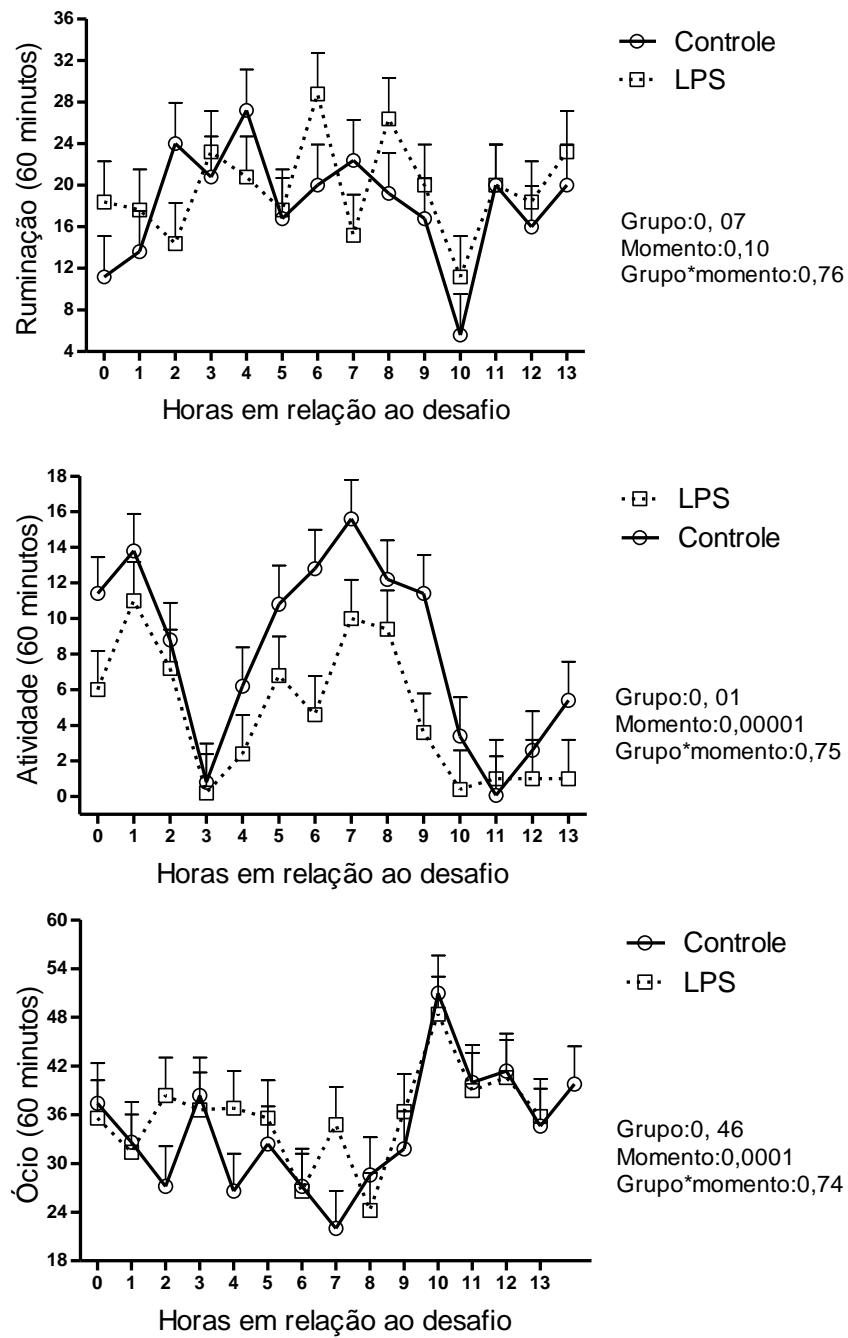


Fig. 8 Relação entre horas ao longo do dia e minutos que os animais permaneceram em ruminação, atividade e ócio.

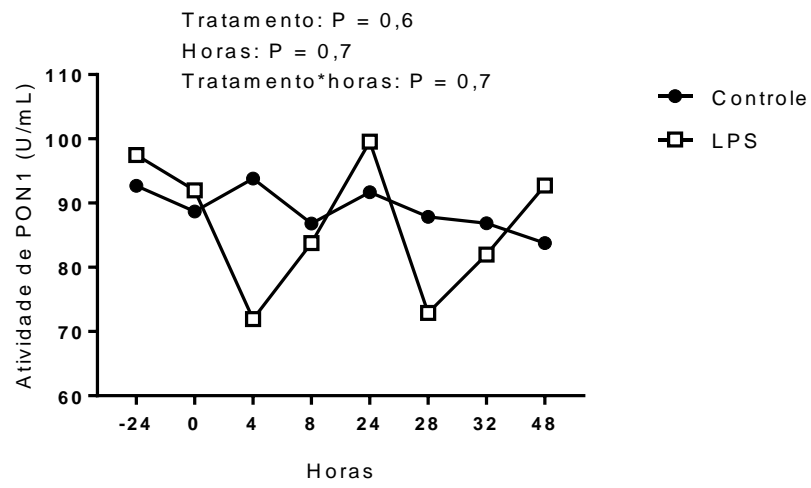


Fig. 9 Atividade sérica de PON1 em novilhas desafiadas ou não com LPS às 0 e 24 h.

4 Considerações Finais

Além da toxicidade ao animal, a poluição do meio ambiente poderá impedir a continuidade do uso de pedilúvios futuramente, o que geraria elevados custos de produção em virtude das doenças decorrente do não uso. Sendo assim a utilização de modelos inovadores como o REC-System serão uma nova realidade em fazendas leiteiras.

A implantação de práticas de execução do ECC e EL como rotina nas propriedades rurais tem o potencial de possibilitar a visualização da oscilação do status metabólico do rebanho e suas possíveis causas/consequências ao sistema locomotor de bovinos ao longo do tempo, podendo assim tomar medidas de controle e profilaxia. Além disso a execução desses exames no período seco se mostrou tão fundamental quanto durante a lactação.

Exames hemogasométricos parecem ser uma forma eficiente de detectar repercussões metabólicas de vacas claudicantes oriundas de acidose ruminal.

O LPS não gerou alterações a nível de tecido laminar podal compatíveis com laminite. Sendo assim, torna-se necessário a realização de mais estudos que permitam melhorar a compreensão da relação de acidose ruminal e laminite. O melhor entendimento das rotas que fazem com que uma acidose ruminal leve a uma laminite são de vital importância para que seja compreendida a patogenia desta enfermidade podal.

Referências

ALGERS, B.; BLOKHUIS, H.J.; BOTNER, A.; BROOM, D.M.; COSTA, P.; DOMINGO, M.; WIERUP, M. Scientific opinion on the overall effects of farming systems on dairy cow. **The EFSA Journal**, n.1143, p.1–38, 2009.

AMETAJ, B.N.; ZEBELI, Q.; IQBAL, S. Nutrition, microbiota and endotoxin-related disease in dairy cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.433-444, 2010.

ANDERSEN, P.H. Bovine endotoxemia—some aspects of relevance to production diseases. A review. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.44, n.1, S141, 2003.

BAILEY, S.R.; MARR, C.M.; ELLIOTT, J. Current research and theories on the pathogenesis of acute laminitis in the horse. **Veterinary Journal**, v.167, n.2, p.129-142, 2004.

BARBOSA, A.; PIZONI, C.; LUZ, G.; CORREA, M.; RABASSA, V.; DEL PINO, F.; MORAES, F.; MARTINS, C. Relação entre escore de condição corporal e escore de locomoção em vacas leiteiras submetidas a manejo semiextensivo de alimentação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.70, n.4, p.1129-1134, 2018.

BARBOSA, A.A.; FERREIRA, C.M.; CORRÊA, M.N.; SCHWEGLER, E.; RAIMONDO, R.F.S.; DEL PINO, F.A.B. Lesões associadas à laminite subclínica e exame radiográfico digital em vacas da raça Holandês no período transicional. **Ciência Animal Brasileira**, v.17, n.4, p.557-563, 2016.

BARBOSA, A.A.; LUZ, G.B.; RABASSA, V.R.; CORRÊA, M.N.; MARTINS, C.F.; DEL PINO, F.A.B. Concentration of minerals in the hoof horny capsule of healthy and lame dairy cows. **Semina: Ciências Agrárias**, v.37, p.1423-1430, 2016.

BEYAERT, R.; FIERS, W. Tumor necrosis factor and lymphotoxin. In: **Cytokines**. California: Elsevier, 1998. p.335-360.

BICALHO, R.C. Lameness in dairy cattle: a debilitating disease or a disease of debilitated cattle? In: WESTERN DAIRY MANAGEMENT CONFERENCE, Reno, 2011. **Anais eletrônicos...** Reno: 2011, disponível em: <<http://wdmc.org/2011/Lameness%20in%20Dairy%20Cattle-%20A%20Debilitating%20Disease%20or%20a%20Disease%20of%20Debilitated%20Cattle%20pg%2073-83.pdf>> Aceso em: 12 dez. 2018.

BICALHO, R.C.; MACHADO, V.S.; CAIXETA, L.S. Lameness in dairy cattle: A debilitating disease or a disease of debilitated cattle? A cross-sectional study of the prevalence of lameness and the thickness of the digital cushion. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.7, p.3175-3184, 2009.

BICALHO, R.C.; VOKEY, F; ERB, H.N.; GUARD, C.L. Visual locomotion scoring in the first seventy days in milk: Impact on pregnancy and survival. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.10, p.4586-4591, 2007.

BISTNER, S.I.; FORD, R.B.; RAFFE, M.R.; DE OLIVEIRA, P.M.A. **Manual de procedimentos veterinários & tratamento emergencial**. São Paulo: Roca, 2002. 934p.

BLOWEY, R.W. Claudicação. In: **Medicina bovina: doenças e criação de bovinos**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2008. p.362-384.

BREAZILE, J.E. Physiologic basis and consequences of distress in animals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.191, n.10, p.1212-1217, 1987.

BROWNE, R.W.; KOURY, S.T.; MARION, S.; WILDING, G.; MUTI, P.; TREVISAN, M. Accuracy and biological variation of human serum paraoxonase 1 activity and polymorphism (Q192R) by kinetic enzyme assay. **Clinical Chemistry**, v.53, n.2, p.310-317, 2007.

BRUIJNIS, M.R.; HOGEVEEN, H.; STASSEN, E.N. Assessing economic consequences of foot disorders in dairy cattle using a dynamic stochastic simulation model. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.6, p.2419-2432, 2009.

BUCKLEY, F.; O'SULLIVAN, K.; MEE, J.F. Relationships among milk yield, body condition, cow weight, and reproduction in spring-calved Holstein-Friesians. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.7, p.2308-2319, 2003.

CAMPOS, F.T.; RINCON, J.A.A.; ACOSTA, D.A.V.; SILVEIRA, P.A.S.; PRADIEÉ, J.; CORREA, M.N.; GASPERIN, B.G.; PFEIFER, L.F.M.; BARROS, C.C.; PEGORARO,

L.M.C.; SCHNEIDER, A. The acute effect of intravenous lipopolysaccharide injection on serum and intrafollicular HDL components and gene expression in granulosa cells of the bovine dominant follicle. **Theriogenology**, v.89, p.244-249, 2017.

CASAGRANDE, F.P. **Perfil metabólico e mineral de vacas no período peri-parto: qualidade e conformação dos cascos**. 2013. 125f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

CECEN, G.H.; SALCI, D.S.; INTAS, N. Celimli, N.; Caliskan, G.U. Ultrasonographic and macroscopic comparison of the thickness of the capsule, corium, and soft tissues in bovine claws: An in vitro study. **Journal Veterinary Science**, v.16, p.107-112, 2015.

CERQUEIRA, N.F.; YOSHIDA, W.B. Óxido nítrico: revisão. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.17, n.6, p.417-423, 2002.

CHAPINAL, N.; CARSON, M.E.; LEBLANC, S.J.; LESLIE, K.E.; GODDEN, S.; CAPEL, M.; SANTOS, J.E.; OVERTON, M.W.; DUFFIELD, T.F. The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v.95, n.3, p.1301-1309, 2012.

COOK, N.B. Prevalence of lameness among dairy cattle in Wisconsin as a function of housing type and stall surface. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.223, n.9, p.1324-1328, 2003.

CRUZ-MACHADO, S.S. Lipopolissacarídeo (LPS): ativador e regulador da transcrição gênica via fator de transcrição NFkB. **Revista da Biologia**, v.4, p.40-43, 2018.

DANSCHER, A.M.; TØLBØLL, T.H.; WATTLE, O. Biomechanics and histology of bovine claw suspensory tissue in early acute laminitis. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.1, p.53-62, 2010.

DIEZ-FRAILE, A.; MEYER, E.; DUCHATEAU, L.; BURVENICH, C. L-selectin and β 2-integrin expression on circulating bovine polymorphonuclear leukocytes during endotoxin mastitis. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.7, p.2334-2342, 2003.

DONG, G.; LIU, S.; WU, Y.; LEI, C.; ZHOU, J.; ZHANG, S. Diet-induced bacterial immunogens in the gastrointestinal tract of dairy cows: impacts on immunity and metabolism. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.53, n.48, p.1-7, 2011.

DRACKLEY, J.K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **Journal of Dairy Science.**, v.82, n.11, p.2259-2273, 1999.

ENEMARK, J.M. The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA): A review. **The Veterinary Journal**, v.176, n.1, p.32-43, 2008.

ENTING, H.; KOOIJ, D.; DIJKHUIZEN, A.A.; HUIRNE, R.B.M.; NOORDHUIZEN-STASSEN, E.N. Economic losses due to clinical lameness in dairy cattle. **Livestock Production Science**, v.49, n.3, p. 259-267, 1997.

FALEIROS, R.; NUOVO, G.; BELKNAP, J. Calprotectin in myeloid and epithelial cells of laminae from horses with black walnut extract-induced laminitis. **Journal of veterinary internal medicine**, v.23, n.1, p.174-181, 2009.

FALEIROS, R.; NUOVO, G.; FLECHTNER, A.; BELKNAP, J. Presence of mononuclear cells in normal and affected laminae from the black walnut extract model of laminitis. **Equine veterinary journal**, v.43, n.1, p.45-53, 2011.

FEITOSA, F.L.F. **Semiologia Veterinária: A Arte Do Diagnóstico**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2008. 754p.

FERREIRA, P.M.; CARVALHO, A.U.; FILHO, E.J.F. FERREIRA, M.G.; FERREIRA, R.G. Afecções do sistema locomotor de bovinos. In: II SIMPÓSIO MINEIRO DE BUIATRIA, 2005, Belo Horizonte. **Anais eletrônicos...** Belo Horizonte: 2005. Disponível em: < <http://www.ivis.org/proceedings/abmg/2005/pdf04.pdf?LA=7>> Aceso em: 12 dez. 2018.

FERREIRA, P.M. **Enfermidades podais em rebanho leiteiro confinado**. 2003. 79f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.

FLOR, E.; TADICH, N. Claudicaciones en vacas de rebaños lecheros grandes y pequeños del sur de Chile. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.40, n.2, p.125-134, 2008.

FOLNOŽIĆ, I.; TURK, R.; ĐURIČIĆ, D.; VINCE, S.; PLEADIN, J.; FLEGAR-MEŠTRIĆ, Z.; VALPOTIĆ, H.; DOBRANIĆ, T.; GRAČNER, D.; SAMARDŽIJA, M. Influence of body condition on serum metabolic indicators of lipid mobilization and oxidative stress in dairy cows during the transition period. **Reproduction in domestic animals**, v.50, n.6, p.910-917, 2015.

GANDRA, J.R. **Fontes De ácidos graxos 3 e 6 em dietas de vacas leiteiras no período de transição e início de lactação**. 2012. 170f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

GERROS, T.C.; SEMRAD, S.D.; PROCTOR, R.A. Alterations in clinical, hematological and metabolic variables in bovine neonatal endotoxemia. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.59, n.1, p.34, 1995.

GREEN, L.; HEDGES, V.; SCHUKKEN, Y.; BLOWEY, R.; PACKINGTON, A. The impact of clinical lameness on the milk yield of dairy cows. **Journal of dairy science**, v.85, n.9, p.2250-2256, 2002.

GREEN, L.E.; HUXLEY, J.N.; BANKS, C.; GREEN, M.J. Temporal associations between low body condition, lameness and milk yield in a UK dairy herd. **Preventive Veterinary Medicine**, v.113, n.1, p.63-71, 2014.

GREENOUGH, P.R. **Bovine laminitis and lameness: a hands on approach**. St. Louis: Elsevier Health Sciences, 2007. 311p.

HENDRY, K.A.K.; MACCALLUM, A.J.; KNIGHT, C.H.; WILDE, C.J. Laminitis in the dairy cow: a cell biological approach. **Journal of Dairy Research**, v.64, n.3, p.475-486, 1997.

HOEDEMAKER, M.; PRANGE, D.; GUNDELACH, Y. Body condition change ante- and postpartum, health and reproductive performance in German Holstein cows. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.44, n.2, p.167–173, 2009.

IQBAL, Z.M.; AKBAR, H.; HOSSEINI, A.; FORTEGUERRI, E.B.R.; OSORIO, J.S.; LOOR, J. Digital cushion fatty acid composition and lipid metabolism gene network expression in Holstein dairy cows fed a high-energy diet. **PLoS One**, v.11, e0159536, 2016.

KANECO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. San Diego: Academic Press, 2008. 928p.

KNOTT, L.; TARLTON, J.F.; CRAFT, H.; WEBSTER, A.J. Effects of housing, parturition and diet change on the biochemistry and biomechanics of the support structures of the hoof of dairy heifers. **The Veterinary Journal**, v.174, n.2, p.277–287, 2007.

LACETERA, N.; SCALIA, D.; BERNABUCCI, U.; RONCHI, B.; PIRAZZI, D.; NARDONE, A.; Lymphocyte functions in overconditioned cows around parturition. **Journal of Dairy Science**, v.88, n.6, p.2010-2016, 2005.

LARSON, B.; OBEL, N.; ABERG, B. On biochemistry keratinization in the matrix of the horse's foot in the normal conditions and in laminitis. **Nordisk veterinærmedicin**, v.8, p.761-766, 1956.

LEAN, I.J.; VAN SAUN, R.; DE GARIS, P. Energy and protein nutrition management of transition dairy cows. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v.29, n.2, p.337-366, 2013.

LEAN, I.J.; WESTWOOD, C.T.; GOLDBERGER, H.M.; VERMUNT, J.J. Impact of nutrition on lameness and claw health in cattle. **Livestock Science**, v.156, n.1-3, p.71-87, 2013.

LEBLANC, S.J.; LISSEMORE, K.D.; KELTON, D.F.; DUFFIELD, T.F.; LESLIE, K.E. Major advances in disease prevention in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.4, p.1267-1279, 2006.

LINFORD, R.L. Laminitis (Aguamento). In: **Medicina interna de grandes animais**. 3.ed. São Paulo: Manole, 2006. p.116-1124.

LUNA, L.G. **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3.ed. New York: McGraw Hill Book Company, 1968. 224p.

MARTINEZ, J.C. Guia rápido para nutrição de vacas leiteiras, Milkpoint. 2010, Disponível em: <<http://www.portaleducacao.com.br/veterinaria/artigos/18023/curva-de-lactacaoem-vacasleiteiras>> Acesso em: 10 jul. 2018.

MARTINS, C.C.; MELO, C.M. Relation between claudication, rest behavior, body condition and milk production in a dairy cattle. In: XXVII WORLD BUATRICS CONGRESS, 2012, Lisboa, **Anais...** Lisboa, Portugal, 2012.

MENDES, H.M.; CASAGRANDE, F.P.; LIMA, I.R.; SOUZA, C.H.; GONTIJO, L.D.; ALVES, G.E.; VASCONCELOS, A.C.; FALEIROS, R.R. Histopathology of dairy cows' hooves with signs of naturally acquired laminitis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.5, p.613-619, 2013.

MOLINA, L.R.; CARVALHO, A.U.; FACURY FILHO, E.J.; Ferreira, P.M.; Ferreira, V.C.P. Prevalência e classificação das afecções podais em vacas lactantes na bacia leiteira de Belo Horizonte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.51, n.2, p.149-152, 1999.

MÜLLING, C.; BRAGULLA, H.; REESE, S. How structures in bovine hoof epidermis are influenced by nutritional factors. **Anatomia, Histologia, Embryologia**, v.28, n.2, p.103-108, 1999.

MÜLLING, C.K.W.; GREEN, L.; BARKER, Z.; SCAIFE, J.; AMORY, J.; SPEIJERS, M. Risk factors associated with foot lameness in dairy cattle and a suggested approach for lameness reduction. In: XXIV WORLD BUIATRICALS CONGRESS, 2006, Nice. **Anais eletrônicos...** Nice: 2006. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wbc/wbc2006/mulling2.pdf?LA> Acesso em:10 nov. 2018.

NAGARAJA, T.G.; LECHTENBERG, K.F. Liver Abscesses in feedlot cattle. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v.23, n.2, p.351-369, 2007.

NEWSOME, R.F.; GREEN, M.J.; BELL, N.J.; BOLLARD, N.J.; MASON, C.S.; WHAY, H.R.; HUXLEY, J.N. A prospective cohort study of digital cushion and corium thickness. Part 1: Associations with body condition, lesion incidence, and proximity to calving. **Journal of Dairy Science**, v.100, n.6, p.4745-4758, 2017.

NICOLETTI, J.L. **Manual de podologia bovina**. São paulo: Manole, 2004. 126p.

NILSSON, S.A. Clinical, morphological, and experimental studies of laminitis in cattle. **Acta veterinaria scandinavica**, v.4, p188-222, 1963.

NOCEK, J.E. Bovine acidosis: implications on laminitis. **Journal of Dairy of Science**, v.80, n.5, p.1005-28, 1997.

NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL) Nutrient requirements of Dairy Cattle. Washington: Academy Press, 2001. 381p.

NRC. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. Washington, DC: Academy Press, 1996. 494p.

OETZEL G.R.; GOOF J.P. Milk fever (parturient paresis) in cows, ewes, and doe goats. In: ANDERSEN, D.E.; RINGS, M. **Current Veterinary Therapy Food Animal Practice**. 5.ed. St. Louis: Elsevier Health Sciences, 2008. P.130-134.

PEÑAILILLO, A.; SEPULVEDA, M.; PALMA, C.; ESPINOZA, A.; AGUILERA, M.; BURGOS, R.; CARRETTA, D.; ISLAS, A.; PÉREZ, R. Haematological and blood biochemical changes induced by the administration of low doses of Escherichia coli lipopolysaccharide in rabbits. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.48, n.3, p.315-320, 2016.

PERIASAMY, S.; PRAVEENA, P.E.; SINGH, N. Effects of Pasteurella multocida lipopolysaccharides on bovine leukocytes. **Microbial pathogenesis**, v.119, p.225-232, 2018.

PHILLIPS, C.J. **Principles of Cattle Production**. 2.ed. Cambridge: Cambridge University Press: 2010. 233p.

QUINN, P.; MARKEY, B.; CARTER, M.; DONNELLY, W.; LEONARD, F. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. São Paulo: Artmed, 2005. 512p.
RÄBER, M.; SCHEEDER, M.R.L.; OSSENT, P.; LISCHER, C.H. J.; GEYER, H. The content and composition of lipids in the digital cushion of the bovine claw with respect to age and location – A preliminary report. **Veterinary Journal**, v.172, p.173-1177, 2006.

Rama, J.M.R. Risk factors of lameness in dairy cattle and its interaction with the grazing ecosystem of milk production. In: PROCEEDINGS OF THE XIV INTERNATIONAL MEETING LAMENESS IN RUMINANTS, 2006, Colonia, **Anais...** Colonia, Uruguay, 2006

RANDALL, L.V.; GREEN, M.J.; CHAGUNDA, M.G.; MASON, C.; ARCHER, S.C.; GREEN, L.E.; HUXLEY J.N. Low body condition predisposes cattle to lameness: An 8-year study of one dairy herd. **Journal of Dairy Science**, v.98, n.6, p.3766–3777, 2015.

RENNÓ, F.P.; BARLETTA, R.V.; JUNIOR, J.E.F. Escore de condição corporal e sua relação com a produtividade, saúde e bem estar de vacas em lactação. In: III SIMPÓSIO NACIONAL DE BOVINOCULTURA LEITEIRA E I SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 2011, Viçosa. **Anais...** Viçosa, 2011.

ROBINSON, P.H. Locomotion Scoring Dairy Cows. Cooperative Extension, University of California, 2001. Disponível em:

<https://animalscience.ucdavis.edu/sites/g/files/dgvnsk446/files/inline-files/web201312_locomotion_scoring_your_cows.pdf> Acesso em: 10 jul. 2018.

SHEARER, J.K. The transition period and lameness due to claw disorders in dairy cows. In: PROCEEDINGS OF THE NORTH AMERICAN VETERINARY CONFERENCE, Orlando, 2006, **Anais...** Orlando, Florida, 2006.

SHÖPKE, K.; WEIDLING, S.; PIJL, R.; SWALVE, H.H. Relationships between bovine hoof disorders, body conditions traits, and test-day yields. **Journal of Dairy Science**, v.96, n.1, p.679- 689, 2013.

SILVA, L.A.F.; SILVA, L.M.; ROMANI, A.F.; RABELO, R.E.; FIORAVANTI, M.C.S.; SOUZA, T.M.; SILVA, C.A. Características clínicas e epidemiológicas das enfermidades podais em vacas lactantes do município de Orizona, GO. **Ciência Animal Brasileira**, v.2, n.2, p.119-126, 2001.

SILVEIRA, J.A.S.; SILVA, N.S.; ALBERNAZ, T.T.; BOMJARDIM, H.; ANDRADE, S.; OLIVEIRA, C.; BARBOSA, J. Afecções podais em bovinos associado à sodomia. **Veterinária e Zootecnia**, v.18, n4, p.294-297, 2011.

SILVEIRA, P.A.; SCHWEGLER, E.; MONTAGNER, P.; KRAUSE, A.R.; ACOSTA, D.A.; HALFEN, J.; GARLET, T.; BARROS, C.C.; CORREA, M.N.; SCHNEIDER, A. Characterization of single nucleotide polymorphisms in the promoter region of the bovine paraoxonase 1 (PON1) gene affecting serum enzyme activity in dairy cows. **The Veterinary Journal**, v.205, n.1, p.101-103, 2015.

SINGH, S.; WARD, W.; MURRAY, R. Technique of hoof biopsy in cattle. **Veterinary Record**, v.133, n.8, p.190-191, 1993.

SIQUEIRA, B.G.; SCHMIDT, A. Choque circulatório: definição, classificação, diagnóstico e tratamento. **Medicina (Riberão Preto)**, v.36, n.2-4, p.145-150, 2003.
SMITH, G.W. Supportive therapy of the toxic cow. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v.21, n.3, p.595-614, 2005.

SOUZA, R.C.; FERREIRA, P.M.; MOLINA, L.R.; CARVALHO, A.U.; FACURY FILHO, E.J. Perdas econômicas ocasionadas pelas enfermidades podais em vacas leiteiras confinadas em sistema freestall. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.6, p.982-987, 2006.

TARLTON, J.; HOLAH, D.; EVANS, K.; JONES, S.; PEARSON, G.; WEBSTER, A. Biomechanical and histopathological changes in the support structures of bovine

hooves around the time of first calving. **The Veterinary Journal**, v.163, n.2, p.196-204, 2002.

THOEFNER, M.; WATTLE, O.; POLLITT, C.; FRENCH, K.; NIELSEN, S.S. Histopathology of oligofructose-induced acute laminitis in heifers. **Journal of Dairy Science**, v.88, n.8, p.2774-2782, 2005.

THOEFNER, M.B.; POLLITT, C.C.; VAN EPS, A.W.; MILINOVICH, G.J.; TROTT, D.J.; WATTLE, O. Acute bovine laminitis: a new induction model using alimentary oligofructose overload. **Journal of Dairy Science**, v.8, n.9, p.2932-2940, 2004.

VERMUNT, J.J. One step closer to unravelling the pathophysiology of claw horn disruption: for the sake of the cows' welfare. **Veterinary journal**, v.174, n.2, p.219-220, 2007.

VISSER, M.; POLLITT, C. The timeline of lamellar basement membrane changes during equine laminitis development. **Equine veterinary journal**, v.43, n.4, p.471-477, 2011.

WALDRON, M.R.; NISHIDA, T.; NONNECKE, B.J.; OVERTON, T.R. Effect of lipopolysaccharide on indices of peripheral and hepatic metabolism in lactating cows. **Journal of dairy science**, v.86, n.11, p.3447-3459, 2003.

WARNICK, L.D.; JANSSEN, D.; GUARD, C.L.; GRÖHN, Y.T. The effect of lameness on 344 milk production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1988-1997, 2001.

WILDMAN, E.E.; JONES, G.M.; WAGNER, P.E.; BOMAN, R.L. A dairy body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v.65, n.3, p.495-501, 1982.

Anexos

Anexo I - Documento da Comissão de Ética e Experimentação Animal referente ao artigo 2



Pelotas, 14 de março de 2018

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada **“Efeitos da administração intramuscular de Butafosfan e Cianocobalamina no pós-parto de vacas leiteiras sobre a ocorrência de cetose subclínica e desempenho produtivo e reprodutivo”**, processo nº 23110.009378/2016-01, sob a responsabilidade de **Márcio Nunes Corrêa** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de 12/03/2018.

| Finalidade | (X) Pesquisa () Ensino |
|-------------------------|--|
| Vigência da autorização | 16/03/2018 a 01/01/2019 |
| Espécie/linhagem/raça | Bovina/Holandês |
| Nº de animais | 175 |
| Idade | 4 anos |
| Sexo | Fêmeas |
| Origem | Fazenda no município do Capão do Leão/RS |

Código para cadastro nº **CEEA 9378-2016**

**M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello
Felix**

Presidente da CEEA

**Anexo II - Documento da Comissão de Ética e Experimentação Animal
referente ao artigo 3**



Pelotas, 08 de abril de 2011

De: Prof. Dr. Orlando Antonio Lucca Filho

Presidente da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA)

Para: Prof. Marcio Nunes Correa

Faculdade de Veterinária

Senhor(a) Professor(a):

A CEEA analisou o projeto intitulado: **"Resistência a Insulina em ruminantes e sua relação com hipomagnesemia e hipocalcemia"**, processo nº 23110.002563/2011-51 sendo de parecer **FAVORÁVEL** a sua execução considerando ser o assunto pertinente e a metodologia compatível com os princípios éticos em experimentação animal e com os objetivos propostos.

Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.

Salientamos também a necessidade deste Projeto ser cadastrado junto ao Departamento de Pesquisa para posterior registro no COCEPE (Código para Cadastro nº CEEA 2563).

Sendo o que tínhamos para o momento, subscrevemo-nos.

Atenciosamente,


Prof. Dr. Orlando Antonio Lucca Filho

Presidente da CEEA

Ciente em:

08/04/2011

Assinatura do Professor Coordenador:



**Anexo III - Documento da Comissão de Ética e Experimentação Animal
referente ao artigo 4**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

PARECER Nº **26/2018/CEEA/REITORIA**
PROCESSO Nº 23110.009364/2018-41
INTERESSADO: **CASSIO CASSAL BRAUNER**

Pelotas, 12 de abril de 2018

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada “**Utilização de um composto a base de butafosfan e cianocobalamina: atuação no sistema reprodutivo**”, processo nº 23110.009364/2018-42, sob a responsabilidade de **Cassio Cassal Brauner** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de 09/04/2018.

| Finalidade | (X) Pesquisa () Ensino |
|-------------------------|---|
| Vigência da autorização | 01/05/2018 a 21/12/2022 |
| Espécie/linhagem/raça | Bovina/Angus, Hereford e Holandês |
| Nº de animais | 72 |
| Idade | 14-16 meses |
| Sexo | Fêmeas |
| Origem | Fazendas comerciais dos municípios de São Lourenço do Sul e Rio Grande/RS |

Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.

Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao *COBALTO* para posterior registro no *COCEPE* (código para cadastro nº **CEEA 9364-2018**).

M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix

Presidente da CEEA



Documento assinado eletronicamente por **ANELIZE DE OLIVEIRA CAMPELLO FELIX, Médico Veterinário**, em 12/04/2018, às 14:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0109124** e o código CRC **4A538880**.

Referência: Processo nº 23110.009364/2018-41