

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ACIDOSE RUMINAL SUBAGUDA EM OVINOS SANTA INÊS:
ESTUDO CLÍNICO, LABORATORIAL E AVALIAÇÃO DA
LAMINITE POR TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA E
RADIOLOGIA DIGITAL**

Annita Moraes Girardi

Médica Veterinária

2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ACIDOSE RUMINAL SUBAGUDA EM OVINOS SANTA INÊS:
ESTUDO CLÍNICO, LABORATORIAL E AVALIAÇÃO DA
LAMINITE POR TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA E
RADIOLOGIA DIGITAL**

Annita Moraes Girardi

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Marques

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária, Área: Clínica Médica Veterinária

2016

Girardi, Annita Moraes
G521a Acidose ruminal subaguda em ovinos Santa Inês: estudo clínico, laboratorial e avaliação da laminite por termografia infravermelha e radiologia digital / Annita Moraes Girardi. – – Jaboticabal, 2016
xi, 136 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientador: Luiz Carlos Marques
Banca examinadora: Thais Helena Constantino Patelli, Lúcia Helena Rodrigues, Daniela Gomes da Silva, Luís Guilherme de Oliveira
Bibliografia

1. Acidose ruminal. 2. Laminite. 3. Ovinos. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616-073:636.3

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

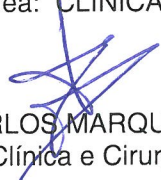
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: ACIDOSE RUMINAL SUBAGUDA EM OVINOS SANTA INÊS: ESTUDO CLÍNICO, LABORATORIAL E AVALIAÇÃO DA LAMINITE POR TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA E RADIOLOGIA DIGITAL

AUTORA: ANNITA MORAIS GIRARDI

ORIENTADOR: Prof. Dr. LUIZ CARLOS MARQUES

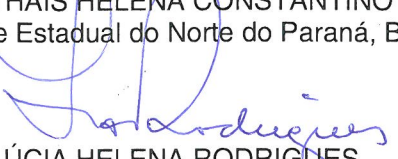
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM MEDICINA VETERINÁRIA, Área: CLÍNICA MÉDICA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. LUIZ CARLOS MARQUES

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Profa. Dra. THAIS HELENA CONSTANTINO PATELLI

Universidade Estadual do Norte do Paraná, Bandeirantes/PR


Profa. Dra. LÚCIA HELENA RODRIGUES

Médica Veterinária Autônoma, Sertãozinho/SP


Profa. Dra. DANIELA GOMES DA SILVA

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. LUÍS GUILHERME DE OLIVEIRA

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Data da realização: 26 de janeiro de 2016.

Trabalho realizado com bolsa de estudos (Processo nº 2012/09111-7) e auxílio à pesquisa (Processo nº 2012/09220-0) concedidos pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Annita Moraes Girardi – nascida em Ituverava, São Paulo, em 15 de maio de 1987. Graduiu-se em Medicina Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Jaboticabal, em janeiro de 2010. Fez Iniciação Científica na área de Morfologia Animal, sob orientação da Profa. Dra. Maria Rita Pacheco, no ano de 2007, sendo bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Processo nº 05/60845-8). Ganhadora do “Prêmio Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Câmpus de Jaboticabal”, por ter obtido a maior média entre as disciplinas ministradas durante o Curso de Graduação em Medicina Veterinária e do “Prêmio Mário D’apice”, outorgado pelo Conselho Regional de Medicina Veterinária de São Paulo, ao formando em Medicina Veterinária melhor classificado no conjunto de disciplinas profissionalizantes, ambos em 8 de janeiro de 2010. Recebeu, em fevereiro de 2012, sob orientação do Prof. Dr. Luiz Carlos Marques, o título de Mestre em Medicina Veterinária, na área de Clínica Médica, pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Jaboticabal, novamente como bolsista FAPESP (Processo nº 2010/02916-4). Em março de 2012, iniciou o Doutorado, também sob orientação do Prof. Dr. Luiz Carlos Marques, na mesma instituição, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Clínica Médica, com bolsa FAPESP (Processo nº 2012/09111-7).

*“O saber a gente aprende com os mestres e os livros.
A sabedoria, se aprende é com a vida e com os humildes.”*

Cora Coralina

*Dedico esta tese aos meus pais,
José Edson Girardi e Norma Aparecida Moraes Girardi,
pelo amor e apoio incondicionais.
Amo vocês!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a Nossa Senhora, por me ajudarem em mais este trabalho, mantendo-me forte e me protegendo perante os desafios enfrentados;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pela ajuda financeira para o desenvolvimento desta tese e pela bolsa de estudos;

Aos meus pais, José Edson Girardi e Norma Aparecida Morais Girardi, sem os quais não daria nenhum passo na minha carreira, pela minha educação, pela proteção, amor e paciência, além dos bons exemplos de trabalho e honestidade que me inspiram em tudo o que faço;

Ao meu orientador, Prof. Luiz Carlos Marques, pela amizade, aconselhamento, apoio e pela confiança depositada, o qual espero jamais decepcionar;

Ao meu irmão e colega de trabalho, Rene Morais Girardi, pelo amor, amizade e companheirismo que temos desde sempre;

Ao meu namorado, Paulo Bonini Boneti, pelo apoio, amor e paciência durante todo meu doutorado;

À minha colega de pesquisa e, agora, grande amiga, Amanda Festa Sabes, pelo auxílio essencial para o desenvolvimento deste projeto;

Aos técnicos do Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV - UNESP, Cláudia Aparecida da Silva Nogueira, Paulo César da Silva e Renata Lemos Nagib Jorge, pela infinita paciência, apoio e carinho durante anos de convivência, tornando a rotina muito mais leve e alegre;

À minha amiga de república, Viviane Carla Fortulan, pelos inúmeros momentos felizes e por dividir comigo as responsabilidades da administração do nosso lar;

Aos demais amigos, minha família em Jaboticabal, em especial à Mayara Corrêa Peixoto, pela companhia nos momentos bons e ruins nos últimos dez anos;

Ao Prof. Dr. João Ademir de Oliveira, pela ajuda com a análise estatística;

Ao Prof. Dr. José Jurandir Fagliari, pelo auxílio na interpretação dos resultados obtidos na eletroforese de proteína séricas;

Ao Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi, pela ajuda na formulação da razão utilizada no experimento;

Aos membros das bancas dos Exames de Qualificação e Defesa de Tese, Dra. Daniela Gomes da Silva, Profa. Dra. Annelise Carla Camplesi, Prof. Dr. Luís Guilherme de Oliveira, Prof. Dr. André Escobar, Dra. Lúcia Helena Rodrigues e Profa. Dra. Thais Helena Constantino Patelli, pelas correções pertinentes e sugestões úteis para o aprimoramento deste trabalho;

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, pela formação de qualidade que me proporcionou e pela oportunidade de continuação de meus estudos na Pós-Graduação;

Às ovelhas, essenciais para a execução deste experimento. Espero que este estudo honre os procedimentos pelos quais vocês tiveram que passar.

A todos, muito obrigada!

“A gratidão é o único tesouro dos humildes.”

William Shakespeare

SUMÁRIO

Página

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	iv
RESUMO.....	v
ABSTRACT	vi
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	ix
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1. Introdução.....	1
2. Revisão de literatura.....	2
2.1 Ovinocultura de corte no Brasil.....	2
2.2 Acidose ruminal subaguda (ARS).....	2
2.3 Etiologia da acidose ruminal subaguda	3
2.4 Características ruminais na acidose ruminal subaguda.....	5
2.5 Sinais clínicos da acidose ruminal subaguda	6
2.6 Equilíbrio ácido-base na acidose ruminal subaguda.....	7
2.7 Resposta de fase aguda na acidose ruminal subaguda	8
2.8 Laminite	8
2.9 Termografia infravermelha.....	10
2.10 Radiografia digital	12
3. Referências.....	12
CAPÍTULO 2 - RUMENOSTOMIA COM COLOCAÇÃO DE CÂNULA FLEXÍVEL PERMANENTE EM OVINOS SANTA INÊS EM ÚNICO TEMPO CIRÚRGICO	21
RESUMO	21
1. Introdução.....	21
2. Material e métodos	22
3. Resultados e discussão	25
4. Conclusão.....	27
5. Referências.....	27
CAPÍTULO 3 - ASPECTOS CLÍNICOS, CARACTERÍSTICAS DO FLUIDO RUMINAL, ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS SÉRICAS E NECROSCOPIA DE OVELHAS SANTA INÊS COM ACIDOSE RUMINAL SUBAGUDA INDUZIDA EXPERIMENTALMENTE	29
RESUMO	29
1. Introdução.....	30

	Página
2. Material e métodos	32
2.1 Período de adaptação.....	32
2.2 Período experimental.....	33
2.3 Avaliação física dos animais.....	34
2.4 Análise do fluido ruminal.....	34
2.5 Hemograma	35
2.6 Bioquímica sérica.....	36
2.7 Análise estatística	38
2.8 Necropsia	38
3. Resultados.....	38
3.1 Avaliação física dos animais.....	38
3.2 Análise do fluido ruminal.....	42
3.3 Hemograma	45
3.4 Bioquímica sérica.....	49
3.5 Necropsia	57
4. Discussão	58
4.1 Avaliação física dos animais.....	59
4.2 Análise do fluido ruminal.....	61
4.3 Hemograma	61
4.4 Bioquímica sérica.....	63
4.5 Necropsia	67
5. Conclusões	68
6. Referências.....	68
CAPÍTULO 4 - ACID-BASE BALANCE IN SANTA INÊS SHEEP (<i>OVIS ARIES</i>) UNDER LONG-TERM INGESTION OF A HIGH CONCENTRATE DIET	74
Acknowledgments.....	74
Ethical approval	74
Abstract.....	75
Introduction	75
Materials and methods	77
Results.....	78
Discussion	79
Conflict of interest	85
References	85

CAPÍTULO 5 - ACUTE-PHASE PROTEIN AND OTHER SERUM PROTEIN FRACTIONS IN SANTA INÊS SHEEP (<i>OVIS ARIES</i>) ON A LONG-TERM, HIGH-CONCENTRATE DIET	92
Abstract.....	93
Background.....	94
Methods	96
Results.....	97
Discussion	98
Conclusions	102
Abbreviations	102
Competing interests.....	102
Authors' contributions	102
Acknowledgements.....	103
References	103
CAPÍTULO 6 – TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA E RADIOLOGIA DIGITAL NA DETECÇÃO DE LAMINITE EM OVELHAS SANTA INÊS COM ACIDOSE RUMINAL SUBAGUDA INDUZIDA EXPERIMENTALMENTE	110
RESUMO	110
1. Introdução.....	110
2. Material e métodos	112
2.1 Período experimental.....	112
2.2 Termografia infravermelha.....	114
2.3 Radiologia digital.....	115
3. Resultados.....	116
3.1 Termografia infravermelha.....	116
3.2 Radiologia digital.....	124
4. Discussão	125
4.1 Termografia infravermelha.....	125
4.2 Radiologia digital.....	129
5. Conclusão	130
6. Referências.....	130



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal

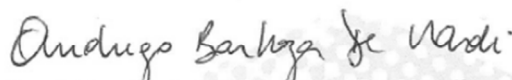


CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 008891/12 do trabalho de pesquisa intitulado **"Estudo da laminite em ovinos com acidose láctica rumenal induzida experimentalmente"**, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Luiz Carlos Marques está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 05 de junho de 2012.

Jaboticabal, 11 de junho de 2012.



Prof. Dr. Andrigo Barboza De Nardi
Coordenador - CEUA

ACIDOSE RUMINAL SUBAGUDA EM OVINOS SANTA INÊS: ESTUDO CLÍNICO, LABORATORIAL E AVALIAÇÃO DA LAMINITE POR TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA E RADIOLOGIA DIGITAL

RESUMO - Este estudo avaliou o uso da termografia infravermelha e do exame radiológico digital como ferramentas de diagnóstico precoce da laminite em ovinos com acidose ruminal subaguda induzida experimentalmente e os efeitos da ingestão prolongada de alta proporção de alimento concentrado sobre as variáveis clínicas e laboratoriais. Foram utilizadas sete ovelhas adultas, com cânulas ruminais permanentes, que não tiveram prévio contato com alimento concentrado. Para a indução da acidose ruminal, incluiu-se ao volumoso, diariamente, 10% de alimento concentrado até atingir 80%, porcentagem mantida até completarem 19 semanas. A observação dos sinais de diarreia deu-se do quarto ao 22º dia e de laminite do quinto ao 24º dia. O fluido ruminal foi predominantemente líquido, de odor ácido e coloração amarelada. Observou-se elevação inicial nos valores da frequência cardíaca, tempo de sedimentação e flotação no fluido ruminal, plaquetas, neutrófilos segmentados, AST, FA, GGT, cálcio ionizado, magnésio, glicose, ureia, triglicérides e bilirrubinas indireta e total. No início do experimento, notou-se redução da frequência respiratória, linfocitopenia, monocitopenia, hipocalcemia, hipofosfatemia, hiponatremia, hipoproteinemia e hipocolesterolemia. A frequência de movimentos ruminais, o tempo de redução do azul de metileno, os níveis sanguíneos de creatinina, bilirrubina direta, lactato e CK foram reduzidos, enquanto as médias de temperatura, peso e escore corporal, eosinófilos, albumina, cloretos e potássio no sangue aumentaram durante todo o período de observação. Redução do pH ruminal ocorreu nos primeiros dias, a despeito de sua manutenção acima de 5,5 durante as 19 semanas de observação. Mecanismos compensatórios respiratórios e metabólicos, principalmente a acidificação da urina, mantiveram o pH sanguíneo dentro dos limites fisiológicos considerados para a espécie ovina. Dezesseis frações proteicas séricas foram separadas pela eletroforese, dentre elas oito proteínas identificadas pelos seus pesos moleculares, de funções desconhecidas. A maioria das proteínas de fase aguda e as imunoglobulinas identificadas no fracionamento eletroforético variaram durante o período de observação, sugerindo reação inflamatória. Nenhuma alteração macroscópica foi detectada à necropsia. A radiologia digital não permitiu a identificação de alterações podais decorrentes de laminite durante o período de avaliação. A termografia infravermelha detectou aumentos na temperatura da parede do casco mesmo sem a manifestação clínica de dor, indicando que esta técnica pode ser uma ferramenta útil para detectar laminite em ovinos numa fase precoce de evolução da doença.

Palavras-chave: bioquímica, hematologia, radiografia, raios X, resposta de fase aguda, SDS-PAGE

SUBACUTE RUMINAL ACIDOSIS IN SHEEP: CLINICAL-LABORATORY STUDY, AND LAMINITIS EVALUATION THROUGH INFRARED TERMOGRAPHY AND DIGITAL RADIOLOGY

ABSTRACT – This study evaluated the use of infrared termography and digital radiologic examination as early diagnostic tools for laminitis in sheep with experimentally induced subacute ruminal acidosis, and the effects of long-term ingestion of a high concentrate diet on clinical and laboratory variables. Seven adult ewes with permanent rumen cannula were used, which did not have any previous ingestion of concentrate feed. For the induction of ruminal acidosis, it was added to the roughage, 10% of concentrate feed until reach 80%, percentage held to the end of the 19-week experiment. Diarrhea signs were observed from fourth to 22nd day and laminitis from fifth to 24th day. Ruminal fluid was predominantly liquid, sour-smelling and yellowish. Initial increases of heart rate, sedimentation and flotation time, platelets, segmented neutrophils, AST, ALP, GGT, ionized calcium, magnesium, glucose, urea, triglycerides, indirect and total bilirubin were noted. At the beginning of the experiment, there was reduction of respiratory rate, lymphocytopenia, monocytopenia, hypocalcemia, hypophosphatemia, hyponatremia, hypoproteinemia, and hypocholesterolemia. Ruminal movement rate, methylene blue reduction time, creatinine, direct bilirubin, lactate and CK blood levels decreased, while body temperature, weight and score, eosinophils, albumin, chloride and potassium blood levels increase throughout the period. Ruminal pH reduction occurred within the first days, despite its maintenance above 5.5 during the 19 weeks. Respiratory and metabolic mechanisms, mainly urine acidification, remained the blood pH between physiologic limits for sheep. Sixteen protein fractions were separated by electrophoresis, among them eight proteins of unknown functions, identified by their molecular weights. Most acute phase proteins and the immunoglobulins identified in the electrophoretic fractionation varied throughout the observation period, suggesting inflammation. No macroscopic alteration was detected at necropsy. The digital radiology did not allow the identification of podal changes resulting from laminitis during the trial period. Infrared thermography has detected increases in the maximum temperature of the hoof wall, even without the clinical manifestation of pain, indicating that this technique can be an useful tool to detect laminitis in sheep at an early stage of the disease.

Keywords: acute phase response, biochemistry, hematology, radiography, SDS-PAGE, X-ray

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO 3 - ASPECTOS CLÍNICOS, CARACTERÍSTICAS DO FLUIDO RUMINAL, ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS SÉRICAS E NECROSCOPIA DE OVELHAS SANTA INÊS COM ACIDOSE RUMINAL SUBAGUDA INDUZIDA EXPERIMENTALMENTE

Tabela 1. Média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação (CV) das variáveis clínicas de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	39
Tabela 2. Média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação (CV) dos tempos de sedimentação e flotação e de redução do azul de metileno (segundos - s) de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	42
Tabela 3. Média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação (CV) das variáveis hematológicas de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	46
Tabela 4. Média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação (CV) da contagem diferencial de leucócitos de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	47
Tabela 5. Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre as variáveis hematológicas de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	49
Tabela 6. Média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação (CV) das atividades de enzimas séricas de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	50
Tabela 7. Média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação (CV) dos eletrólitos sanguíneos de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	51
Tabela 8. Média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação (CV) dos metabólitos sanguíneos de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	52
Tabela 9. Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre as variáveis bioquímicas do sangue de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	58

CAPÍTULO 4 - ACID-BASE BALANCE IN SHEEP (*OVIS ARIES*) UNDER LONG-TERM INGESTION OF A HIGH CONCENTRATE DIET

Table 1. Mean $\pm$ standard deviation and coefficient of variation (CV) of arterial hemogasimetric variables, urine and ruminal pH of Santa Inês sheep (<i>Ovis aries</i>) eating a high concentrate diet for 19 weeks.....	89
Table 2. Pearson's correlation coefficient (r) between arterial hemogasimetric variables, urine and ruminal pH for Santa Inês sheep (<i>Ovis aries</i>) eating a high concentrate diet for 19 weeks.....	90

CAPÍTULO 5 - ACUTE-PHASE PROTEIN AND OTHER SERUM PROTEIN FRACTIONS IN SHEEP (*Ovis aries*) ON A LONG-TERM, HIGH-CONCENTRATE DIET

Table 1. Mean $\pm$ standard deviation and coefficient of variation (CV) of serum protein concentrations, obtained by SDS-PAGE (mg/dL), in Santa Inês sheep (*Ovis aries*) eating a high-concentrate diet for 19 weeks. Plasma fibrinogen – Fb (g/dL) was obtained by heat precipitation; and total serum protein - TP (g/dL) was obtained by biuret method.....106

CAPÍTULO 6 - TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA E RADIOLOGIA DIGITAL NA DETECÇÃO DE LAMINITE EM OVELHAS SANTA INÊS COM ACIDOSE RUMINAL SUBAGUDA INDUZIDA EXPERIMENTALMENTE

Tabela 1. Média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação (CV) das temperaturas da pele, parede e extremidade do casco de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas ($^{\circ}\text{C}$, por termografia infravermelha) e a temperatura ambiente ($^{\circ}\text{C}$, por termômetro digital).....117

Tabela 2. Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre das temperaturas médias, máximas e mínimas da face cranial da pele, parede do casco e extremidade do casco de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas, obtidas por termografia infravermelha e a temperatura ambiente, mensurada por termômetro digital.....121

LISTA DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO 2 - RUMENOSTOMIA COM COLOCAÇÃO DE CÂNULA FLEXÍVEL PERMANENTE EM OVINOS SANTA INÊS EM UM ÚNICO TEMPO CIRÚRGICO	
Figura 1. Rumenostomia com colocação de cânula permanente em ovino.....	24
Figura 2. Ovelhas canuladas, um dia após a rumenostomia permanente.....	25
Figura 3. Comparação entre cânulas flexíveis de silicone sem uso e seis meses após colocação em fístula ruminal permanente de ovinos.....	26
CAPÍTULO 3 - ASPECTOS CLÍNICOS, CARACTERÍSTICAS DO FLUIDO RUMINAL, ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS SÉRICAS E NECROSCOPIA DE OVELHAS SANTA INÊS COM ACIDOSE RUMINAL SUBAGUDA INDUZIDA EXPERIMENTALMENTE	
Figura 1. Ovinos alojados em baia com comedouros, água potável e cama de bagaço de cana; baia com piso de borracha e ovinos durante banho de sol, na parte externa das baias.....	33
Figura 2. Ovino contido em tronco tombador.....	36
Figura 3. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e as variáveis da avaliação clínica de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês, recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	40
Figura 4. Fezes de ovinos com diarreia durante o período de adaptação ao alimento concentrado.....	41
Figura 5. Porcentagem de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês, recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas, com sinais de diarreia e dor podal.....	41
Figura 6. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e as variáveis do fluido ruminal de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	43
Figura 7. Porcentagem de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas, com fluido ruminal viscoso e com odor ácido.....	43
Figura 8. Fluido ruminal de ovinos induzidos à acidose ruminal por ingestão de alta proporção de alimento concentrado: verde oliva, verde amarelado e amarelado.....	44
Figura 9. Porcentagem de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas, com diferentes colorações de fluido ruminal.....	45

Figura 10. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e as variáveis hematológicas de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	48
Figura 11. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e as atividades enzimáticas séricas de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	54
Figura 12. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e os eletrólitos sanguíneos de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	55
Figura 13. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e os metabólitos sanguíneos de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	56
Figura 14. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e os tipos de bilirrubina sérica de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	57
CAPÍTULO 4 - ACID-BASE BALANCE IN SHEEP (<i>OVIS ARIES</i>) UNDER LONG-TERM INGESTION OF A HIGH CONCENTRATE DIET	
Figure 1. Graphs of regression analysis between time and the pH of urine and rumen fluid for Santa Inês sheep (<i>Ovis aries</i>) fed a high concentrate diet for 19 weeks.....	90
Figure 2. Graphs of regression analysis between time and arterial hemogasimetric variables of Santa Inês sheep (<i>Ovis aries</i>) fed a high concentrate diet for 19 weeks.....	91
CAPÍTULO 5 - ACUTE-PHASE PROTEIN AND OTHER SERUM PROTEIN FRACTIONS IN SHEEP (<i>Ovis aries</i>) ON A LONG-TERM, HIGH-CONCENTRATE DIET	
Fig. 1. Results of regression analysis between time, total serum protein and plasma fibrinogen concentrations in Santa Inês sheep (<i>Ovis aries</i>) eating a high concentrate diet for 19 weeks.....	107
Fig. 2. Results of regression analysis between time and serum protein concentrations, obtained by SDS-PAGE technique in Santa Inês sheep (<i>Ovis aries</i>) eating a high concentrate diet for 19 weeks.....	108
Fig. 3. Results of regression analysis between time and unknown serum protein concentrations, obtained by SDS-PAGE technique in Santa Inês sheep (<i>Ovis aries</i>) eating a high concentrate diet for 19 weeks.....	109

CAPÍTULO 6 - TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA E RADIOLOGIA DIGITAL NA DETECÇÃO DE LAMINITE EM OVELHAS SANTA INÊS COM ACIDOSE RUMINAL SUBAGUDA INDUZIDA EXPERIMENTALMENTE

Figura 1. Áreas mensuradas em termografia podal, face cranial, de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	115
Figura 2. Posicionamento dos equipamentos e da ovelha para realização de radiografia dos dígitos.....	116
Figura 3. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e as temperaturas máxima, média e mínima da região de pele acima do casco de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	118
Figura 4. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e as temperaturas máxima, média e mínima da parede do casco de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	119
Figura 5. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e as temperaturas máxima, média e mínima da extremidade do casco de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	120
Figura 6. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e a temperatura ambiente durante as 19 semanas de observação.....	121
Figura 7. Temperatura (face caudal) dos membros torácicos de ovino (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas.....	122
Figura 8. Temperaturas máximas das paredes dos cascos dos dígitos de ovinos (<i>Ovis aries</i>) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas e temperatura ambiente.....	123
Figura 9. Radiografias podais dorso-palmares e dorso-plantares dos dígitos de ovino: dígitos torácicos antes da indução da acidose ruminal e 19 semanas depois.....	124

CAPÍTULO 1 - Considerações gerais

1. Introdução

A ovinocultura de corte apresenta crescente importância econômica no Brasil, com consequente aumento do número de animais confinados, visando maior ganho de peso em um curto período de tempo. Tal situação predispõe os ovinos a desordens tais como acidose ruminal e, consequentemente, laminite, as quais geram problemas econômicos pelos custos do tratamento, menor produtividade do rebanho e descarte de animais, além de afetar negativamente o bem-estar dos mesmos.

A laminite causada por acidose ruminal em ovinos é um assunto pouco explorado nas pesquisas científicas, as quais abordam superficialmente estes distúrbios na espécie, limitando-se grande parte das vezes a descrições de achados clínicos. Neste contexto, o desenvolvimento de métodos de diagnósticos mais fidedignos e capazes de identificar estas enfermidades numa fase evolutiva precoce poderá auxiliar na profilaxia de maneira rápida e eficiente minimizando, assim, prejuízos econômicos.

Atualmente estão disponíveis, para utilização na medicina veterinária, métodos de diagnóstico de imagem modernos, portáteis, com possibilidade de utilização a campo, os quais facilitariam o diagnóstico precoce da laminite nas espécies pecuárias. Assim, este estudo teve por objetivo principal verificar a eficácia da termografia infravermelha e do exame radiológico digital como ferramentas de diagnóstico precoce da laminite em ovinos com acidose ruminal subaguda induzida experimentalmente. Adicionalmente, considerando-se a escassez de estudos sobre a patogenia e o desenvolvimento da acidose ruminal subaguda em ovinos, foram avaliados os efeitos da ingestão prolongada de dieta com alta proporção de alimento concentrado sobre as variáveis clínicas, hematológicas, bioquímicas séricas, hemogasométricas, no perfil eletroforético de proteínas séricas, no pH urinário e em parâmetros do fluido ruminal destes animais.

2. Revisão de literatura

2.1 Ovinocultura de corte no Brasil

O número de ovinos registrados em 2013 foi de 17,291 milhões de cabeças, aumento de 3,0% em relação ao efetivo de 2012; 56,5% dos animais estavam na Região Nordeste; 30,0% na Sul; 5,5% na Centro-Oeste; 4,2% na Sudeste; e 3,8% na Norte (IBGE, 2013). O mercado de carne ovina no Brasil vem crescendo e, mesmo com consumo interno abaixo dos demais tipos de carne, apresenta excesso de demanda, determinando a tendência ascendente de importação do produto, principalmente do Uruguai, pela proximidade geográfica e a qualidade da carne produzida. A partir de 2008, observou-se aumento dos preços da carne ovina, indicando um comportamento de elevação do produto no mercado internacional, pelo crescimento da demanda mundial e a possível oferta inelástica do produto, além da redução da produção e o avanço da agricultura de grãos no Uruguai que podem ter afetado a oferta e, conseqüentemente, os preços do produto. A produção brasileira ainda não é capaz de abastecer a expansão de seu mercado interno, contrastando com sua liderança em produção e potencial exportador das carnes bovina, suína e de frango (VIANA; MORAES; DORNELES, 2015).

A raça de ovinos Santa Inês foi desenvolvida no nordeste brasileiro, resultante do cruzamento intercorrente das raças Bergamácia, Morada Nova, Somalis e outros ovinos sem raça definida. É uma raça de grande porte, deslanada, com pêlos curtos e sedosos e pelagem vermelha, preta, branca ou combinações destas. Possui excelente qualidade de carne com baixo teor de gordura, pele de altíssima qualidade, alto valor adaptativo e reprodutivo, bom desenvolvimento ponderal e boa resistência a parasitas gastrointestinais, sendo uma excelente alternativa para a produção de carne em quase todas as regiões do Brasil (ARCO, 2015).

2.2 Acidose ruminal subaguda (ARS)

O tipo subclínico de acidose ruminal foi primeiramente mencionado por Dirksen (1965), que o caracterizou como acidose ruminal latente crônica, muito mais

frequentemente que a sua manifestação clínica aguda. A acidose ruminal frequentemente é classificada em diversos tipos, incluindo as formas aguda e subaguda (também chamada de crônica, latente ou subclínica) (OWENS et al., 1998; KLEEN et al. 2003). Para simplificar, a acidose ruminal é categorizada baseada no pH ruminal, tipo de ácido responsável pelo baixo pH e se os sinais clínicos são evidentes (NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007). A nomenclatura aplicada é confusa e incoordenada e varia entre países, assim como dentro dos países. Não se sabe se ARS deveria ser caracterizada por sua duração presumida ou por sua ausência de manifestações clínicas. Esta confusão terminológica deve-se à natureza complexa da doença, que torna difícil delimitar exatamente a diferença entre ela e as condições normais fisiológicas do rúmen (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002).

O conhecimento da acidose ruminal na exploração de ovinos é muito importante para a adoção de medidas preventivas e de controle (VIEIRA et al., 2006). A literatura sobre esta doença é escassa e pouco é conhecido sobre sua incidência, possivelmente devido ao conhecimento limitado da sintomatologia e à qualidade dos métodos de diagnóstico normalmente empregados na prática. A etiologia e patogênese complexas, juntamente com o curso subclínico da doença, complicam sua demarcação, diagnóstico e profilaxia. Entre os parâmetros diagnósticos, nenhum pode inequivocamente ser aplicado de maneira isolada para determinar ARS a nível de rebanho (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002).

Deve-se avaliar e desenvolver ferramentas para diagnóstico de ARS para uso em fazendas (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002), devido à necessidade de métodos que não dependam inteiramente da colheita de líquido ruminal e que possam ser usadas em condições de campo. No entanto, observa-se dificuldade em se encontrar tais ferramentas e estudos nessa área são escassos e inconsistentes (LI et al., 2012).

2.3 Etiologia da acidose ruminal subaguda

A acidose ruminal aguda surge após a ingestão exagerada e súbita de dietas ricas em carboidratos não estruturados em ruminantes pouco adaptados às mesmas. Tais carboidratos são rapidamente fermentados no rúmen gerando elevada produção

de ácido láctico, o qual provoca acidose, inicialmente no rúmen e em seguida sistêmica, levando frequentemente os animais à morte (OWENS et al., 1998; ORTOLANI, 2003b; VIEIRA et al., 2006; SILVA et al., 2009).

Considera-se que a ARS seja mais frequente do que sua manifestação aguda (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002), porém mais difícil de ser caracterizada (ESPINASSE; KUIPER; SCHELCHER, 1995). A ARS é definida como uma queda intermitente do pH ruminal a níveis não fisiológicos após a ingestão de dieta baixa em estrutura e alta em energia em um ambiente ruminal não adaptado para fermentar e absorver o excesso de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) adequadamente (GOAD; GOAD; NAGARAJA, 1998; KLEEN et al., 2003). Entretanto, a população microbiana se adapta à dieta rica em grãos com aumento dos microrganismos amilolíticos e lactolíticos, de forma que o ácido láctico não se acumula (GOAD; GOAD; NAGARAJA, 1998; ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002). As consequências clínicas da ARS manifestam-se após certo tempo do insulto inicial (KLEEN et al., 2003) e se apresentam como ingestão reduzida de alimentos e diminuição da performance, porém os animais não se mostram necessariamente doentes (OWENS et al., 1998).

A produção de AGCC acima da capacidade de absorção pela mucosa ruminal, assim como a diminuição da salivação pelas características físicas do alimento, são críticas para os mecanismos reguladores do pH ruminal e surgimento da ARS (GOAD; GOAD; NAGARAJA, 1998; ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002). A quantidade de ácidos orgânicos produzidos depende da quantidade de alimento ingerido, taxa e extensão da degradação do alimento pelos microrganismos ruminiais. Após dissociação, estes ácidos orgânicos liberam prótons, os quais podem decrescer o valor do pH do fluido ruminal, redução esta que depende da quantidade de saliva adicionada, a qual neutraliza os ácidos e depende do tempo de mastigação do alimento, e a capacidade tamponante existente no fluido ruminal. A distribuição mais ampla da ingestão diária de alimento leva a melhor sincronização entre picos de produção de ácido e produção de saliva, absorção de ácidos orgânicos a partir do rúmen, além da melhor metabolização de ácidos e eliminação pela urina dos prótons absorvidos (GONZÁLEZ et al., 2012). Bovinos desenvolvem ARS quando o pH ruminal cai abaixo do limite fisiológico de 5,5 mas os AGCC tem pKa em torno de 4,9 e rapidamente passam para a forma indissociada em pH abaixo de 5,5, o que remove

íons hidrogênio livres do fluido ruminal e facilita a absorção passiva de AGCC pelo epitélio ruminal (MARIE KRAUSE; OETZEL, 2006).

Os animais também apresentam importantes adaptações comportamentais para lidar com dietas acidóticas e, embora a pesquisa nesta área seja escassa, sabe-se que ruminantes entendem as consequências pós-ingestão de dietas mais fermentáveis, como sensações desagradáveis pelo dano no tecido ruminal ou alta osmolaridade e auto-regulam sua ingestão de alimento, na tentativa de evitar a sobrecarga de ácidos orgânicos, comportamento que pode desaparecer após outras adaptações fisiológicas e microbiológicas terem se estabelecido (GONZÁLEZ et al., 2012).

2.4 Características ruminais na acidose ruminal subaguda

O monitoramento do pH ruminal tem uma posição central no diagnóstico da acidose ruminal (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002). O pH ruminal abaixo do qual considera-se a ocorrência de ARS fica em torno de 5,5 (NOCEK, 1997; GOAD; GOAD; NAGARAJA, 1998; KLEEN et al., 2003). O pH ruminal flutua consideravelmente em um período de 24 horas e é influenciado pela ingestão de carboidrato fermentável (MARIE KRAUSE; OETZEL, 2006; NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007), capacidade inerente do animal de fornecer tamponamento e taxas de utilização e absorção dos ácidos (NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007), chegando a variar de cinco a 10 vezes a concentração de hidrogênio no rúmen, o que torna muito difícil avaliar o pH ruminal, mesmo em situações experimentais (MARIE KRAUSE; OETZEL, 2006).

O fluido ruminal de vacas com ARS apresenta coloração leitosa ou amarronzada, odor ácido, consistência levemente viscosa, tempo de sedimentação rápido ou inexistente, pH entre 6,2 e 5,3 e tempo de redução do azul de metileno de até três minutos (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002). A microbiota ruminal é caracterizada pela dominância de bactérias Gram-negativas, embora o número de bactérias Gram-positivas esteja em ascensão (OWENS et al., 1998).

Não é certa a influência do pH ruminal baixo na acidose metabólica sistêmica (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002), porém a acidose ruminal é

considerada a principal causa de acidose metabólica em ruminantes (PATRA; LAL; SWARUP, 1993; CARLSON, 2009). Pesquisas integrativas incluindo parâmetros ruminais e sanguíneos são necessárias para melhor caracterizar os aspectos e evolução da acidose latente (BROSSARD; MARTIN; MICHALET-DOREAU, 2003).

A rumenite é uma sequela frequente da acidose ruminal e a produção aumentada de AGCC, assim como um aumento temporário no lactato ruminal e flutuações na osmolaridade do fluido ruminal, podem estar envolvidos em seu desenvolvimento (KREHBIEL et al., 1995). A inflamação do epitélio ruminal pode também exercer uma função na depressão da ingestão de alimento após a acidose ruminal (MARIE KRAUSE; OETZEL, 2006). A rumenite é uma lesão fundamental da ARS e inicia problemas de saúde crônicos, pois, uma vez que o epitélio ruminal está inflamado, bactérias podem colonizar as papilas e escoar para a circulação portal, causando abscessos hepáticos, os quais podem gerar peritonite ao seu redor, colonizar os pulmões, válvulas cardíacas, rins e articulações (NORDLUND; GARRET; OETZEL, 1995; NOCEK, 1997). A paraqueratose, quando ocorre, pode afetar a absorção de AGCC a longo prazo (KREHBIEL et al., 1995).

2.5 Sinais clínicos da acidose ruminal subaguda

Em ovinos com acidose ruminal aguda, os sinais clínicos são letargia, anorexia, taquicardia, taquipneia, desidratação, volume abdominal aumentado, atonia ruminal, timpanismo, diarreia, congestão venosa da mucosa ocular (VIEIRA et al., 2006; SILVA et al., 2009), agitação, agressividade e menor sensibilidade à dor (COMMUN et al.; 2012). Porém, quadro sintomático da ARS é difuso e inconsistente (NORDLUND; GARRET; OETZEL, 1995), com sinais clínicos frequentemente separados temporalmente por semanas a meses do evento incitante, tornando o diagnóstico difícil (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002; MARIE KRAUSE; OETZEL, 2006). Como a ARS é um problema de rebanho, os sinais clínicos são relacionados a este, portanto o diagnóstico não deve ser baseado no exame de apenas um animal e sim incluir grupos ou todos os indivíduos (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002).

Em resumo, rebanhos afetados por ARS podem apresentar diminuição da ingestão de alimento, aumento da diarreia, mudança em parâmetros fecais, alta incidência de laminite e problemas locomotores associados, diminuição da produção leiteira, alta taxa de descarte e reposição, baixo desempenho e baixa condição corporal (KLEEN et al., 2003). A redução na ingestão de alimento em bovinos acidóticos é inconsistente e pode depender da extensão e convergência de múltiplos fatores associados com o controle de mecanismos de alimentação, dentre eles baixo pH do fluido ruminal, alta concentração de produtos da fermentação (AGCC), alta osmolaridade, respostas inflamatórias de fase aguda motilidade ruminal reduzida e digestão diminuída de fibras (GONZÁLEZ et al., 2012). A incidência anual de laminite de mais de 10% e o aumento na incidência de laminite no rebanho é frequentemente o primeiro e típico sinal que pode levar à suspeita de problema de rebanho com ARS (NORDLUND; GARRET; OETZEL, 1995).

É incerto, porém, o quanto os parâmetros clínicos podem ser incluídos na vigilância de rotina, a menos que uma variação considerável dentro e entre os rebanhos seja esperada (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002).

2.6 Equilíbrio ácido-base na acidose ruminal subaguda

Diversos autores relataram que o fornecimento de uma dieta com alta concentração de carboidrato causa diminuição do pH sanguíneo (PATRA; LAL; SWARUP, 1996; NOUR; ABUSAMRA; HAGO, 1998; BROWN et al., 2000; HAJIKOALEI et al., 2006; RADOSTITS et al., 2007). É incerto a qual extensão o pH ruminal baixo é refletido em acidose metabólica sistêmica e se esta deve ser sempre esperada. Fatores provavelmente decisivos são a magnitude da queda do pH ruminal, assim como a duração dos episódios em que o pH ruminal fica abaixo do valor fisiológico aceitável (NOCEK, 1997). Apesar do grande número de estudos em bovinos, a comparação entre estes animais e os ovinos pode ser falha já que, mesmo entre as raças bovinas, existem diferenças nos efeitos da acidose ruminal e metabólica (MARUTA; ORTOLANI, 2002; ORTOLANI; MARUTA; MINERVINO, 2010).

A prova laboratorial que mais fornece informações na acidose é o exame hemogasométrico, realizado no sangue total heparinizado e quadros de acidose

também podem provocar acidificação no pH urinário (ORTOLANI, 2003a). Porém, o monitoramento rotineiro da acidez urinária é considerada a ferramenta diagnóstica mais eficiente para ARS (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002).

2.7 Resposta de fase aguda na acidose ruminal subaguda

A concentração sérica de proteínas de fase aguda (PFA) pode fornecer informações quantitativas úteis para o estudo e o diagnóstico de doenças metabólicas, além do monitoramento das respostas à terapia (ECKERSALL, 2007). A inflamação devida à ARS pode ser resultado da translocação, para a circulação sanguínea, de lipopolissacarídeo (LPS) derivado de bactérias Gram-negativas (PLAIZIER et al., 2008; PLAIZIER et al., 2012). Outros fatores imunogênicos presentes no trato digestório após a alimentação com alta proporção de grãos (PLAIZIER et al., 2008; DONG et al., 2011) e a rumenite causada pela ARS podem contribuir para a inflamação e a resposta de fase aguda (RFA) (PLAIZIER et al., 2008; PLAIZIER et al., 2012). O aumento de endotoxinas e a consequente endotoxemia podem inibir a motilidade reticuloruminal, o que pode ser bom para reduzir a taxa de fermentação por diminuir a mistura, mas pode exacerbar a acidose ruminal pela redução da taxa de absorção ou passagem de ácidos a partir do rúmen (NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007).

As PFA podem auxiliar as mensurações de pH ruminal (DANSCHER et al., 2011) e demonstraram importância na detecção precoce de ARS (GOZHO; KRAUSE; PLAIZIER, 2006). Em pequenos ruminantes, há deficiência de informação sobre as PFA (GÓMEZ-LAGUNA et al., 2011; TOTHOVA; NAGY; KOVAC, 2014) e informações sobre a RFA e suas relações com parâmetros produtivos de ovinos são limitadas (PFEFFER et al., 1993).

2.8 Laminite

O termo científico para a laminite é pododermatite asséptica difusa, inflamação asséptica das lâminas dérmicas dentro do casco de etiologia multifatorial (NOCEK, 1997; JACKSON; COCKCROFT, 2002). A laminite é considerada a sequela mais

significante da ARS e prevalência de mais de 10% é mantida como sendo indicativa de problema de acidose ruminal subclínica no rebanho (NORDLUND; GARRET; OETZEL, 1995).

A ARS pode ser associada com laminite e subsequente supercrescimento de casco, abscessos de sola e úlceras de sola, porém os problemas podais geralmente não aparecem por semanas ou meses após o insulto de acidose ruminal que os causaram (NOCEK, 1997). A laminite tem sido associada com insultos metabólicos sistêmicos (NOCEK, 1997), mas o mecanismo preciso no qual a ARS aumenta o risco de laminite não foi completamente caracterizado (MARIE KRAUSE; OETZEL, 2006).

O manejo nutricional é identificado como componente chave no desenvolvimento da laminite. A fase inicial da laminite resulta da redução do pH ruminal e sistêmico, ativando um mecanismo vasoativo que aumenta o pulso digital e o fluxo sanguíneo total. Endotoxinas e histamina, quando liberadas, aumentam a constrição e dilatação vascular e, por sua vez, os desvios arteriovenosos não fisiológicos, o que eleva mais a pressão sanguínea e a exsudação de soro pelas paredes venosas danificadas provocando edema, hemorragia do cório solear pela trombose e expansão do cório com dor severa. Na segunda fase, o edema causa isquemia e hipóxia, com pouca chegada de nutrientes às células epidermais. Na terceira fase, o estrato germinativo da epiderme se decompõe, com degeneração e desmembramento da região laminar na junção dermo-epidérmica. Na quarta fase, há a separação do estrato germinativo e cório, com disjunção dos suportes laminares lateral e dorsal do casco e deslocamento do osso, comprimindo os tecidos moles contra a sola, resultando em hemorragia, trombose, edema, isquemia e necrose na região solear do dígito, com acúmulo de tecido cicatricial e debris celulares incorporados à matriz celular, o que prejudica a integridade das novas camadas de tecido do casco e culmina em sola dupla, hemorragia de sola, hematomas e lesões difusas. Os principais sinais clínicos locais, além da dor intensa, incluem inchaço e temperaturas ligeiramente mais altas acima da banda coronária (NOCEK, 1997; JACKSON; COCKCROFT, 2002).

Aminas farmacologicamente ativas são produzidas no rúmen pela descarboxilação de aminoácidos precursores, principalmente em pH ruminal baixo, em uma tentativa de regular o pH com as aminas básicas e, dentre estas, a histamina

tem recebido considerável atenção por sua possível função na laminite (NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007). A destruição do processo hemodinâmico normal é um dos principais fatores no desenvolvimento da laminite e a histamina é um potente vasodilatador (NOCEK, 1997). A absorção de histamina ruminal deve ser considerada uma causa importante de histaminose sistêmica em ruminantes acidóticos e está ligada ao dano do epitélio ruminal, o qual é primariamente induzido por acidificação ruminal e não pela histamina (ASCHENBACH; GÄBEL, 2000).

Desordens locomotoras são comuns em ovinos (JACKSON; COCKCROFT, 2002) e a claudicação representa um dos principais problemas em seu bem estar, de extrema importância nas perdas na produção de pequenos ruminantes (EZE, 2002). Assim, a laminite continua sendo um dos mais importantes problemas de bem estar que afetam a criação de ovinos (WINTER, 2004a). Ovelhas com problemas de casco apresentaram concentração de cortisol sérico mais alta que as saudáveis por mais de três meses após a aparente resolução clínica (LEY et al., 1994). A carência de informações referentes às lesões podais nestes animais induz os erros no diagnóstico, condutas terapêuticas inadequadas diante de surtos e dificulta o sucesso dos tratamentos implementados (HILL et al., 1997; WINTER, 2004b). Além disso, há discrepância entre os sinais clínicos da laminite e as alterações visíveis nos cascos, sendo as lesões podais ocultas comuns nos pequenos ruminantes (OSSENT; LISCHER, 1997). Portanto, a caracterização destas lesões facilita o diagnóstico e pode orientar a conduta terapêutica (AGUIAR et al., 2011). Neste contexto, a utilização de técnicas de diagnóstico por imagem é de grande importância na determinação da laminite nestes animais.

2.9 Termografia infravermelha

A eficácia da termografia infravermelha (TIV) foi demonstrada como ferramenta de diagnóstico para a Medicina Veterinária sob condições normais, patológicas e no estresse térmico (PUROHIT; TURNER; PASCOE, 2007). A TIV é uma tecnologia de detecção de calor moderna, segura, não invasiva e sem contato na qual uma câmera mensura a radiação infravermelha emitida e cria imagens chamadas termogramas, processados por um software analisador especializado e apresentados como mapas

de temperatura. Em organismos vivos, mudanças na circulação vascular alteram a temperatura tecidual, que é utilizada para avaliar a área (TURNER, 1998; TURNER, 2001; KNÍŽKOVÁ et al., 2007; PUROHIT; TURNER; PASCOE, 2007) com propósitos diagnósticos, especialmente de doenças ortopédicas em cavalos (KNÍŽKOVÁ et al., 2007).

A TIV não perturba os animais e seu comportamento (MCCAFFERTY, 2007; ZECCONI et al., 2011), aumenta a acurácia do diagnóstico e indica a área de concentração de testes adicionais. O equipamento é portátil (TURNER, 1998), utilizado em adição à radiografia, ultrassonografia e cintilografia onde a localização da inflamação é difícil, particularmente em regiões periféricas e superficiais (COCKCROFT; HENSON; PARKER, 2000; TURNER, 2001). A TIV não envolve exposição à radiação e auxilia no monitoramento do tratamento (EDDY; VAN HOOGLMOED; SNYDER, 2001; PUROHIT; TURNER; PASCOE, 2007), sendo útil para determinar se a mudança radiográfica é associada com inflamação (YANMAZ; OKUMUS; DOGAN, 2007).

Se anormalidades térmicas forem avaliadas cuidadosamente, diagnósticos precoces podem ser feitos, permitindo a instituição de tratamento antes que o problema se agrave e prevenindo perdas financeiras (PUROHIT; TURNER; PASCOE, 2007). Gatto, Giancesella e Morgante (2010) sugerem que a TIV pode ser um meio de diagnóstico de acidose ruminal subaguda pois detecta a mudança de temperatura do rúmen e/ou circulação superficial devida à alteração da fermentação. A detecção precoce de laminite é essencial para a melhoria do bem estar dos animais, dos rendimentos da criação e das taxas de recuperação (ZECCONI et al., 2011) e a TIV, combinada ao exame clínico minucioso, é excelente para a investigação precoce desta afecção (TURNER, 1998), pois detecta o calor antes que seja perceptível no exame físico de rotina (TURNER, 2001), além de permitir o monitoramento de pacientes com alto risco de se tornarem laminíticos (TURNER, 1991). A laminite é detectada pelo aumento de temperatura entre a banda coronária e a parede do casco e, em equinos, a TIV é um auxílio prático na avaliação clínica da laminite (TURNER, 2001; ÇETINKAYA; DEMIRUTKU, 2012).

Alguns estudos com TIV foram realizados em bovinos na investigação de afecções podais (COCKCROFT; HENSON; PARKER, 2000; RAINWATER-LOVETT

et al., 2009; GLOSTER et al., 2011; ZECCONI et al., 2011; ALSAOD; BÜSCHER, 2012) e algumas pesquisas utilizando a TIV já foram feitas em ovinos (KNÍŽKOVÁ et al., 2005; STELLETTA et al., 2007; CAPRARO et al., 2008; STUBSJØEN et al., 2009; D'ALTERIO et al., 2011; NETO; RODELLO; BICUDO, 2011; DE DIEGO et al., 2013; MARTINS et al., 2013; NOGUEIRA et al., 2013; PICCIONE et al., 2013; CASTRO-COSTA et al., 2014; PAIM et al., 2014). Entretanto, são raros os estudos termográficos relacionados às afecções podais que afetam, com grande frequência, esta espécie (TALUKDER; GABAI; CELI, 2015).

2.10 Radiografia digital

A radiografia tem se estabelecido como um diagnóstico padrão em Medicina Veterinária. Apesar disso, não tem se tornado um procedimento rotineiro na prática com ruminantes, particularmente devido a seu custo. Esta situação também se reflete na literatura científica (KOFLER; STEINER, 2014). A radiografia digital (digital radiography – DR) usa um detector especial que, após exposição, fornece imagem em computador disponível para visualização e processamento. Este tipo de aparelho foi comercializado a partir da segunda metade da década de 1990, sua versão portátil se tornou disponível em 2002 e se configura o último avanço no progresso da radiografia. Este tipo de radiografia tem como vantagem o fornecimento de imagens de qualidade mesmo com alta ou baixa exposição; o ajuste do contraste e brilho conforme a necessidade; inserção de informações e mensurações à imagem; armazenamento e compartilhamento das imagens sem perda da qualidade; análise imediata da radiografia e realização de várias tomadas rapidamente; redução da radiação utilizada e melhor custo-benefício em comparação aos métodos radiográficos anteriores (MCKNIGHT, 2004).

3. Referências

AGUIAR, G. M. N.; RIET-CORREA, F.; SILVA, T. R.; ASSIS, A. C. O.; MEDEIROS, J. M. A.; SIMÕES, S. V. D. Caracterização das lesões podais em caprinos e ovinos. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 18, n. 4, supl. 3, p. 302-305, 2011.

ALSAAOD, M.; BÜSCHER, W. Detection of hoof lesions using digital infrared thermography in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 2, p. 735-742, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-4762>>.

ASCHENBACH, J. R.; GÄBEL, G. Effect and absorption of histamine in sheep rumen: significance of acidotic epithelial damage. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, n. 2, p. 464-470, 2000.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE OVINOS (ARCO). **Padrões raciais**: Santa Inês. 2015. Disponível em: <http://www.arcoovinos.com.br/sitenew/racas_links/santa_ines.htm>. Acesso em: 24 out. 2015.

BROSSARD, L.; MARTIN, C.; MICHALET-DOREAU, B. Ruminal fermentative parameters and blood acid-basic balance changes during the onset and recovery of induced latent acidosis in sheep. **Animal Research**, Les Ulis, v. 52, p. 513-530, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1051/animres:2003036>>.

BROWN, M. S.; KREHBIEL, C. R.; GALYEAN, M. L.; REMMENG, M. D.; PETERS, J. P.; HIBBARD, B.; ROBINSON, J.; MOSELEY, W. M. Evaluation of models of acute and subacute acidosis on dry matter intake, ruminal fermentation, blood chemistry, and endocrine profiles of beef steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, n. 12, p. 3155-3168, 2000.

CAPRARO, G. A.; COUGHLIN, B. F.; MADER, T. J.; SMITHLINE, H. A. Testicular cooling associated with testicular torsion and its detection by infrared thermography: an experimental study in sheep. **Journal of Urology**, Linthicum, v. 180, n. 6, p. 2688-2693, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2008.08.004>>.

CARLSON, G. P. Clinical chemistry tests. In: SMITH, B. P. (Ed.). **Large Animal Internal Medicine**. 4. ed. Saint Louis: Mosby Elsevier, 2009. p. 375-435.

CASTRO-COSTA, A.; CAJA, G.; SALAMA, A. A. K.; ROVAI, M.; FLORES, C.; AGUILÓ, J. Thermographic variation of the udder of dairy ewes in early lactation and following an *Escherichia coli* endotoxin intramammary challenge in late lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 3, p. 1377-1387, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-6978>>.

ÇETİNKAYA, M. A.; DEMİRUTKU, A. Thermography in the assessment of equine lameness. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, Ankara, v. 36, n. 1, p. 43-48, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3906/vet-1102-791>>.

COCKCROFT, P. D.; HENSON, F. M. D.; PARKER, C. Thermography of a septic metatarsophalangeal joint in a heifer. **Veterinary Record**, London, v. 146, n. 9, p. 258-260, 2000.

COMMUN, L.; SILBERBERG, M.; MIALON, M. M.; MARTIN, C.; VEISSIER, I. Behavioural adaptations of sheep to repeated acidosis challenges and effect of yeast

supplementation. **Animal: an international journal of animal bioscience**, Cambridge, v. 6, n. 12, p. 2011-2022, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1017/S1751731112001309>>.

D'ALTERIO, G.; CASELLA, S.; GATTO, M.; GIANESELLA, M.; PICCIONE, G.; MORGANTE, M. Circadian rhythm of foot temperature assessed using infrared thermography in sheep. **Czech Journal of Animal Science**, Prague, v. 56, n. 7, p. 293-300, 2011.

DANSCHER, A. M.; THOEFNER, M. B.; HEEGAARD, P. M. H.; EKSTRØM, C. T.; JACOBSEN, S. Acute phase protein response during acute ruminal acidosis in cattle. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 135, n. 1, p. 62-69, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2010.06.009>>.

DE DIEGO, A. C. P.; SÁNCHEZ-CORDÓN, P. J.; PEDRERA, M.; MARTÍNEZ-LÓPEZ, B.; GÓMEZ-VILLAMANDOS, J. C.; SÁNCHEZ-VIZCAÍNO, J. M. The use of infrared thermography as a non-invasive method for fever detection in sheep infected with bluetongue virus. **The Veterinary Journal**, London, v. 198, n. 1, p. 182-186, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.07.013>>.

DIRKSEN, G. Rumen acidosis in cattle. **Veterinary Medical Review**, Leverkusen, v. 2, p. 98-125, 1965.

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**, London, v. 53, n. 1, 48, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/1751-0147-53-48>>.

ECKERSALL, P. D. Acute phase protein: biomarkers of disease in cattle and sheep. **Cattle Practice**, Frampton-on-Severn, v. 15, p. 240-243, 2007.

EDDY, A. L.; VAN HOOOGMOED, L. M.; SNYDER, J. R. The Role of Thermography in the Management of Equine Lameness. **The Veterinary Journal**, London, v. 162, n. 3, p. 172-181, 2001.

ENEMARK, J. M. D.; JORGENSEN, R. J.; ENEMARK, P. S. Rumen acidosis with special emphasis on diagnostic aspects of subclinical rumen acidosis: a review. **Veterinarija ir Zootechnika**, Kaunas, v. 20, n. 42, p. 16-29, 2002.

ESPINASSE, J.; KUIPER, R.; SCHELCHER, F. Physiopathologie du complexe gastrique In: JARRIGE, R.; RUCKEBUSCH, Y.; DEMARQUILLY, C.; FARCE, M. H.; JOURNET, M. (Eds.). **Nutrition des ruminants domestiques. Ingestion et digestion**. Versailles: INRA Editions, 1995. p. 805-852.

EZE, C. A. Lameness and reproductive performance in small ruminant in Nsukka area of the Enugu State, Nigeria. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 44, n. 3, p. 263-267, 2002. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488\(02\)00030-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488(02)00030-5)>.

GATTO, M.; GIANESELLA, M.; MORGANTE, M. Applicazione della termografia nella diagnosi di acidosi ruminale subacuta della vacca da latte. **Large Animal Review**, Cremona, v. 16, p. 7-12, 2010.

GLOSTER, J.; EBERT, K.; GUBBINS, S.; BASHIRUDDIN, J.; PATON, D. J. Normal variation in thermal radiated temperature in cattle: implications for foot-and-mouth disease. **BMC Veterinary Research**, London, v. 7, p. 73, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/1746-6148-7-73>>.

GOAD, D. W.; GOAD, C. L.; NAGARAJA, T. G. Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, n. 1, p. 234-241, 1998.

GÓMEZ-LAGUNA, J.; SALGUERO, F. J.; PALLARÉS, F. J.; RODRÍGUEZ-GÓMEZ, I. M.; BARRANCO, I.; CARRASCO, L. Acute phase proteins as biomarkers in animal health and welfare. In: VEAS, F. (Ed.). **Acute phase proteins as early non-specific biomarkers of human and veterinary diseases**. Rijeka: Intech, 2011. 408 p.

GONZÁLEZ, L.A.; MANTECA, X.; CALSAMIGLIA, S.; SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K.S.; FERRET, A. Ruminal acidosis in feedlot cattle: interplay between feed ingredients, rumen function and feeding behavior (a review). **Animal Feed Science and Technology**, v. 172, n. 1-2, p. 66– 79, 2012.

GOZHO, G. N.; KRAUSE, D. O.; PLAIZIER, J. C. Rumen lipopolysaccharide and inflammation during grain adaptation and subacute ruminal acidosis in steers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 11, p. 4404-4413, 2006.

HAJIKOLAEI, M. R. H.; NOURI, M.; AFSHAR, F. S.; DEHKORDI, A. J. Effects of experimentally induced ruminal lactic acidosis on blood pH, bicarbonate and pCO₂ in the sheep. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v. 9, n. 10, p. 2003-2005, 2006.

HILL, N. P.; MURPHY, P. E.; NELSON, A. J.; MOUTTOTOU, N.; GREEN, L. E.; MORGAN, K. L. Lameness and foot lesions in adult British dairy goats. **Veterinary Record**, London, v. 141, n. 16, p. 412-416, 1997.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção da Pecuária Municipal**. v. 41. Rio de Janeiro: IBGE, 2013. 108 p.

JACKSON, P. G. G.; COCKCROFT, P. D. **Clinical examination of farm animals**. Malden: Blackwell Science, 2002. 313 p.

KLEEN, J. L.; HOOIJER, G. A.; REHAGE, J.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M. Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, Berlin, v. 50, n. 8, p. 406-414, 2003.

KNÍŽKOVÁ, I.; MALA, G.; KUNC, P.; KNIZEK, J. Resistance of early postnatal lambs from four genetic types to cold environment and rain. In: INTERNATIONAL SOCIETY

FOR ANIMAL HYGIENE, 12., 2005, Warsaw. **Proceedings...** Warsaw: Bel Studio, 2005. p. 271-273.

KNÍŽKOVÁ, I.; KUNC, P.; GÜRDİL, G. A. K.; PINAR, Y.; SELVİ, K. Ç. Applications of infrared thermography in animal production. **Journal of the Faculty of Agriculture**, Samsun, v. 22, n. 3, p. 329-336, 2007.

KOFLER, J.; STEINER, A. Diagnostic imaging in bovine orthopedics. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 30, n. 1, p. 11-15, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2013.11.003>>.

KREHBIEL, C. R.; BRITTON, R. A.; HARMON, D. L.; WESTER, T. J.; STOCK, R. A. The effect of ruminal acidosis on volatile fatty acid absorption and plasma activities of pancreatic enzymes in lambs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n.10, p. 3111-3121, 1995.

LEY, S. J.; WATERMAN, A. E.; LIVINGSTON, A.; PARKINSON, T. J. Effect of chronic pain associated with lameness on plasma cortisol concentrations in sheep: a field study. **Research in Veterinary Science**, London, v. 57, n. 3, p. 332-335, 1994.

LI, S.; GOZHO, G. N.; GAKHAR, N.; KHAFIPOUR, E.; KRAUSE, D. O.; PLAIZIER, J. C. Evaluation of diagnostic measures for subacute ruminal acidosis in dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 92, p. 353-364, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4141/CJAS2012-004>>.

MARIE KRAUSE, K.; OETZEL, G. R. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 126, n. 3-4, p. 215-236, 2006.

MARTINS, R. F. S.; PAIM, T. P.; CARDOSO, C. A.; DALLAGO, B. S. L.; MELO, C. B.; LOUVANDINI, H.; McMANUS, C. Mastitis detection in sheep by infrared thermography. **Research in Veterinary Science**, London, v. 94, n. 3, p. 722-724, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.10.021>>.

MARUTA, C. A.; ORTOLANI, E. L. Susceptibilidade de bovinos das raças Jersey e Gir à acidose láctica ruminal: II – acidose metabólica e metabolização do lactato-L. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 61-65, 2002. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782002000100011>>.

MCCAFFERTY, D. J. The value of infrared thermography for research on mammals: previous applications and future directions. **Mammal Review**, Oxford, v. 37, n. 3, p. 207-223, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2907.2007.00111.x>>.

MCKNIGHT, A. L. Digital radiography in equine practice. **Clinical Techniques in Equine Practice**, London, v. 3, n. 4, p. 352-360, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1053/j.ctep.2005.02.013>>.

NAGARAJA, T. G.; TITGEMEYER, E. C. Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, supl. E, p. E17–E38, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2006-478>>.

NETO, C. R.; RODELLO, L.; BICUDO, S. D. Termografia escrotal em ovinos pré-púberes submetidos a estresse térmico. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 18, n. 4, supl. 3, p. 1017-1019, 2011.

NOCEK, J. E. Bovine Acidosis: Implications on Laminitis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 5, p. 1005-1028, 1997.

NOGUEIRA, F. R. B.; SOUZA, B. B.; DE CARVALHO, M. G. X.; GARINO JUNIOR, F.; MARQUES, A. V. M. S.; LEITE, R. F. Termografia infravermelha: uma ferramenta para auxiliary no diagnóstico e prognóstico de mastite em ovelha. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 3, p. 289-297, 2013.

NORDLUND, K. V.; GARRETT, E. F.; OETZEL, G. R. Herd-based rumenocentesis: a clinical approach to the diagnosis of subacute rumen acidosis. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, Yardley, v. 17, p. S48-S56, 1995.

NOUR, M. S. M.; ABUSAMRA, M. T.; HAGO, B. E. D. Experimentally induced lactic acidosis in Nubian goats: clinical, biochemical and pathological investigations. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 31, p. 7-17, 1998. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488\(98\)00116-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488(98)00116-3)>.

ORTOLANI, E. L. Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes. In: SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL, 1., 2003, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003a. p. 91-102.

ORTOLANI, E. L. Diagnóstico e tratamento de alterações ácido-básicas em ruminantes.. In: SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL, 1., 2003, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003b. p. 17-28.

ORTOLANI, E. L.; MARUTA, C. A.; MINERVINO, A. H. H. Aspectos clínicos da indução experimental de acidose láctica ruminal em zebuínos e taurinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 47, n. 4, p. 253-261, 2010.

OSSENT, P.; LISCHER, C. Post mortem examination of the hooves of cattle, horses, pigs and small ruminants under practice conditions. **In Practice**, London, v. 19, n. 1, p. 21-29, 1997. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1136/inpract.19.1.21>>.

OWENS, F. N.; SECRIST, D. S.; HILL, W. J.; GILL, D. R. Acidosis in cattle: a review. **Journal of Animal Sciences**, Champaign, v. 76, n. 1, p. 275-286, 1998.

PAIM, T. P.; MARTINS, R. F. S.; CARDOSO, C.; DALLAGO, B.; LOUVANDINI, H.; MCMANUS, C. Thermal comfort index and infrared temperatures for lambs subjected to different environmental conditions. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 71, n. 5, p. 345-355, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0103-9016-2013-0191>>.

PATRA, R. C.; LAL, S. B.; SWARUP, D. Physicochemical alterations in blood, cerebrospinal fluid and urine in experimental lactic acidosis in sheep. **Research in Veterinary Science**, London, v. 54, n. 2, p. 217-220, 1993.

PATRA, R. C. LAL, S. B.; SWARUP, D. Biochemical profile of rumen liquor, blood and urine in experimental acidosis in sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 19, n. 2, p. 177-180, 1996. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/0921-4488\(95\)00743-1](http://dx.doi.org/10.1016/0921-4488(95)00743-1)>.

PFEFFER, A.; ROGERS, K. M.; O'KEEFFE, L.; OSBORN, P. J. Acute phase protein response, food intake, liveweight change and lesions following intrathoracic injection of yeast in sheep. **Research in Veterinary Science**, London, v. 55, n. 3, p. 360-366, 1993.

PICCIONE, G.; GIANESELLA, M.; MORGANTE, M.; REFINETTI, R. Daily rhythmicity of core and surface temperatures of sheep kept under thermoneutrality or in the cold. **Research in Veterinary Science**, London, v. 95, n. 1, p. 261-265, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.03.005>>.

PLAIZIER, J. C.; KHAFIPOUR, E.; LI, S.; GOZHO, G. N.; KRAUSE, D. O. Subacute ruminal acidosis (SARA), endotoxins and health consequences. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 172, n. 1-2, p. 9-21, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.12.004>>.

PLAIZIER, J. C.; KRAUSE, D. O.; GOZHO, G. N.; McBRIDE, B. W. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences. **The Veterinary Journal**, London, v. 176, n. 1, p. 21-31, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.016>>.

PUROHIT, R. C.; TURNER, T. A.; PASCOE, D. D. Use of Infrared Imaging in Veterinary Medicine. In: DIAKIDES, N. A.; BRONZINO, J. D. **Medical Infrared Imaging**. Boca Raton: CRC Press, 2007. p. 21/1-21/8. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1201/9781420008340.ch21>>.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Veterinary Medicine**. 10. ed. London: Saunder Elsevier, 2007. 2065 p.

RAINWATER-LOVETT, K.; PACHECO, J. M.; PACKER, C.; RODRIGUEZ, L. L. Detection of foot-and-mouth disease virus infected cattle using infrared thermography. **The Veterinary Journal**, London, v. 180, n. 3, p. 317-324, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.01.003>>.

SILVA, N. S.; SILVEIRA, J. A. S.; CAMPOS, K. F.; SOUSA, M. G. S.; LOPES, C. T. A.; OLIVEIRA, C. M. C.; DUARTE, M. D.; BARBOSA, J. Acidose ruminal em ovinos, diagnosticada pela central de diagnóstico veterinário (CEDIVET) da universidade Federal do Pará, no período de 2000 a 2008. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, supl. 1, p. 191-196, 2009.

STELLETTA, C.; MURGIA, L.; CARIA, M.; GIANESELLA, M.; PAZZONA, A.; MORGANTE, M. Thermographic study of the ovine mammary gland during different working vacuum levels. **Italian Journal of Animal Science**, Pavia, v. 6, supl. 1, p. 600, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4081/ijas.2007.1720>>.

STUBSJØEN, S. M.; FLØ, A. S.; MOE, R. O.; JANCZAK, A. M.; SKJERVE, E.; VALLE, P. S.; ZANELLA, A. J. Exploring non-invasive methods to assess pain in sheep. **Physiology & Behavior**, Oxford, v. 98, n. 5, p. 640-648, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.09.019>>.

TALUKDER, S.; GABAI, G.; CELI, P. The use of digital infrared thermography and measurement of oxidative stress biomarkers as tools to diagnose foot lesions in sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 127, p. 80-85, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.04.006>>.

TOTHOVA, C.; NAGY, O.; KOVAC, G. Acute phase proteins and their use in the diagnosis of diseases in ruminants: a review. **Veterinární Medicína**, Praha, v. 59, n. 4, p. 163-180, 2014.

TURNER, T. A. Thermography as an aid to the clinical lameness evaluation. **The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice**, Philadelphia, v. 7, n. 2, p. 311-338, 1991.

TURNER, T. A. Use of Thermography in Lameness Evaluation. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 44., 1998, Baltimore. **Proceedings...** Lexington: American Association of Equine Practitioners, 1998. p. 224-226.

TURNER, T. A. Diagnostic thermography. **The Veterinary Clinics of North America, Equine Practice**, Philadelphia, v. 17, n. 1, p. 95-113, 2001.

VIANA, J. G. A.; MORAES, M. R. E.; DORNELES, J. P. Dinâmica das importações de carne ovina no Brasil: análise dos componentes temporais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 3, supl. 1, p. 2223-2234, 2015.

VIEIRA, A. C. S.; AFONSO, J. A. B.; MENDONÇA, C. L.; COSTA, N. A.; SOUZA, M. I. Estudo retrospectivo da acidose láctica em caprinos e ovinos atendidos na Clínica de Bovinos, Câmpus Garanhuns/UFRPE. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 1, n. 1, p. 97-101, 2006.

WINTER, A. Lameness in sheep 1. Diagnosis. **In Practice**, London, v. 26, p. 58-63, 2004a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1136/inpract.26.2.58>>.

WINTER, A. Lameness in sheep 2. Treatment and control. **In Practice**, London, v. 26, p. 130-139, 2004b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1136/inpract.26.3.130>>.

YANMAZ, L. E.; OKUMUS, Z.; DOGAN, E. Instrumentation of thermography and its applicationas in horses. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v. 6, n. 7, p. 858-862, 2007.

ZECCONI, A.; REDAELLI, V.; TARANTINO, S.; LUZI, F.; VERGA, M. Infrared thermography as a non invasive technique to assess lameness in dairy cows. In: SYMPOSIUM AND 8TH CONFERENCE LAMENESS - A GLOBAL PERSPECTIVE, 16., 2011, Rotorua. **Lameness in ruminants**, Rotorua, 2011. p. 183.

CAPÍTULO 2 - Rumenostomia com colocação de cânula flexível permanente em ovinos Santa Inês em único tempo cirúrgico

RESUMO - Este estudo descreve a técnica de rumenostomia com colocação de cânula permanente flexível de silicone, em um único estágio cirúrgico, empregada em sete ovelhas Santa Inês, utilizadas na pesquisa sobre acidose ruminal induzida experimentalmente. A técnica cirúrgica utilizada para fistulação ruminal permanente de ovinos mostrou-se de fácil execução, com poucas complicações pós-operatórias e eficaz para a realização das colheitas de fluido ruminal. As cânulas flexíveis de silicone, após seis meses de uso, tornaram-se impróprias para a vedação eficiente das fístulas ruminais.

Palavras-chave: fistulação, ovelhas, rúmen

1. Introdução

A canulação ruminal é um procedimento de fistulação entre o saco dorsal do rúmen e a superfície corporal na fossa paralombar esquerda, com propósitos experimentais ou alívio de timpanismo crônico (AZIZI; PIR-MOHAMMADI; POUR-HASANI, 2007). A colocação de cânulas no sistema digestório é frequentemente requisitada para estudos experimentais de digestibilidade, principalmente em animais de produção (STEDILE et al., 2008) e o conhecimento sobre a função ruminal tem evoluído por meio destas fístulas (KOMAREK, 1981).

A canulação é necessária para manter a fístula aberta e minimizar sua interferência com a função digestiva normal (KOMAREK, 1981). A colocação de cânulas impede o extravasamento de gás e conteúdo ruminal durante os intervalos de colheita, sendo utilizadas em várias espécies e porções do trato digestório (STEDILE et al., 2008).

A fistulação ideal é aquela que forma uma vedação em torno da cânula, impedindo o vazamento de fluido ruminal no período experimental (MUZZI; MUZZI; GABELLINI, 2009). Idealmente, além de selar a fístula e eliminar vazamento, a

canulação não deve sobressair da lateral do animal, nem ser vulnerável a distúrbios mecânicos, além de ser fácil de abrir e fechar sem torção (KOMAREK, 1981).

Algumas complicações podem ocorrer após a implantação de cânulas permanentes, como peritonite e vazamento de conteúdo ruminal. O vazamento de grande quantidade de conteúdo do rúmen pode levar o animal à desidratação e desnutrição, causar lesões na pele, produzir odor desagradável e favorecer o aparecimento de miíases (MUZZI; MUZZI; GABELLINI, 2009).

Desta forma, este estudo descreve a técnica de rumenostomia com colocação de cânula permanente empregada em ovelhas Santa Inês, utilizadas em pesquisa sobre acidose ruminal induzida experimentalmente.

2. Material e métodos

Realizou-se, em sete ovelhas Santa Inês adultas, híginas, mantidas em baias, a rumenostomia com colocação de cânula permanente conforme os procedimentos descritos a seguir.

Os animais foram submetidos a jejum hídrico e alimentar 24 horas antes das intervenções, a fim de reduzir o volume ruminal e facilitar a realização do procedimento cirúrgico (GOMES et al., 2009).

Sob tranquilização com cloridrato de xilazina (Anasedan Injetável)¹ na dose de 0,1 mg/kg, por via intramuscular, os animais foram posicionados em decúbito lateral direito, em mesa cirúrgica acolchoada. Realizou-se tricotomia ampla do flanco esquerdo, seguida de antissepsia com clorexidina degermante 2% e iodopovidona 10% (Figura 1-A). O bloqueio paravertebral e a anestesia local subcutânea e muscular em padrão L invertido foram feitos com cloridrato de lidocaína sem vasoconstritor (Xylestesin® 2%)² diluída na proporção 1:1 em solução fisiológica, na área da incisão. Quando havia manifestação de dor, esta solução de lidocaína também era instilada sobre a ferida cirúrgica (Figura 1-B).

¹ Ceva Saúde Animal Ltda, Paulínia, São Paulo, Brasil.

² Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda, Itapira, São Paulo, Brasil.

Fez-se uma incisão de aproximadamente oito centímetros de comprimento na pele, no sentido dorsoventral, na parte superior do flanco esquerdo, cinco centímetros caudais à 13^a costela. Seguiu-se a divulsão do tecido subcutâneo e hemostasia dos vasos de maior calibre com fio categut cromado 0 (Figura 1-C).

Posteriormente, incidiu-se e divulsionou-se as camadas musculares (músculos oblíquo externo, oblíquo interno e transverso do abdômen) com tesoura, no sentido das fibras musculares (Figura 1-D), a parede do rúmen foi exposta e suturou-se a serosa ruminal, peritônio, camadas musculares e pele com fio de algodão 0, em ponto simples separado, ao redor de toda ferida cirúrgica (Figura 1-E).

Após o término da sutura, fez-se uma incisão dorsoventral no centro da parede ruminal exposta, na qual foi inserida uma cânula ruminal de silicone com duas polegadas de diâmetro³, a qual havia sido mantida submersa em iodopovidona por alguns minutos antes de sua colocação (Figura 1-F). A cânula flexível de silicone, com tampa inserida sob pressão, apresentava as seguintes medidas: disco externo – 12,5 cm de diâmetro, disco interno – 10,5 cm de diâmetro, abertura – 5,8 cm de diâmetro interno e 8,2 cm de diâmetro externo, distância entre abas externa e interna – 3,5 cm. O anel interno da cânula foi dobrado para dentro do orifício da mesma para sua inserção na fístula, sendo posteriormente evertido e a cânula tampada imediatamente. A aba interna apresentou-se fixa à parede interna do rúmen, enquanto a aba externa da cânula permaneceu justaposta à pele e o tubo central ocupou o espaço criado pela fístula (MUZZI; MUZZI; GABELLINI, 2009).

Aplicou-se iodopovidona tópica 10% sobre a ferida cirúrgica e unguento⁴ ao redor da cânula ruminal. Iniciou-se, imediatamente após a cirurgia, antibioticoterapia com penicilina (Pentabiótico® Veterinário Reforçado)⁵, na dose de 30.000 UI/kg, por via intramuscular, a cada 48 horas, perfazendo cinco aplicações. Além disso, administrou-se flunixin meglumine (Flunixin Injetável)⁶, na dose de 2 mg/kg, por via intramuscular, a cada 24 horas, durante três dias.

³ Kehl Indústria e Comércio Ltda ME, São Carlos, São Paulo, Brasil.

⁴ Vansil Indústria Veterinária, Descalvado, São Paulo, Brasil.

⁵ Fort Dodge Saúde Animal Ltda, Campinas, São Paulo, Brasil.

⁶ Uzinac Químicas Brasileiras S. A., Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

Diariamente, realizou-se aplicação de iodopovidona tópica 10% sobre a ferida cirúrgica e de unguento em torno da cânula ruminal, até completa cicatrização. A retirada dos pontos cirúrgicos foi realizada 10 dias após o procedimento cirúrgico. No mínimo uma vez por semana, durante o período experimental, os animais passavam por banho e a região da cânula era higienizada para evitar o aparecimento de míases (GOMES et al., 2009).

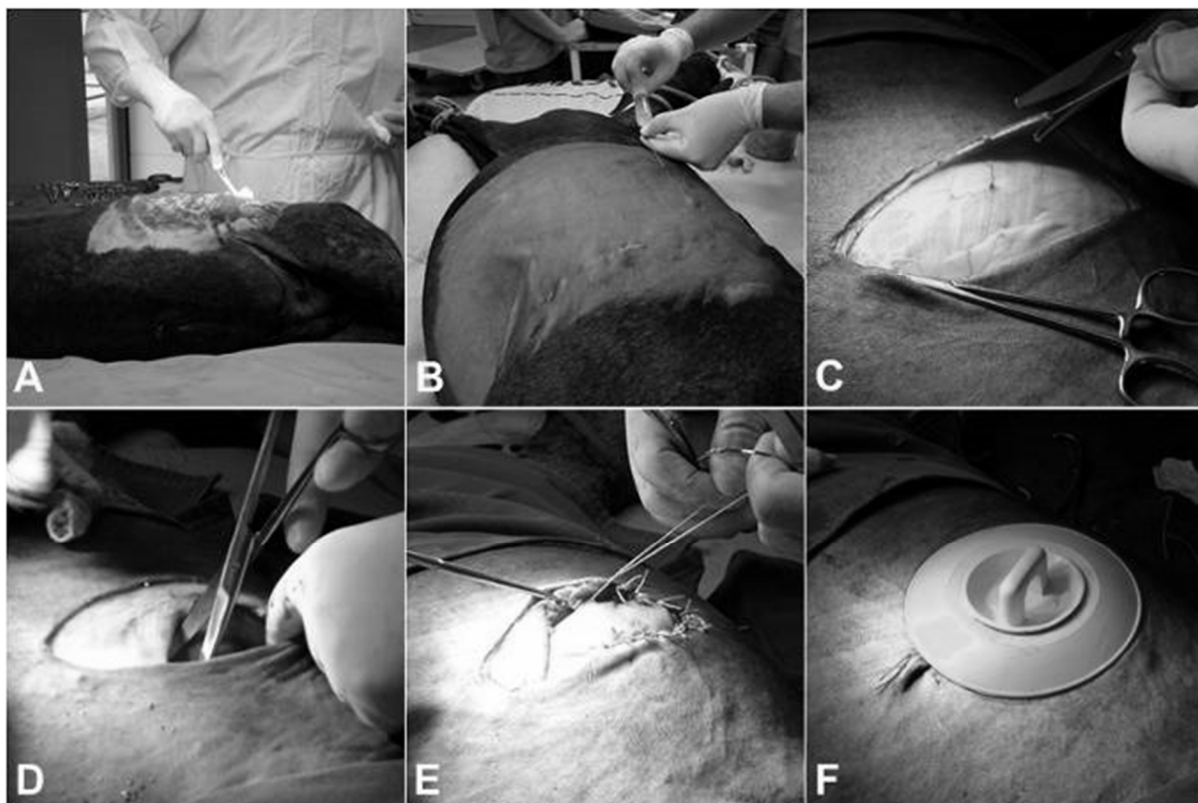


Figura 1. Rumenostomia com colocação de cânula permanente em ovino: antissepsia do flanco esquerdo tricotomizado, sob tranquilização com cloridrato de xilazina, em mesa cirúrgica acolchoada, contido por cordas (A); aplicação subcutânea de cloridrato de lidocaína sem vasoconstritor, em L invertido, no flanco esquerdo (B); incisão na pele, no sentido dorsoventral, no terço superior do flanco esquerdo, caudal à 13^a costela, seguida por divulsão do tecido subcutâneo e hemostasia dos vasos de maior calibre com fio categute cromado 0 (C); incisão e divulsão dos músculos abdominais oblíquo externo e oblíquo interno com tesoura, no sentido das fibras musculares (D); sutura da serosa ruminal, peritônio, camadas musculares e pele com fio de algodão 0, em ponto simples separado (E); cânula ruminal de silicone inserida no flanco esquerdo (F).

3. Resultados e discussão

O procedimento cirúrgico em cada animal teve duração de aproximadamente duas horas. O protocolo de tranquilização e anestesia utilizado mostrou-se adequado para o procedimento, com rápida recuperação no pós-operatório imediato e os animais mantendo-se em posição quadrupedal, sendo levados caminhando do centro cirúrgico para as baias onde, imediatamente, ingeriram água e alimentos, semelhante ao descrito por Komarek (1981) e Elices Mínguez et al. (2010), os quais observaram rápida recuperação e ingestão de água e alimento até 12 horas após rumenostomia em ovinos (Figura 2). Como descrito previamente, a cicatrização da ferida cirúrgica deu-se de maneira satisfatória, sem hemorragias ou necrose tecidual (STEDILE et al., 2008; ELICES MÍNGUEZ et al., 2010).



Figura 2. Ovelhas canuladas, um dia após a rumenostomia permanente. Notar unguento ao redor da cânula.

A colheita de amostras de fluido ruminal utilizando-se pipeta descartável de 10 mL, necessária para a execução do experimento, foi facilmente realizada através da cânula, semelhante ao relatado por Miller e Maltby (1966), Stedile et al. (2008) e Muzzi; Muzzi; Gabellini (2009).

Os animais foram mantidos fistulados por seis meses. Todas as ovelhas apresentaram pequeno vazamento de fluido ruminal ao redor da fístula, porém sem maiores consequências, como descrito por Komarek (1981) e Stedile et al. (2008), a não ser perda de pelos na área onde escorria o fluido e a necessidade ocasional de

limpeza e aplicação de repelentes. Quatro animais apresentaram queda das cânulas algumas vezes, principalmente nas últimas semanas do período de observação, sendo prontamente recolocadas. Notou-se que as quedas ocorriam pela manhã, após os animais terem passado a noite deitados com o rúmen repleto de alimento, o que aumentava a pressão sobre as cânulas. Além disso, houve deformação das cânulas, com consequente diminuição de sua função de vedação (Figura 3).

As cânulas de silicone são reconhecidas por manter sua flexibilidade e, assim, sua facilidade para recolocação por longos períodos e por não serem irritantes para os tecidos (HARMON; RICHARDS, 1997). Neste estudo, percebeu-se que o material das cânulas realmente não causou nenhuma reação tecidual aparente, porém houve perda da flexibilidade e do formato original das mesmas. Em ovinos, devido à fraqueza da musculatura da parede abdominal, a fixação da cânula e a manutenção de sua estabilidade podem ser consideradas um desafio para cirurgiões veterinários (AZIZI; PIR-MOHAMMADI; POUR-HASANI, 2007).

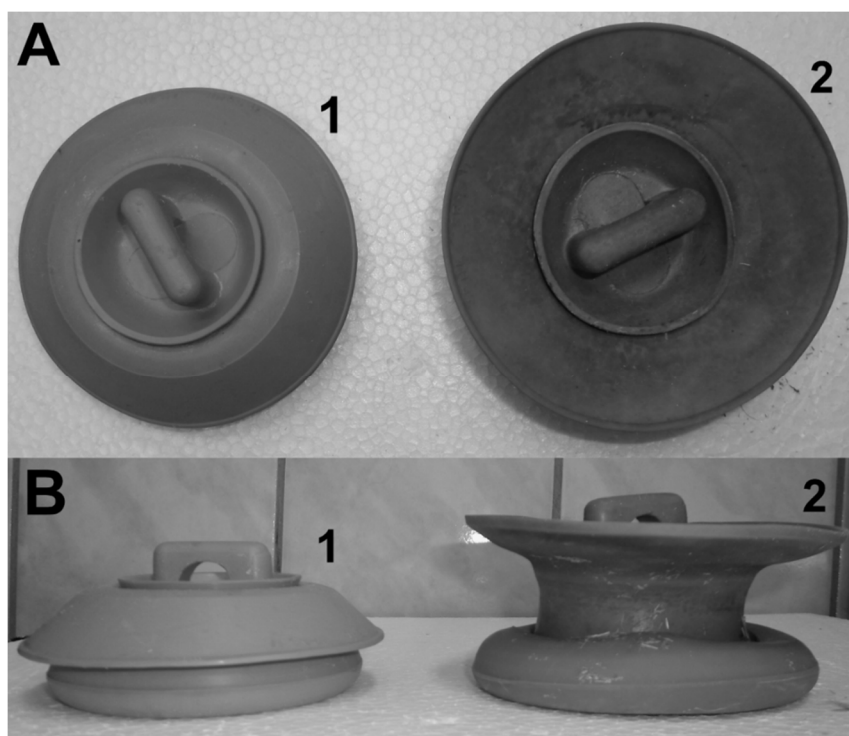


Figura 3. Comparação entre cânulas flexíveis de silicone sem uso (1) e seis meses após colocação em fístula ruminal permanente de ovinos (2). A – vista superior; B – vista lateral.

À necropsia, percebeu-se que não houve infecção da cavidade abdominal em consequência da rumenostomia, assim como observado por Komarek (1981), Azizi; Pir-Mohammadi; Pour-Hasani (2007), Stedile et al. (2008) e Elices Mínguez et al. (2010).

A técnica de rumenostomia em ovinos em uma fase, ou seja, em um tempo operatório, é menos trabalhosa, mais rápida, mais fácil de ser realizada (ELICES MÍNGUEZ et al., 2010), com menor custo operacional e menor estresse para os animais do que a técnica tradicional em duas fases, sem alterar a eficácia do procedimento (MUZZI; MUZZI; GABELLINI, 2009).

4. Conclusão

A técnica cirúrgica utilizada para fistulação ruminal permanente de ovinos mostrou-se de fácil execução, com poucas complicações pós-operatórias e eficaz para a realização das colheitas de fluido ruminal. As cânulas flexíveis de silicone utilizadas neste trabalho, após seis meses de uso, tornaram-se impróprias para a vedação eficiente das fístulas ruminais.

5. Referências

AZIZI, S.; PIR-MOHAMMADI, R.; POUR-HASANI, F. A two-stage rumen cannulation technique in sheep. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v. 6, n. 1, p. 29-32, 2007.

ELICES MÍNGUEZ, R.; REVUELTA RUEDA, L.; MARTÍNEZ-DARVE, J.; MIGUÉLEZ FERNÁNDEZ, S. Surgery technique for ovine ruminal cannulation. **Revista Complutense de Ciencias Veterinarias**, Madrid, v. 4, n. 2, p. 41-52, 2010.

GOMES, G. M. F.; EGITO, A. S.; SALLES, H. O.; OLIVEIRA, E. L.; VASCONCELOS, A. M. **Seleção dos animais e cuidados pré, durante e pós-cirúrgicos na fistulação ruminal em caprinos e ovinos**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2009. 24 p.

HARMON, D. L.; RICHARDS, C. J. Considerations for gastrointestinal cannulations in ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 8, p. 2248-2255, 1997.

KOMAREK, R. J. Rumen and abomasal cannulation of sheep with specially designed cannulas and a cannula insertion instrument. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 53, n. 3, p. 790-795, 1981.

MILLER, W. H.; MALTBY, M. A rumen cannula for small ruminants. **Journal of Range Management**, Tucson, v. 39, n. 6, p. 474-475, 1966.

MUZZI, L. A. L.; MUZZI, R. A. L.; GABELLINI, E. L. A. Técnica de fistulação e canulação do rúmen em bovinos e ovinos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, p. 2059-2064, 2009.

STEDILE, R.; BECK, C. A. C.; NÓBREGA, F. S.; SILVA FILHO, A. P. F.; FERREIRA, M. P.; ALIEVI, M. M.; SCHIOCHET, F.; BORDIN, A. I.; GONZALEZ, P. C.; LAMPERT, M. Rumenostomia com colocação de cânula flexível em ovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 36, n. 1, p. 35-38, 2008.

CAPÍTULO 3 - Aspectos clínicos, características do fluido ruminal, alterações hematológicas e bioquímicas séricas e necropsia de ovelhas Santa Inês com acidose ruminal subaguda induzida experimentalmente

RESUMO – Avaliou-se os efeitos da ingestão de dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas, por ovelhas da raça Santa Inês, com a finalidade de induzir acidose ruminal subaguda (ARS), sobre as variáveis clínicas, do fluido ruminal, hematológicas, bioquímicas séricas e necropsia. A observação de diarreia deu-se do quarto ao 22º dia e os sinais de laminite foram observados do quinto ao 24º dia. O fluido ruminal foi predominantemente líquido, de odor ácido e coloração amarelada. Observou-se elevação inicial nos valores da frequência cardíaca, tempo de sedimentação e flotação, contagem de plaquetas e neutrófilos segmentados; atividades das enzimas AST, FA e GGT; concentrações sanguíneas de cálcio ionizado, magnésio, glicose, ureia, triglicérides e bilirrubinas indireta e total. No início do experimento, notou-se também redução da frequência respiratória, contagens de linfócitos, hemácias e monócitos; teor de hemoglobina, volume globular, concentrações séricas de cálcio total, fósforo, sódio, colesterol e proteína total plasmática. A frequência de movimentos ruminais, o tempo de redução do azul de metileno, os níveis sanguíneos de creatinina, bilirrubina direta, lactato e CK foram reduzidos, enquanto a temperatura, o peso e o escore corporal, a contagem de eosinófilos, as concentrações de albumina, cloretos e potássio no sangue aumentaram durante todo o período de observação. Nenhuma alteração macroscópica foi detectada à necropsia. A indução de ovinos à ARS causou alterações metabólicas, principalmente nas primeiras semanas, as quais foram se normalizando até o fim dos 133 dias de observação.

Palavras-chave: alimento concentrado, eletrólitos, enzimas séricas, hemograma, metabólitos, ovinos

1. Introdução

O crescimento da indústria de carne ovina tem contribuído para o aumento do número de animais confinados, os quais estão susceptíveis a desordens metabólicas tais como a acidose ruminal, que pode causar prejuízos econômicos devido aos custos com tratamentos, perda de produtividade, descarte de animais e diminuição do bem-estar dos mesmos. A acidose ruminal é dividida em diversas formas, dentre elas a aguda e a subaguda, também conhecida como crônica, latente ou subclínica (OWENS et al., 1998; KLEEN et al., 2003).

A acidose ruminal subaguda (ARS) é mais frequente que sua manifestação aguda (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002), porém é mais difícil de ser caracterizada porque os parâmetros biológicos no rúmen flutuam dentro dos limites fisiológicos (ESPINASSE et al., 1995). A ARS é definida como uma diminuição intermitente no pH ruminal a níveis não fisiológicos após a ingestão de dieta com baixa estrutura física e alta em energia, aliada ao ambiente ruminal não adaptado para fermentar este conteúdo e absorver a grande quantidade de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) produzidos (KLEEN et al., 2003). Entretanto, a população microbiana ruminal se adapta à alta quantidade de alimento concentrado, limitando o acúmulo de ácido láctico pelo aumento nas populações de microrganismos amilolíticos e lactolíticos (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002).

As consequências clínicas da ARS se manifestam semanas a meses após o insulto inicial (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002; KLEEN et al., 2003; MARIE KRAUSE; OETZEL, 2006) e apresentam-se como baixa ingestão de alimento e redução no desempenho, porém os animais não se mostram necessariamente doentes (OWENS et al., 1998), o que torna o diagnóstico difícil (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002; MARIE KRAUSE; OETZEL, 2006). Em resumo, rebanhos afetados por ARS podem apresentar diminuição da ingestão de alimento, diarreia, alta incidência de laminite e problemas locomotores associados, diminuição da produção leiteira, alta taxa de descarte e reposição, baixo desempenho e baixa condição corporal (KLEEN et al., 2003). O fluido ruminal de vacas com ARS apresenta coloração leitosa ou amarronzada, odor ácido, consistência levemente viscosa, tempo de sedimentação rápido ou inexistente e tempo de redução do azul de metileno de até

três minutos (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002). As características clínicas da ARS são descritas principalmente em vacas produtoras de leite, porém não foram encontradas descrições para a espécie ovina na literatura consultada, a qual é provavelmente afetada por este distúrbio em condições de confinamento para ganho de peso.

A laminite é considerada a sequela mais significativa da ARS (NORDLUND; GARRET; OETZEL, 1995) e o mecanismo preciso no qual a ARS aumenta o risco de laminite não foi completamente caracterizado (MARIE KRAUSE; OETZEL, 2006), porém o manejo nutricional é identificado como componente chave em seu desenvolvimento, o qual alterna distúrbios metabólicos e vasculares (NOCEK, 1997; JACKSON; COCKCROFT, 2002).

A rumenite é uma sequela frequente da acidose ruminal e a produção aumentada de AGCC, assim como um aumento temporário no lactato ruminal e flutuações na osmolaridade do fluido ruminal, podem estar envolvidos em seu desenvolvimento (KREHBIEL et al., 1995). A inflamação do epitélio ruminal pode também deprimir a ingestão de alimento após a acidose (MARIE KRAUSE; OETZEL, 2006). A rumenite é uma lesão fundamental da ARS e inicia problemas crônicos pois, uma vez que o epitélio ruminal está inflamado, bactérias podem colonizar as papilas e escoar para a circulação portal, causando abscessos hepáticos, peritonite, colonização dos pulmões, válvulas cardíacas, rins e articulações (NORDLUND; GARRET; OETZEL, 1995; NOCEK, 1997). A paraqueratose, quando ocorre, pode afetar a absorção de AGCC a longo prazo (KREHBIEL et al., 1995).

A patologia clínica é usada principalmente na medicina individual e mais raramente no manejo da saúde do rebanho, o que provavelmente é a causa da informação disponível para ovinos ser, na sua maioria, baseada em estudos experimentais, relatos de casos e observações durante surtos de doenças (BRAUNA; TRUMELA; BÉZILLE, 2010). Pesquisas integrativas incluindo parâmetros ruminais e sanguíneos são necessárias para melhor caracterizar os aspectos e evolução da acidose latente (BROSSARD; MARTIN; MICHALET-DOREAU, 2003). Assim, o presente estudo avaliou os efeitos a longo prazo de uma dieta com alta proporção de alimento concentrado, a fim de indução da acidose ruminal subaguda, sobre as variáveis clínicas, do fluido ruminal, hematológicas, bioquímicas séricas e

características necroscópicas de ovelhas (*Ovis aries*) Santa Inês, uma raça brasileira deslanada rústica, utilizada para a produção de carne.

2. Material e métodos

2.1 Período de adaptação

Foram utilizadas sete ovelhas adultas, hígidas, criadas a campo, com cânula ruminal permanente. Os animais foram mantidos em baias providas de cama, comedouros e bebedouros adequados, sob as devidas condições de higiene, junto ao Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp Câmpus de Jaboticabal (Figura 1-A). Como cama, foi utilizada bagaço de cana, o qual passava por limpeza diária e era trocado totalmente uma vez por semana. Quando os animais apresentaram diarreia, o bagaço de cana foi substituído por piso de borracha¹, para facilitar a limpeza diária das baias (Figura 1-B). Os animais eram expostos ao sol, no período da manhã, após o banho e durante a limpeza das baias, sempre contidos por cordas, para evitar a ingestão não prevista de alimento na área externa (Figura 1-C).

Todas as ovelhas receberam ivermectina (Ivermectan 1%)², por via subcutânea, na dose de 0,2 mg/kg e albendazol (Biozen®)³, por via oral, na dose de 15 mg/kg (HAJIKOLAEI et al., 2006). Os animais foram mantidos sob dieta basal com feno de “coast cross” (*Cynodon dactylon*) *ad libitum*, o que atende às necessidades nutricionais de ovinos em manutenção (SOBRINHO et al., 1996). Além disso, tiveram livre acesso à água potável e mistura mineral (Tortuga Ovinofós com minerais orgânicos)⁴. O período de adaptação foi de 69 dias e o início das colheitas deu-se 40 dias após a rumenostomia.

¹ Nova Vedovati Indústria e Comércio Ltda, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

² Uzinas Químicas Brasileiras S. A., Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

³ Biofarm Química e Farmacêutica Ltda, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

⁴ Tortuga Companhia Zootécnica Agrária, São Paulo, São Paulo, Brasil.



Figura 1. Ovinos em baia com comedouros, água potável e cama de bagaço de cana (A); baia com piso de borracha (B) e ovinos durante banho de sol, na parte externa das baias (C) no Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp Câmpus de Jaboticabal.

2.2 Período experimental

No início do período experimental, 15 dias, sete dias e imediatamente antes do início do fornecimento de alimento concentrado, exames físicos foram realizados em todos os animais e amostras de sangue e fluido ruminal foram obtidas e utilizadas para estabelecimento dos padrões iniciais (média das três colheitas), que serviram para comparações com os valores do período experimental.

Para a indução da acidose ruminal, as ovelhas receberam dieta, baseada no consumo médio diário (2 kg de matéria orgânica/animal/dia) do período de adaptação, na qual foram incluídos ao volumoso, diariamente, 10% de alimento concentrado farelado, composto por 76,8% de milho moído, 18,2% de farelo de soja e 5% de núcleo mineral e vitamínico (Guabi Ruminúcleo Ovinos 40 ADE)⁵, até completar 80% (BROSSARD; MARTIN; MICHALET-DOREAU, 2003), porcentagem de alimento concentrado que foi mantida até o final do período experimental. Após o início do

⁵ Mogiana Alimentos S/A, Campinas, São Paulo, Brasil.

fornecimento de concentrado na alimentação dos animais, o experimento se estendeu por 19 semanas.

A avaliação clínica, as colheitas de fluido ruminal e sangue para hemograma e análises bioquímicas foram realizadas diariamente por duas semanas e, então, em dias intercalados até o final do primeiro mês experimental. Posteriormente, assim como a pesagem dos animais, tais avaliações foram efetuadas a cada sete dias até o final do período de observação.

As análises foram executadas no Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp Câmpus de Jaboticabal.

2.3 Avaliação física dos animais

Foram avaliados, com auxílio de estetoscópio, as frequências cardíaca (FC – batimentos/minuto), respiratória (FR – movimentos/minuto) e de movimentos ruminiais (MR – ciclos/2 minutos); a temperatura corporal (TC – °C), mensurada com termômetro clínico, por via retal; as mucosas aparentes (ocular, oral e vaginal), o grau de hidratação (FEITOSA, 2008), o peso corporal (PC), o escore corporal (EC) (SOBRINHO et al., 1996), além de se realizar a avaliação clínica completa (LOVATT, 2010), a avaliação de sinais de laminite (FEITOSA, 2008) e dos cascos para detecção de outros sinais e lesões. Os demais achados clínicos foram registrados, conforme sua ocorrência (VIEIRA et al., 2006; SILVA et al., 2009). Tais exames foram realizados rotineiramente antes do fornecimento do alimento.

2.4 Análise do fluido ruminal

Duas amostras de 10 mL de fluido ruminal foram obtidas por meio da fístula ruminal, utilizando-se uma pipeta descartável de 10 mL, sendo acondicionadas, cada uma, em um tubo cônico estéril tipo Falcon transparente de 15 mL e analisadas, logo após a colheita, quanto às características físicas (viscosidade, cor, odor), o tempo de sedimentação e flotação e tempo de redução do azul de metileno.

Para a prova de sedimentação e flotação do fluido ruminal, a amostra de um dos tubos foi deixada em repouso até a formação de camadas estratificadas definidas (ARCURI; LOPES; CARNEIRO, 2006). Para verificar o tempo de redução do azul de metileno foram misturados 9,5 mL de fluido ruminal e 0,5 mL de azul de metileno (solução 0,03%) (DIRKSEN; GRÜNDER; STÖBER, 1993). A cor foi comparada ao controle do próprio fluido e registrado o tempo necessário para a descolorir o azul de metileno (JACKSON; COCKCROFT, 2002).

2.5 Hemograma

As amostras foram colhidas com os animais contidos em tronco tombador para ovinos (Tronco tombador para ovinos e caprinos ITC do Brasil)⁶, em decúbito dorsal (Figura 2), por sistema a vácuo (BD Vacutainer®)⁷ com agulhas de colheita múltipla 25 x 8 mm e tubos plásticos estéreis com o anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético dipotássico (K₂EDTA 7,2 mg) e capacidade de 4 mL. A colheita foi efetuada, após antisepsia da região, por punção da veia jugular externa, até completar a capacidade dos tubos (MEYER; COLES; RICH, 1995). Os mesmos foram agitados delicadamente algumas vezes após a colheita, para homogeneização. As amostras foram acondicionadas temporariamente em isopor com gelo reutilizável e, quando não puderam ser processadas imediatamente, foram armazenadas sob refrigeração a 4°C por, no máximo, 12 horas (JAIN, 1993).

As contagens de hemácias ($\times 10^{12}/L$), leucócitos ($\times 10^9/L$) e plaquetas ($\times 10^9/L$); volume globular – VG (L/L) e teores de hemoglobina (g/L) foram realizadas em analisador hematológico veterinário automático (pochH-100 iV Diff)⁸. A contagem diferencial de leucócitos (basófilos, eosinófilos, linfócitos, monócitos, neutrófilos bastonetes e segmentados - $\times 10^9/L$) foi realizada por meio da análise de esfregaços sanguíneos corados pelo método de May-Grunwald-Giemsa, utilizando-se para tal a microscopia de luz em um aumento de 100 vezes.

⁶ Patina Indústria e Comércio de Produtos Agropecuários Ltda, Castro, Paraná, Brasil.

⁷ BD Diagnostics – Preanalytical Systems, São Paulo, São Paulo, Brasil.

⁸ Sysmex Corporation, Kobe, Japan.



Figura 2. Ovino contido em tronco tombador. Notar o uso de almofadas sob o corpo do animal para seu conforto e de malhas tubulares para contenção dos membros.

2.6 Bioquímica sérica

As colheitas das amostras foram realizadas antes do fornecimento do alimento, com os animais contidos em tronco tombador para ovinos, em decúbito dorsal (Figura 2), por meio de sistema a vácuo (BD Vacutainer®)⁹ com agulhas de colheita múltipla 25 x 8 mm e tubos de plástico estéreis, sendo: um tubo para obtenção de plasma para mensuração de glicose e lactato, contendo o anticoagulante fluoreto de sódio (NaF 6 mg) e ácido etilenodiaminotetrascético dissódico (Na₂EDTA 12 mg), com capacidade de 4 mL; um tubo para mensuração de proteína total plasmática, com o anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético dipotássico (K₂EDTA 7,2 mg) e capacidade de 4 mL; e um tubo para obtenção de soro para as demais análises, sem anticoagulante e com capacidade de 10 mL.

A colheita foi efetuada, após antissepsia da região, por punção da veia jugular externa, até completar a capacidade dos tubos (MEYER; COLES; RICH, 1995), homogeneizando as amostras delicadamente algumas vezes antes de acondicioná-

⁹ BD Diagnostics – Preanalytical Systems, São Paulo, São Paulo, Brasil.

las temporariamente em isopor com gelo reutilizável. Aquelas amostras colhidas nos tubos sem anticoagulante e com fluoreto de sódio tiveram suas frações de soro e de plasma, respectivamente, separadas por meio de centrifugação. O soro sanguíneo foi armazenado a -70°C, em microtubos de plástico estéreis tipo Eppendorf de 1,5 mL.

Foram mensuradas as seguintes variáveis bioquímicas: proteína total plasmática – PTP (g/dL), glicose e lactato (mg/dL) (realizadas no mesmo dia da colheita); aspartato aminotransferase – AST, creatina quinase – CK, fosfatase alcalina – FA, gama glutamiltransferase – GGT, lactato desidrogenase – LDH (U/L); albumina (g/dL), creatinina, ureia, colesterol, triglicérides, bilirrubina total – BT e direta – BD, cálcio total – Ca, fósforo – P e magnésio – Mg (mg/dL). Para a mensuração da PTP, separou-se o plasma centrifugando-se o tubo com K₂EDTA, utilizado para a realização de hemograma, por 5 minutos a 3.000 g, colocou-se uma alíquota de 0,1 mL do plasma em refratômetro (ATAGO T2-NE)¹⁰ e fez-se a leitura. As demais variáveis foram mensuradas por meio de espectrofotômetro semi-automático (Labquest)¹¹, com a utilização de kits comerciais específicos, da mesma marca. Os valores de bilirrubina indireta – BI (mg/dL) foram obtidos pela subtração dos níveis de BD do valor de BT.

Para a avaliação de sódio – Na, potássio – K, cálcio ionizado – Cai e cloretos – Cl (mmol/L), sangue arterial foi colhido da artéria carótida ou auricular utilizando-se agulhas descartáveis 25 x 7 mm ou 25 x 8 mm e seringas para hemogasometria (BD Preset®)¹² de 3 mL com o anticoagulante heparina de lítio com cálcio balanceado, vedando-se a seringa com tampa (BD Hemogard)²², misturando as amostras ao anticoagulante e acondicionando-as sob refrigeração por no máximo 30 minutos antes das mensurações em analisador de gases sanguíneos, eletrólitos, hemoglobina total, saturação de oxigênio e hematócrito em sangue total (Roche Omni C)¹³.

¹⁰ ATAGO Co. Ltd, Tokyo, Japan

¹¹ Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil.

¹² BD Diagnostics – Preanalytical Systems, São Paulo, São Paulo, Brasil.

¹³ Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany.

2.7 Análise estatística

Avaliou-se a associação entre as variáveis e o tempo por meio de regressão linear, quadrática e cúbica e a correlação entre pares de variáveis pelo coeficiente de Pearson, utilizando-se software de análise estatística (SAS 9.1)¹⁴. Considerou-se o escore fraco ($0,01 \leq r \leq 0,39$), moderado ($0,40 \leq r \leq 0,69$) e forte ($0,70 \leq r \leq 1,00$) para a classificação do nível de correlação entre as variáveis. O nível de significância considerado foi 5%.

2.8 Necropsia

No final do período de observação, os animais foram abatidos e necropsiados no Setor de Ovinocultura, no Departamento de Zootecnia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp Câmpus de Jaboticabal, utilizando-se insensibilização prévia (elétrica ou pistola de dardo cativo penetrante) e sangria (MAPA, 2000).

3. Resultados

3.1 Avaliação física dos animais

Os dados obtidos nos exames físicos dos animais encontram-se na Tabela 1.

Todas as variáveis clínicas avaliadas tiveram associação com o tempo experimental. A FC se elevou até o 18º dia, depois entrou em diminuição ($P < 0,001$). A FR diminuiu até o 10º dia, depois subiu ($P < 0,01$). A MR ($P < 0,0001$) diminuiu, enquanto a TC se elevou ($P < 0,01$) durante o experimento. O PC apresentou elevação por todo período ($P < 0,0001$) (Figura 3).

Apenas a TC teve correlação com a FR ($P < 0,0001$; $r = 0,32$). As demais variáveis não se correlacionaram ($P > 0,05$).

¹⁴ SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.

Tabela 1. Média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação (CV) das variáveis clínicas de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas

Dias	FC (bpm)	FR (mpm)	MR (ciclos/2 min)	TC (°C)	PC (kg)
0	92 $\pm$ 12	20 $\pm$ 3	2 $\pm$ 0	37,8 $\pm$ 0,5	44,9 $\pm$ 6,1
1	94 $\pm$ 16	20 $\pm$ 5	2 $\pm$ 1	37,4 $\pm$ 0,7	
2	100 $\pm$ 19	18 $\pm$ 4	2 $\pm$ 0	37,6 $\pm$ 1,0	
3	91 $\pm$ 7	19 $\pm$ 2	2 $\pm$ 1	37,6 $\pm$ 0,5	
4	96 $\pm$ 8	21 $\pm$ 7	3 $\pm$ 1	38,3 $\pm$ 0,3	
5	110 $\pm$ 17	25 $\pm$ 7	2 $\pm$ 1	38,0 $\pm$ 0,4	
6	111 $\pm$ 11	19 $\pm$ 2	2 $\pm$ 1	38,2 $\pm$ 0,5	
7	104 $\pm$ 16	16 $\pm$ 3	2 $\pm$ 1	38,5 $\pm$ 0,8	40,0 $\pm$ 7,3
8	106 $\pm$ 17	18 $\pm$ 3	1 $\pm$ 1	38,2 $\pm$ 0,5	
9	97 $\pm$ 5	15 $\pm$ 2	2 $\pm$ 1	38,2 $\pm$ 0,3	
10	100 $\pm$ 13	16 $\pm$ 3	2 $\pm$ 1	38,1 $\pm$ 0,4	
11	101 $\pm$ 20	17 $\pm$ 2	1 $\pm$ 1	37,9 $\pm$ 0,4	
12	93 $\pm$ 14	15 $\pm$ 3	2 $\pm$ 1	37,2 $\pm$ 0,7	
13	100 $\pm$ 14	13 $\pm$ 2	2 $\pm$ 1	37,8 $\pm$ 0,5	
14	101 $\pm$ 12	17 $\pm$ 3	2 $\pm$ 1	38,2 $\pm$ 0,8	41,2 $\pm$ 4,9
16	103 $\pm$ 10	15 $\pm$ 4	2 $\pm$ 1	37,4 $\pm$ 0,7	
18	104 $\pm$ 15	19 $\pm$ 2	2 $\pm$ 1	38,1 $\pm$ 0,4	
20	107 $\pm$ 8	19 $\pm$ 4	2 $\pm$ 1	37,6 $\pm$ 0,6	
22	101 $\pm$ 18	18 $\pm$ 2	3 $\pm$ 1	37,5 $\pm$ 0,7	44,7 $\pm$ 6,6
24	104 $\pm$ 10	19 $\pm$ 2	2 $\pm$ 1	37,9 $\pm$ 0,6	
26	103 $\pm$ 13	18 $\pm$ 2	2 $\pm$ 0	38,0 $\pm$ 0,4	
28	100 $\pm$ 10	18 $\pm$ 2	2 $\pm$ 1	38,1 $\pm$ 0,7	47,5 $\pm$ 6,0
35	99 $\pm$ 9	20 $\pm$ 6	2 $\pm$ 1	37,7 $\pm$ 0,9	49,4 $\pm$ 6,3
42	105 $\pm$ 23	22 $\pm$ 5	2 $\pm$ 1	38,0 $\pm$ 0,5	50,0 $\pm$ 6,3
49	100 $\pm$ 14	18 $\pm$ 3	2 $\pm$ 1	37,5 $\pm$ 0,8	50,7 $\pm$ 6,9
56	104 $\pm$ 20	21 $\pm$ 4	2 $\pm$ 1	38,4 $\pm$ 0,8	50,9 $\pm$ 6,8
63	94 $\pm$ 11	23 $\pm$ 4	2 $\pm$ 0	38,4 $\pm$ 0,3	53,1 $\pm$ 6,2
70	96 $\pm$ 14	24 $\pm$ 6	2 $\pm$ 0	38,5 $\pm$ 0,6	54,0 $\pm$ 7,8
77	101 $\pm$ 17	22 $\pm$ 4	1 $\pm$ 0	37,8 $\pm$ 0,4	55,4 $\pm$ 7,0
84	93 $\pm$ 21	22 $\pm$ 3	1 $\pm$ 1	37,9 $\pm$ 0,5	56,0 $\pm$ 7,2
91	91 $\pm$ 11	25 $\pm$ 7	1 $\pm$ 1	38,6 $\pm$ 0,3	57,4 $\pm$ 7,3
98	90 $\pm$ 8	30 $\pm$ 14	2 $\pm$ 1	38,2 $\pm$ 0,3	58,1 $\pm$ 7,1
105	99 $\pm$ 18	29 $\pm$ 8	2 $\pm$ 1	38,5 $\pm$ 0,4	58,0 $\pm$ 7,4
112	94 $\pm$ 14	25 $\pm$ 5	1 $\pm$ 0	38,0 $\pm$ 0,2	58,8 $\pm$ 6,6
119	90 $\pm$ 8	22 $\pm$ 3	2 $\pm$ 1	38,2 $\pm$ 0,2	58,9 $\pm$ 7,2
126	95 $\pm$ 13	26 $\pm$ 5	1 $\pm$ 0	38,3 $\pm$ 0,6	59,8 $\pm$ 6,7
133	78 $\pm$ 12	25 $\pm$ 6	1 $\pm$ 1	38,3 $\pm$ 0,6	59,8 $\pm$ 8,5
CV	12,75	21,68	40,46	1,43	12,58

FC – frequência cardíaca (batimentos por minuto), FR – frequência respiratória (movimentos por minuto), MR – movimentos ruminais (ciclos/2 minutos), TC – temperatura corporal (°C), PC – peso corporal.

Dia 0 (controle): média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta.

O EC médio antes da indução foi quatro, passando a ser considerado cinco (máximo) a partir da nona semana. Houve 10,8% de diminuição do PC médio na primeira semana, sem significância estatística, o qual aumentou posteriormente até superar o controle na quarta semana, terminando com elevação de 33,2% (Tabela 1).

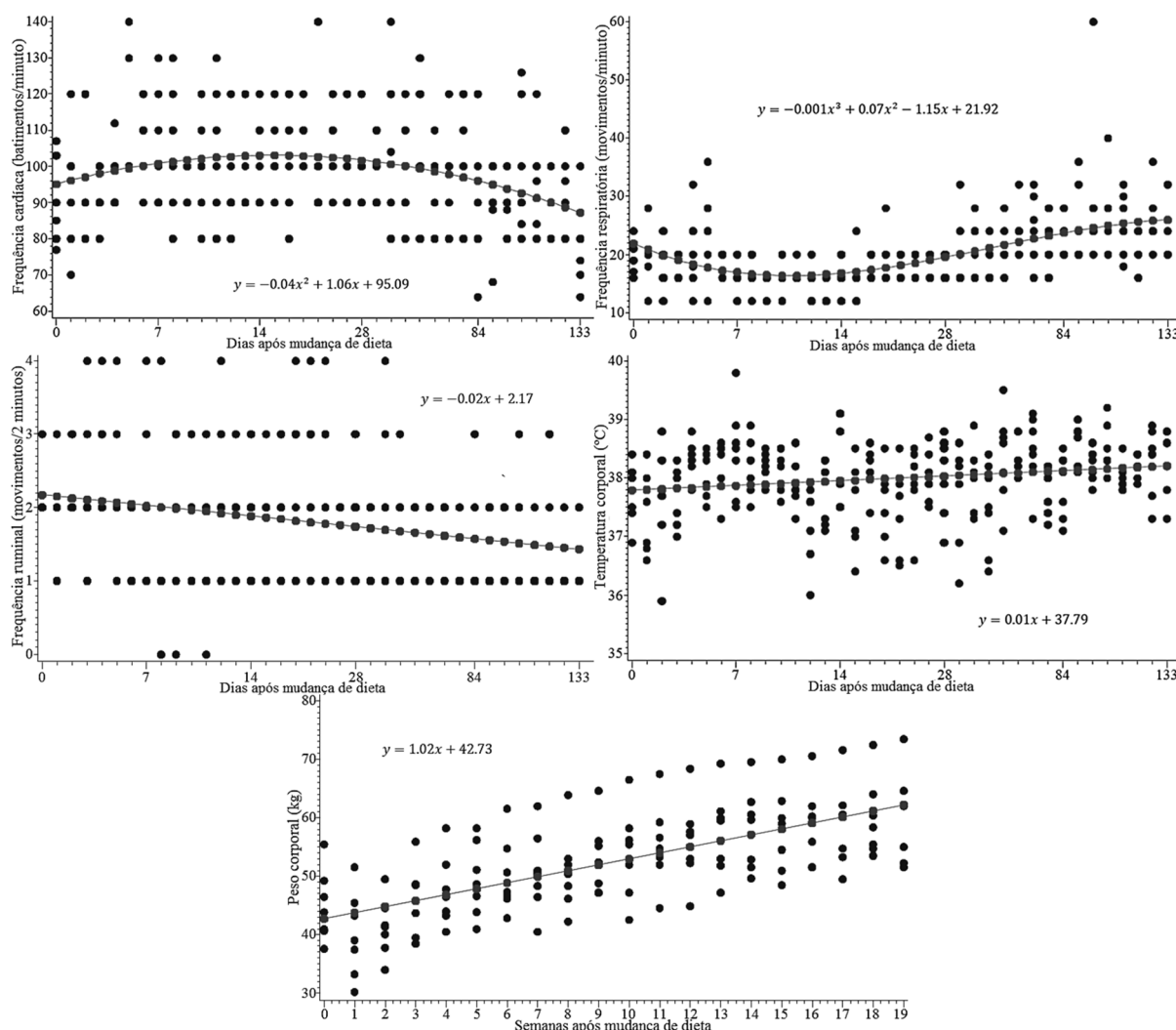


Figura 3. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e as variáveis da avaliação clínica de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas. Dia 0 (controle): média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta.

A hidratação corporal manteve-se dentro da normalidade, exceto por quatro ocorrências de desidratação leve entre o sexto e nono dias. As mucosas mantiveram-se normocrômicas. Foram observados quatro episódios de apatia, coincidindo com o período de maior ocorrência de diarreia e dor podal. A observação de diarreia (Figura 4) se iniciou no quarto dia e cessou 22 dias após a indução. Os sinais de laminite começaram no quinto dia pós-indução, aumentando sua ocorrência até o 18º dia, quando diminuiu até zerar no 24º dia. Após esta fase, os sinais de laminite e diarreia tiveram ocorrência esporádica até a 13ª semana pós-indução, a partir da qual não foram mais observados (Figura 5).

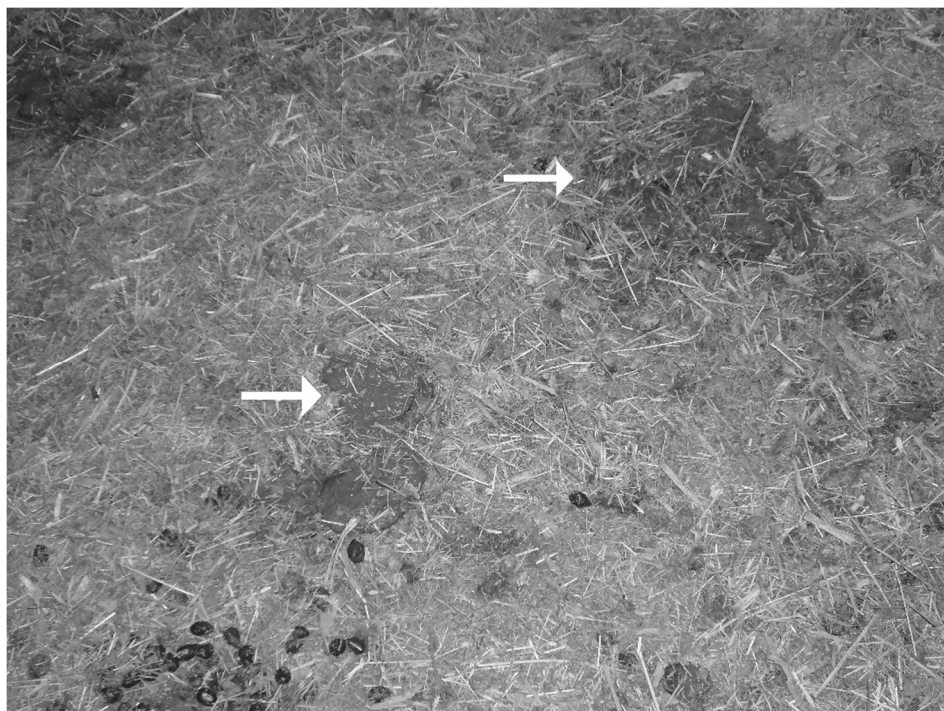


Figura 4. Fezes de ovinos com diarreia (seta) durante o período de adaptação ao alimento concentrado.

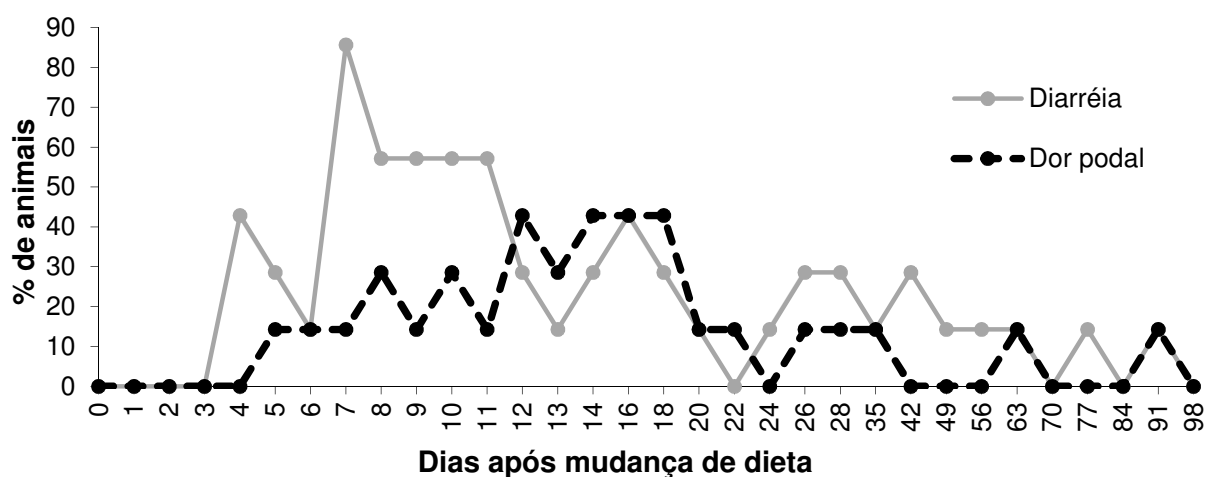


Figura 5. Porcentagem de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês, recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas, com sinais de diarreia e dor podal. Controle: média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta.

3.2 Análise do fluido ruminal

Os valores das variáveis obtidas do fluido ruminal encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2. Média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação (CV) dos tempos de sedimentação e flotação e de redução do azul de metileno (segundos - s) de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas

Dias	Tempo de sedimentação e flotação (s)	Tempo de redução do azul de metileno (s)
0	73 $\pm$ 34	74 $\pm$ 27
1	69 $\pm$ 36	81 $\pm$ 32
2	70 $\pm$ 28	56 $\pm$ 18
3	71 $\pm$ 31	51 $\pm$ 7
4	54 $\pm$ 36	44 $\pm$ 24
5	71 $\pm$ 35	54 $\pm$ 19
6	69 $\pm$ 51	64 $\pm$ 33
7	52 $\pm$ 21	220 $\pm$ 309
8	46 $\pm$ 9	58 $\pm$ 29
9	100 $\pm$ 57	52 $\pm$ 23
10	81 $\pm$ 45	74 $\pm$ 47
11	60 $\pm$ 36	61 $\pm$ 46
12	93 $\pm$ 73	89 $\pm$ 69
13	190 $\pm$ 314	68 $\pm$ 51
14	292 $\pm$ 415	46 $\pm$ 35
16	90 $\pm$ 24	43 $\pm$ 13
18	107 $\pm$ 93	64 $\pm$ 53
20	74 $\pm$ 26	59 $\pm$ 4
22	107 $\pm$ 83	38 $\pm$ 11
24	44 $\pm$ 16	31 $\pm$ 7
26	54 $\pm$ 28	33 $\pm$ 16
28	77 $\pm$ 26	36 $\pm$ 15
35	40 $\pm$ 19	40 $\pm$ 15
42	32 $\pm$ 15	33 $\pm$ 28
49	49 $\pm$ 15	42 $\pm$ 12
56	109 $\pm$ 46	48 $\pm$ 20
63	83 $\pm$ 67	45 $\pm$ 13
70	91 $\pm$ 102	51 $\pm$ 17
77	41 $\pm$ 19	35 $\pm$ 13
84	49 $\pm$ 23	40 $\pm$ 25
91	29 $\pm$ 16	31 $\pm$ 15
98	35 $\pm$ 25	35 $\pm$ 16
105	26 $\pm$ 6	19 $\pm$ 2
112	37 $\pm$ 24	25 $\pm$ 9
119	31 $\pm$ 13	29 $\pm$ 12
126	31 $\pm$ 12	35 $\pm$ 19
133	185 $\pm$ 351	38 $\pm$ 13
CV	142,24	108,82

Dia 0 (controle): média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta.

O tempo de redução do azul de metileno diminuiu durante o período de observação ($P < 0,0001$). O tempo de sedimentação e flotação se elevou nos primeiros 12 dias, e diminuiu após este período ($P \leq 0,05$) (Figura 6). O tempo de sedimentação se correlacionou com o de redução do azul de metileno ($P \leq 0,05$; $r = 0,14$).

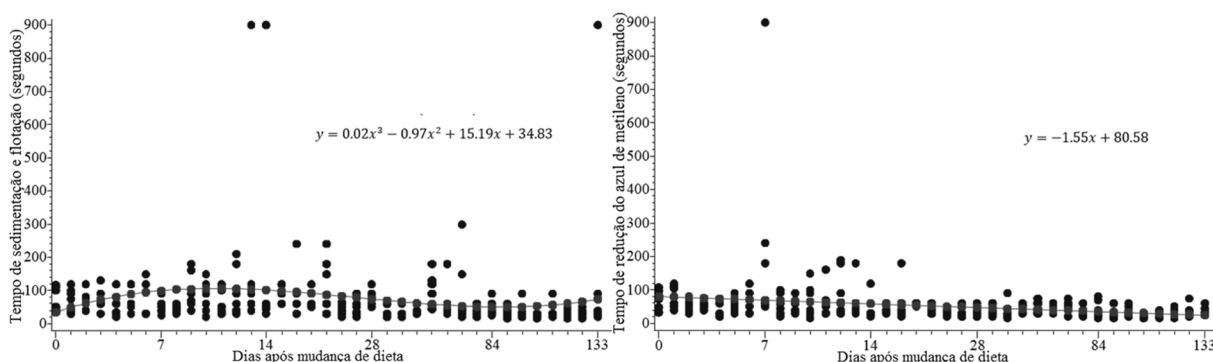


Figura 6. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e as variáveis do fluido ruminal de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas. Dia 0 (controle): média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta.

O fluido ruminal manteve-se líquido, com algumas ocorrências de consistência viscosa a partir do quarto dia. O odor do fluido ruminal, que era característico, passou a ser predominantemente ácido a partir do quarto dia do período experimental (Figura 7).

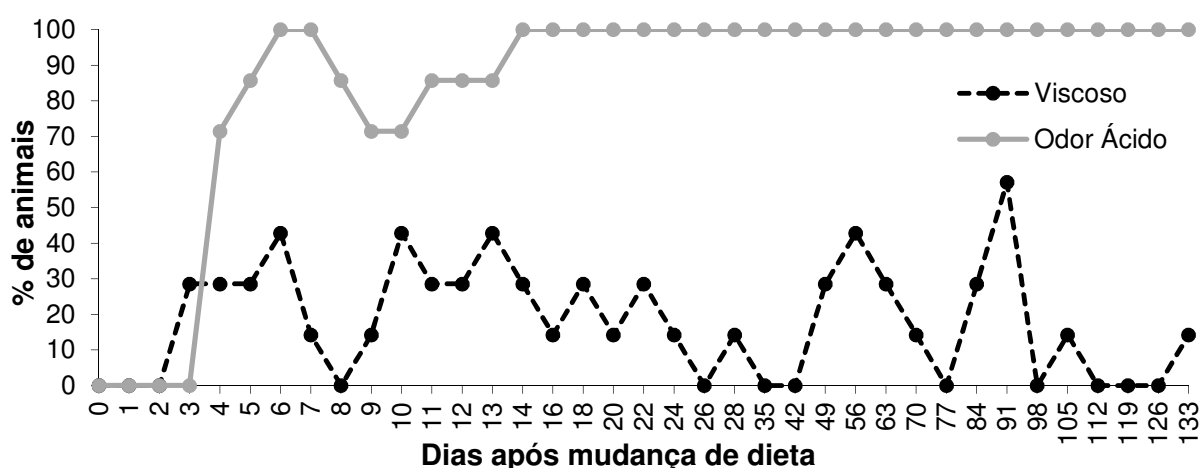


Figura 7. Porcentagem de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas, com fluido ruminal viscoso e com odor ácido. Controle: média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta.

A coloração do fluido ruminal antes do início do fornecimento de alimento concentrado era verde oliva (Figura 8-A) e manteve-se dessa forma até o terceiro dia experimental, em todos os animais (Figura 9). Posteriormente, aumentou a frequência de coloração verde amarelada (Figura 8-B), a qual foi gradativamente substituída pela amarelada (Figura 8-C), que predominou a partir do 18º dia experimental (Figura 8).

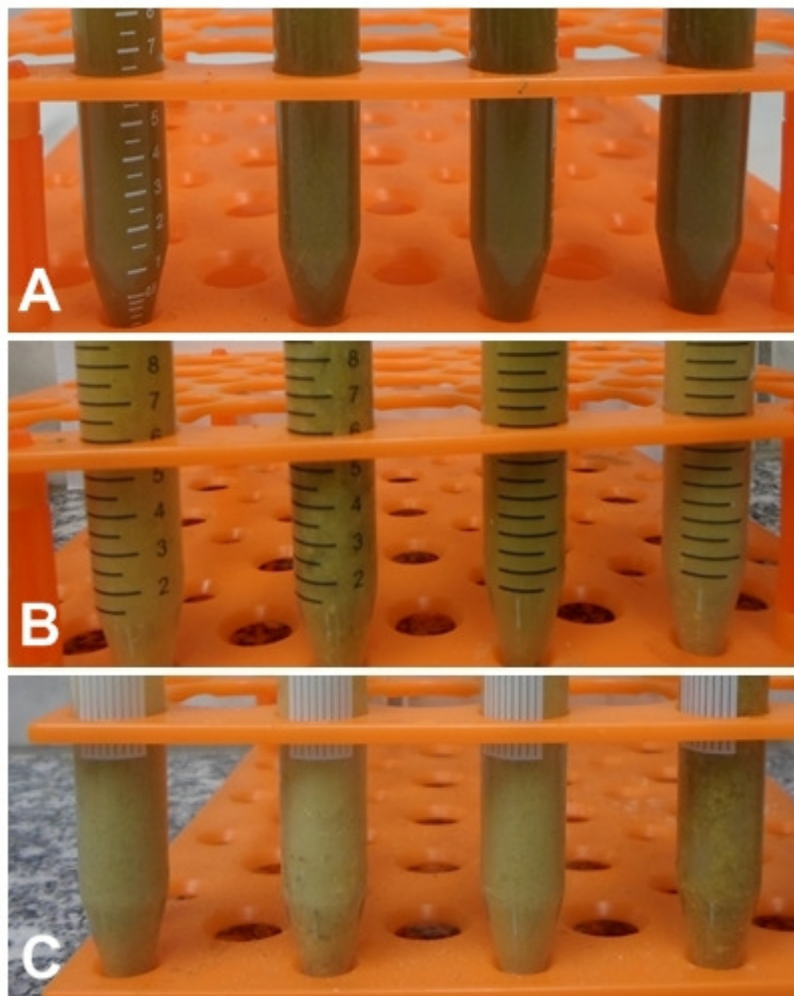


Figura 8. Fluido ruminal de ovinos induzidos à acidose ruminal por ingestão de alta proporção de alimento concentrado: verde oliva (A), verde amarelado (B) e amarelado (C).

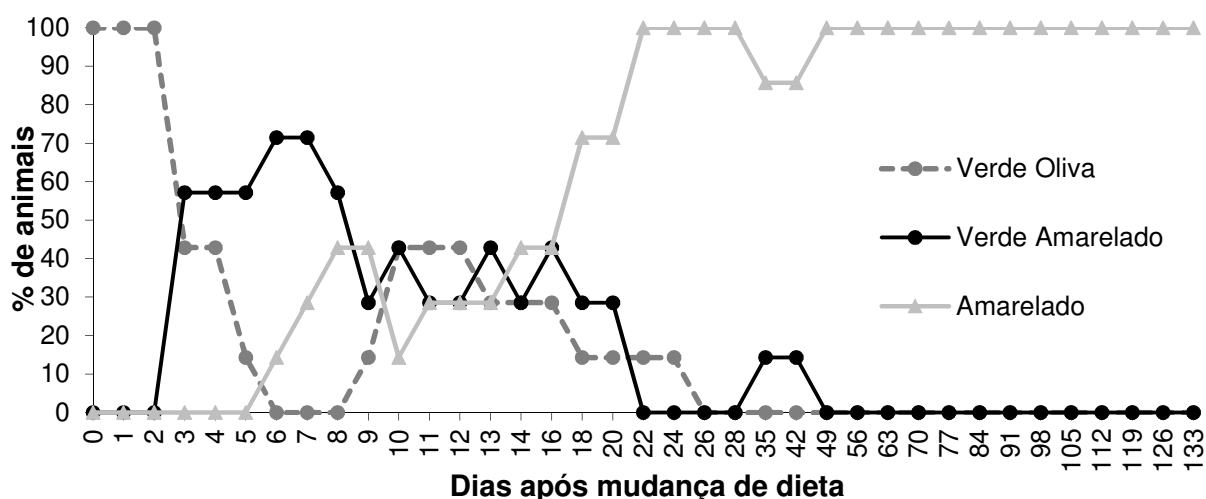


Figura 9. Porcentagem de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas, com diferentes colorações de fluido ruminal. Controle: média das colheitas 15 dias, sete dias e imediatamente antes do início de fornecimento de alimento concentrado.

3.3 Hemograma

Os resultados hematológicos encontram-se nas Tabelas 3 e 4.

As contagens de leucócitos, basófilos e neutrófilos bastonetes não apresentaram associação com o tempo ($P > 0,05$).

A contagem de eosinófilos se elevou durante o período ($P < 0,0001$). As médias de neutrófilos segmentados demonstraram leve aumento nos primeiros 16 dias, com subsequente redução ($P < 0,05$), enquanto a curva de linfócitos mostrou comportamento oposto ($P < 0,001$). A contagem de plaquetas aumentou até a quarta semana, então diminuiu ($P < 0,0001$). As curvas de hemácias ($P < 0,01$), hemoglobina ($P < 0,001$), volume globular ($P < 0,0001$) e monócitos ($P < 0,001$) declinaram até entre o nono e o décimo primeiro dia experimental, seguidas por aumento (Figura 10).

Na Tabela 5 pode-se observar que a maioria das correlações significativas entre as variáveis hematológicas foram fracas, com exceção das correlações entre neutrófilos segmentados e leucócitos ($r = 0,86$), hemácias e hemoglobina ($r = 0,88$), hemácias e volume globular ($r = 0,93$), hemoglobina e volume globular ($r = 0,91$), que foram fortes.

Tabela 3. Média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação (CV) das variáveis hematológicas de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas

Dia	Hemácias ($\times 10^{12}/L$)	Volume globular (L/L)	Hemoglobina (g/L)	Plaquetas ($\times 10^9/L$)	Leucócitos ($\times 10^9/L$)
0	11,10 $\pm$ 2,11	0,334 $\pm$ 0,064	89 $\pm$ 17	456 $\pm$ 235	5,53 $\pm$ 1,81
1	11,17 $\pm$ 2,65	0,331 $\pm$ 0,078	88 $\pm$ 24	469 $\pm$ 154	5,46 $\pm$ 1,60
2	11,12 $\pm$ 2,42	0,331 $\pm$ 0,069	88 $\pm$ 21	537 $\pm$ 189	5,27 $\pm$ 1,86
3	10,37 $\pm$ 1,97	0,307 $\pm$ 0,051	82 $\pm$ 18	488 $\pm$ 173	5,71 $\pm$ 1,46
4	9,70 $\pm$ 1,64	0,286 $\pm$ 0,037	76 $\pm$ 14	399 $\pm$ 83	5,50 $\pm$ 2,74
5	9,58 $\pm$ 1,55	0,283 $\pm$ 0,042	77 $\pm$ 13	412 $\pm$ 97	5,74 $\pm$ 1,99
6	9,47 $\pm$ 1,70	0,280 $\pm$ 0,047	76 $\pm$ 16	500 $\pm$ 161	5,44 $\pm$ 2,33
7	9,71 $\pm$ 0,93	0,288 $\pm$ 0,028	78 $\pm$ 10	457 $\pm$ 172	5,93 $\pm$ 1,06
8	9,62 $\pm$ 1,61	0,285 $\pm$ 0,052	77 $\pm$ 13	547 $\pm$ 108	5,82 $\pm$ 1,24
9	9,89 $\pm$ 1,67	0,292 $\pm$ 0,048	80 $\pm$ 13	604 $\pm$ 139	5,49 $\pm$ 1,84
10	9,77 $\pm$ 1,51	0,286 $\pm$ 0,035	79 $\pm$ 11	595 $\pm$ 216	5,71 $\pm$ 2,47
11	9,90 $\pm$ 1,60	0,291 $\pm$ 0,041	80 $\pm$ 11	628 $\pm$ 239	5,79 $\pm$ 2,40
12	10,51 $\pm$ 1,64	0,310 $\pm$ 0,040	84 $\pm$ 10	620 $\pm$ 175	5,90 $\pm$ 1,79
13	9,52 $\pm$ 1,33	0,279 $\pm$ 0,033	77 $\pm$ 08	698 $\pm$ 188	5,94 $\pm$ 2,31
14	9,67 $\pm$ 1,66	0,286 $\pm$ 0,044	78 $\pm$ 12	636 $\pm$ 253	5,74 $\pm$ 2,30
16	9,97 $\pm$ 1,51	0,301 $\pm$ 0,038	81 $\pm$ 08	796 $\pm$ 272	6,00 $\pm$ 1,47
18	9,57 $\pm$ 1,39	0,292 $\pm$ 0,036	78 $\pm$ 09	791 $\pm$ 227	6,26 $\pm$ 3,67
20	9,73 $\pm$ 1,30	0,304 $\pm$ 0,032	80 $\pm$ 08	624 $\pm$ 257	5,99 $\pm$ 1,61
22	9,78 $\pm$ 1,39	0,308 $\pm$ 0,032	81 $\pm$ 0,9	683 $\pm$ 316	5,47 $\pm$ 1,80
24	9,48 $\pm$ 1,63	0,300 $\pm$ 0,040	79 $\pm$ 08	682 $\pm$ 364	5,26 $\pm$ 1,84
26	9,59 $\pm$ 1,35	0,307 $\pm$ 0,028	80 $\pm$ 06	632 $\pm$ 366	5,44 $\pm$ 1,77
28	9,60 $\pm$ 1,56	0,310 $\pm$ 0,035	81 $\pm$ 06	698 $\pm$ 300	5,46 $\pm$ 1,51
35	10,55 $\pm$ 1,19	0,344 $\pm$ 0,036	88 $\pm$ 08	722 $\pm$ 312	5,44 $\pm$ 1,93
42	10,41 $\pm$ 1,01	0,338 $\pm$ 0,027	86 $\pm$ 09	618 $\pm$ 218	5,33 $\pm$ 2,02
49	11,07 $\pm$ 1,74	0,356 $\pm$ 0,056	92 $\pm$ 13	623 $\pm$ 319	6,39 $\pm$ 1,97
56	10,75 $\pm$ 1,40	0,342 $\pm$ 0,044	89 $\pm$ 09	643 $\pm$ 250	5,70 $\pm$ 1,98
63	11,03 $\pm$ 1,48	0,357 $\pm$ 0,042	91 $\pm$ 10	597 $\pm$ 204	6,44 $\pm$ 2,58
70	11,88 $\pm$ 1,44	0,375 $\pm$ 0,045	97 $\pm$ 08	611 $\pm$ 283	5,76 $\pm$ 1,56
77	11,18 $\pm$ 1,02	0,357 $\pm$ 0,034	91 $\pm$ 06	625 $\pm$ 243	5,21 $\pm$ 1,53
84	11,67 $\pm$ 1,03	0,373 $\pm$ 0,033	95 $\pm$ 05	623 $\pm$ 216	5,57 $\pm$ 1,71
91	11,61 $\pm$ 2,17	0,363 $\pm$ 0,063	93 $\pm$ 14	503 $\pm$ 212	5,21 $\pm$ 1,84
98	11,09 $\pm$ 1,39	0,348 $\pm$ 0,042	90 $\pm$ 07	600 $\pm$ 155	5,80 $\pm$ 2,13
105	11,15 $\pm$ 1,69	0,346 $\pm$ 0,053	91 $\pm$ 09	597 $\pm$ 187	6,20 $\pm$ 3,39
112	11,69 $\pm$ 1,69	0,361 $\pm$ 0,054	95 $\pm$ 08	607 $\pm$ 239	5,70 $\pm$ 2,51
119	11,49 $\pm$ 2,04	0,355 $\pm$ 0,063	93 $\pm$ 11	571 $\pm$ 210	5,89 $\pm$ 2,38
126	11,63 $\pm$ 2,48	0,360 $\pm$ 0,073	93 $\pm$ 14	523 $\pm$ 165	5,20 $\pm$ 1,17
133	11,30 $\pm$ 2,04	0,347 $\pm$ 0,057	92 $\pm$ 11	496 $\pm$ 142	5,38 $\pm$ 1,45
CV	12,41	12,30	11,45	32,04	24,62

Dia 0 (controle): média das colheitas obtidas 15 dias, sete dias e imediatamente antes do início de fornecimento de alimento concentrado.

Tabela 4. Média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação (CV) da contagem diferencial de leucócitos de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas

Dia	Eosinófilos (x10 ⁹ /L)	Basófilos (x10 ⁹ /L)	Neutrófilos bastonetes (x10 ⁹ /L)	Neutrófilos segmentados (x10 ⁹ /L)	Linfócitos (x10 ⁹ /L)	Monócitos (x10 ⁹ /L)
0	0,15 $\pm$ 0,13	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,01	2,33 $\pm$ 0,64	2,98 $\pm$ 1,36	0,06 $\pm$ 0,03
1	0,09 $\pm$ 0,06	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	2,74 $\pm$ 1,08	2,58 $\pm$ 0,75	0,05 $\pm$ 0,03
2	0,03 $\pm$ 0,05	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	2,54 $\pm$ 1,19	2,68 $\pm$ 0,90	0,05 $\pm$ 0,05
3	0,06 $\pm$ 0,05	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	2,91 $\pm$ 2,87	2,68 $\pm$ 1,07	0,06 $\pm$ 0,04
4	0,07 $\pm$ 0,06	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	2,92 $\pm$ 1,97	2,48 $\pm$ 0,94	0,03 $\pm$ 0,03
5	0,12 $\pm$ 0,09	0,00 $\pm$ 0,00	0,03 $\pm$ 0,04	3,13 $\pm$ 1,72	2,39 $\pm$ 0,76	0,07 $\pm$ 0,04
6	0,09 $\pm$ 0,06	0,00 $\pm$ 0,00	0,01 $\pm$ 0,01	3,08 $\pm$ 1,79	2,21 $\pm$ 1,12	0,06 $\pm$ 0,03
7	0,12 $\pm$ 0,13	0,00 $\pm$ 0,00	0,01 $\pm$ 0,02	3,39 $\pm$ 0,92	2,37 $\pm$ 0,76	0,05 $\pm$ 0,04
8	0,11 $\pm$ 0,09	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 1,34	2,67 $\pm$ 0,93	0,04 $\pm$ 0,03
9	0,15 $\pm$ 0,14	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	2,86 $\pm$ 1,45	2,43 $\pm$ 1,00	0,05 $\pm$ 0,03
10	0,11 $\pm$ 0,13	0,00 $\pm$ 0,00	0,01 $\pm$ 0,03	3,03 $\pm$ 1,78	2,54 $\pm$ 1,18	0,02 $\pm$ 0,04
11	0,13 $\pm$ 0,13	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	3,36 $\pm$ 1,89	2,23 $\pm$ 0,84	0,06 $\pm$ 0,04
12	0,11 $\pm$ 0,10	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	3,39 $\pm$ 1,08	2,36 $\pm$ 0,86	0,04 $\pm$ 0,05
13	0,12 $\pm$ 0,09	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,01	3,64 $\pm$ 1,69	2,13 $\pm$ 0,93	0,05 $\pm$ 0,03
14	0,18 $\pm$ 0,16	0,00 $\pm$ 0,00	0,01 $\pm$ 0,02	3,33 $\pm$ 1,53	2,19 $\pm$ 1,12	0,03 $\pm$ 0,03
16	0,19 $\pm$ 0,13	0,00 $\pm$ 0,00	0,01 $\pm$ 0,02	3,18 $\pm$ 1,09	2,58 $\pm$ 0,96	0,04 $\pm$ 0,03
18	0,06 $\pm$ 0,09	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	2,69 $\pm$ 2,97	1,68 $\pm$ 1,52	0,04 $\pm$ 0,05
20	0,32 $\pm$ 0,38	0,01 $\pm$ 0,03	0,02 $\pm$ 0,03	3,35 $\pm$ 1,61	2,25 $\pm$ 0,27	0,06 $\pm$ 0,04
22	0,31 $\pm$ 0,45	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	2,85 $\pm$ 1,19	2,27 $\pm$ 0,82	0,04 $\pm$ 0,03
24	0,39 $\pm$ 0,50	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	2,65 $\pm$ 1,50	2,19 $\pm$ 0,59	0,03 $\pm$ 0,03
26	0,24 $\pm$ 0,23	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	2,84 $\pm$ 1,16	2,29 $\pm$ 0,65	0,07 $\pm$ 0,04
28	0,13 $\pm$ 0,08	0,00 $\pm$ 0,00	0,01 $\pm$ 0,02	3,09 $\pm$ 1,26	2,07 $\pm$ 0,70	0,13 $\pm$ 0,09
35	0,21 $\pm$ 0,13	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	2,66 $\pm$ 1,30	2,54 $\pm$ 1,40	0,05 $\pm$ 0,04
42	0,13 $\pm$ 0,09	0,00 $\pm$ 0,00	0,02 $\pm$ 0,04	2,75 $\pm$ 1,42	2,35 $\pm$ 1,02	0,08 $\pm$ 0,09
49	0,19 $\pm$ 0,09	0,00 $\pm$ 0,00	0,01 $\pm$ 0,03	3,63 $\pm$ 2,04	2,47 $\pm$ 1,14	0,09 $\pm$ 0,03
56	0,14 $\pm$ 0,10	0,00 $\pm$ 0,00	0,01 $\pm$ 0,03	3,06 $\pm$ 1,52	2,44 $\pm$ 0,62	0,05 $\pm$ 0,04
63	0,27 $\pm$ 0,18	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	3,22 $\pm$ 2,20	2,87 $\pm$ 1,64	0,08 $\pm$ 0,06
70	0,31 $\pm$ 0,22	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	2,68 $\pm$ 1,18	2,67 $\pm$ 0,97	0,09 $\pm$ 0,08
77	0,27 $\pm$ 0,26	0,00 $\pm$ 0,00	0,01 $\pm$ 0,02	2,15 $\pm$ 0,75	2,71 $\pm$ 1,36	0,08 $\pm$ 0,06
84	0,22 $\pm$ 0,11	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	2,66 $\pm$ 1,33	2,63 $\pm$ 0,82	0,06 $\pm$ 0,05
91	0,27 $\pm$ 0,19	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	2,34 $\pm$ 1,77	2,56 $\pm$ 0,89	0,05 $\pm$ 0,04
98	0,38 $\pm$ 0,29	0,00 $\pm$ 0,00	0,01 $\pm$ 0,01	2,65 $\pm$ 1,68	2,87 $\pm$ 1,07	0,11 $\pm$ 0,03
105	0,32 $\pm$ 0,22	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,01	2,71 $\pm$ 2,70	3,10 $\pm$ 0,96	0,07 $\pm$ 0,10
112	0,43 $\pm$ 0,37	0,00 $\pm$ 0,00	0,01 $\pm$ 0,04	2,33 $\pm$ 2,22	2,85 $\pm$ 1,22	0,08 $\pm$ 0,04
119	0,25 $\pm$ 0,20	0,00 $\pm$ 0,00	0,02 $\pm$ 0,04	2,74 $\pm$ 2,43	2,83 $\pm$ 1,02	0,04 $\pm$ 0,05
126	0,23 $\pm$ 0,15	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	1,81 $\pm$ 1,11	3,12 $\pm$ 0,96	0,04 $\pm$ 0,03
133	0,24 $\pm$ 0,18	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	2,19 $\pm$ 0,99	2,91 $\pm$ 0,96	0,04 $\pm$ 0,05
CV	100,27	1.606,84	331,83	42,94	22,95	79,27

Dia 0 (controle): média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta.

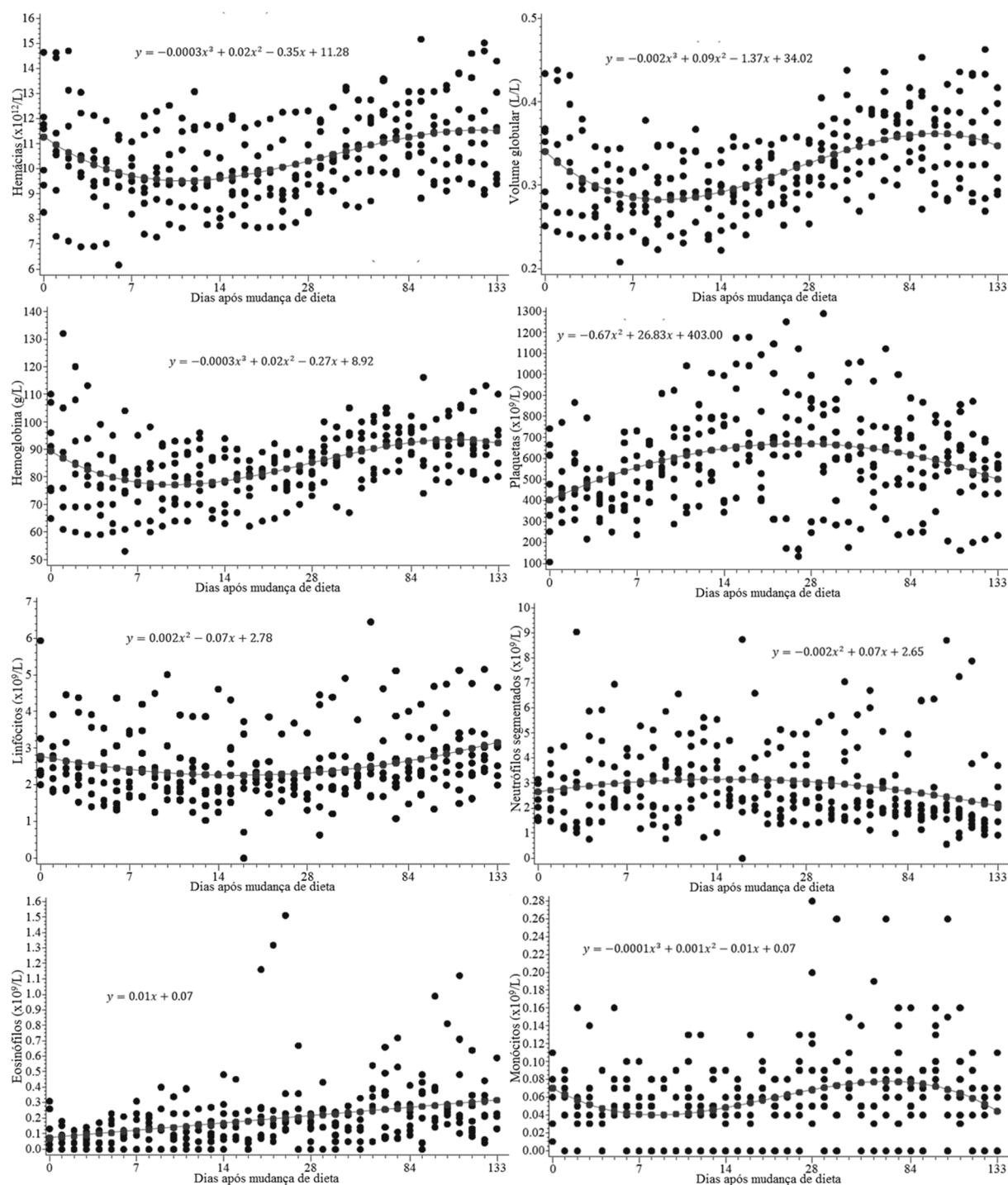


Figura 10. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e as variáveis hematológicas de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas. Dia 0 (controle): média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta. As contagens de basófilos, neutrófilos bastonetes e leucócitos não mostraram associação com o tempo ($P > 0,05$).

Tabela 5. Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre as variáveis hematológicas de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas

	Hg	VG	Plaq	Eos	NB	NS	Linf	Mon
Leuc	0,24 c	0,02	0,15 a	0,12	0,17 b	0,86 d	0,58 d	0,35 d
He	0,88 d	0,93 d	-0,14 a	0,21 c	-0,07	-0,14 a	0,19 b	-0,02
Hg		0,91 d	-0,13 a	0,23 c	-0,05	0,06	0,34 d	0,09
VG			-0,12 a	0,25 d	-0,08	-0,15 a	0,22 c	0,04
Plaq				0,17 b	-0,02	0,05	0,09	0,02
Bas				0,29 d	0,21 c	0,01	-0,02	0,01
NB						0,23 c	-0,06	0,15 a
NS							0,14 a	0,34 d
Linf								0,13 a

Coeficientes seguidos por letras são significantes, como segue: a - $P < 0,05$, b - $P < 0,01$, c - $P < 0,001$, d - $P < 0,0001$.

Leuc – leucócitos, He – hemácias, Hg – hemoglobina, VG – volume globular, Plaq – plaquetas, Eos – eosinófilos, NB – neutrófilos bastonetes, NS – neutrófilos segmentados, Linf – linfócitos, Mon – monócitos, Bas – basófilos.

3.4 Bioquímica sérica

As atividades enzimáticas séricas obtidas encontram-se na Tabela 6, os níveis de eletrólitos sanguíneos na Tabela 7 e os valores dos metabólitos sanguíneos na Tabela 8.

Tabela 6. Média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação (CV) das atividades de enzimas séricas de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas

Dia	AST (U/L)	FA (U/L)	LDH (U/L)	GGT (U/L)	CK (U/L)
0	121,73 $\pm$ 75,48	75,22 $\pm$ 9,90	853,4 $\pm$ 224,0	45,17 $\pm$ 5,84	158,86 $\pm$ 100,79
1	110,76 $\pm$ 39,35	79,37 $\pm$ 12,54	926,3 $\pm$ 222,3	43,71 $\pm$ 10,56	236,13 $\pm$ 147,24
2	121,98 $\pm$ 51,20	73,44 $\pm$ 13,05	988,6 $\pm$ 201,0	46,99 $\pm$ 10,29	308,44 $\pm$ 190,19
3	127,21 $\pm$ 74,48	73,44 $\pm$ 10,07	999,1 $\pm$ 239,7	48,09 $\pm$ 9,59	323,74 $\pm$ 350,62
4	151,12 $\pm$ 113,26	85,29 $\pm$ 10,39	1120,7 $\pm$ 414,0	48,09 $\pm$ 12,27	608,04 $\pm$ 822,11
5	159,39 $\pm$ 153,02	81,74 $\pm$ 17,54	1203,8 $\pm$ 696,9	56,83 $\pm$ 19,18	657,50 $\pm$ 1250,67
6	158,63 $\pm$ 164,84	84,11 $\pm$ 26,84	1136,7 $\pm$ 656,3	56,83 $\pm$ 17,02	539,42 $\pm$ 1097,00
7	157,89 $\pm$ 174,19	87,66 $\pm$ 23,39	1127,6 $\pm$ 648,0	63,39 $\pm$ 21,96	407,41 $\pm$ 725,02
8	160,89 $\pm$ 174,91	81,74 $\pm$ 31,93	1006,2 $\pm$ 416,3	63,39 $\pm$ 24,48	291,93 $\pm$ 410,87
9	163,89 $\pm$ 135,80	86,47 $\pm$ 46,62	922,7 $\pm$ 161,6	61,20 $\pm$ 14,65	288,38 $\pm$ 289,57
10	167,63 $\pm$ 119,08	90,03 $\pm$ 44,50	915,8 $\pm$ 201,1	60,11 $\pm$ 13,56	229,04 $\pm$ 149,14
11	181,84 $\pm$ 183,56	86,47 $\pm$ 46,62	874,2 $\pm$ 269,7	61,20 $\pm$ 15,92	180,25 $\pm$ 106,53
12	160,13 $\pm$ 151,59	92,40 $\pm$ 47,49	901,9 $\pm$ 240,5	59,01 $\pm$ 13,04	129,98 $\pm$ 47,91
13	160,89 $\pm$ 154,86	95,95 $\pm$ 53,92	933,2 $\pm$ 345,3	63,39 $\pm$ 16,36	116,95 $\pm$ 45,47
14	130,20 $\pm$ 104,12	94,77 $\pm$ 54,14	916,0 $\pm$ 403,5	63,39 $\pm$ 15,12	102,52 $\pm$ 44,23
16	133,20 $\pm$ 126,74	120,82 $\pm$ 73,04	825,7 $\pm$ 179,7	78,69 $\pm$ 42,98	117,74 $\pm$ 103,72
18	115,98 $\pm$ 75,52	130,23 $\pm$ 89,25	763,2 $\pm$ 156,0	81,96 $\pm$ 35,79	135,42 $\pm$ 82,10
20	111,51 $\pm$ 104,67	138,51 $\pm$ 71,25	763,2 $\pm$ 195,7	78,69 $\pm$ 33,55	124,71 $\pm$ 119,05
22	83,07 $\pm$ 47,49	136,22 $\pm$ 77,16	725,2 $\pm$ 161,8	72,13 $\pm$ 21,12	95,12 $\pm$ 34,68
24	79,30 $\pm$ 31,79	171,76 $\pm$ 103,54	721,6 $\pm$ 133,5	73,22 $\pm$ 27,53	139,72 $\pm$ 139,62
26	74,08 $\pm$ 20,38	176,49 $\pm$ 103,30	711,2 $\pm$ 138,6	74,31 $\pm$ 24,08	95,33 $\pm$ 53,23
28	71,07 $\pm$ 19,98	201,29 $\pm$ 80,67	718,1 $\pm$ 136,5	69,94 $\pm$ 16,19	79,39 $\pm$ 17,07
35	91,29 $\pm$ 59,48	162,27 $\pm$ 45,13	801,4 $\pm$ 227,9	65,57 $\pm$ 12,17	117,11 $\pm$ 45,88
42	87,55 $\pm$ 28,34	187,17 $\pm$ 63,11	850,1 $\pm$ 218,1	59,01 $\pm$ 11,36	217,61 $\pm$ 340,16
49	92,04 $\pm$ 47,13	208,47 $\pm$ 89,99	829,1 $\pm$ 211,9	55,74 $\pm$ 11,44	80,18 $\pm$ 40,94
56	99,53 $\pm$ 42,03	181,16 $\pm$ 57,96	818,8 $\pm$ 155,4	55,74 $\pm$ 12,27	84,23 $\pm$ 18,75
63	103,26 $\pm$ 54,24	185,99 $\pm$ 69,35	985,3 $\pm$ 338,1	60,11 $\pm$ 15,57	87,39 $\pm$ 20,29
70	103,26 $\pm$ 74,49	182,43 $\pm$ 53,75	919,4 $\pm$ 388,4	64,48 $\pm$ 13,14	99,02 $\pm$ 50,50
77	77,08 $\pm$ 27,34	183,60 $\pm$ 72,20	811,7 $\pm$ 253,0	54,64 $\pm$ 12,82	84,23 $\pm$ 28,26
84	92,79 $\pm$ 31,39	178,86 $\pm$ 77,33	894,7 $\pm$ 229,9	55,74 $\pm$ 11,44	77,05 $\pm$ 33,48
91	156,38 $\pm$ 58,51	181,26 $\pm$ 88,99	1019,9 $\pm$ 229,0	62,29 $\pm$ 8,18	91,85 $\pm$ 44,79
98	118,98 $\pm$ 51,74	175,23 $\pm$ 58,74	1006,2 $\pm$ 141,6	68,85 $\pm$ 11,69	88,15 $\pm$ 25,67
105	274,60 $\pm$ 438,03	167,13 $\pm$ 99,96	933,1 $\pm$ 217,5	73,22 $\pm$ 17,02	65,95 $\pm$ 29,14
112	117,48 $\pm$ 109,40	162,40 $\pm$ 82,99	804,9 $\pm$ 245,9	69,94 $\pm$ 18,44	98,59 $\pm$ 61,15
119	133,19 $\pm$ 106,30	188,34 $\pm$ 70,64	1020,0 $\pm$ 387,7	78,69 $\pm$ 46,49	88,15 $\pm$ 36,46
126	127,96 $\pm$ 83,69	165,86 $\pm$ 42,00	1030,3 $\pm$ 314,5	76,50 $\pm$ 39,50	73,56 $\pm$ 35,18
133	130,95 $\pm$ 85,23	171,27 $\pm$ 48,00	1072,7 $\pm$ 377,8	86,71 $\pm$ 43,74	68,30 $\pm$ 12,91
CV	85,12	38,77	31,76	1.020,82	177,72

AST – aspartato aminotransferase, FA – fosfatase alcalina, LDH - lactato desidrogenase, GGT – gama glutamiltransferase, CK – creatina quinase. Dia 0 (controle): média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta.

Tabela 7. Média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação (CV) dos eletrólitos sanguíneos de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas

Dia	Cálcio (mg/dL)	Fósforo (mg/dL)	Magnésio (mg/dL)	Sódio (mmol/L)	Potássio (mmol/L)	Cálcio ionizado (mmol/L)	Cloretos (mmol/L)
0	8,40 $\pm$ 0,77	5,28 $\pm$ 0,70	2,22 $\pm$ 0,24	143,8 $\pm$ 1,7	4,74 $\pm$ 0,32	1,239 $\pm$ 0,113	105,7 $\pm$ 4,9
1	8,68 $\pm$ 1,21	5,30 $\pm$ 1,20	2,17 $\pm$ 0,25	143,0 $\pm$ 2,6	5,33 $\pm$ 0,94	1,235 $\pm$ 0,188	105,5 $\pm$ 6,8
2	8,98 $\pm$ 0,89	4,94 $\pm$ 1,32	2,17 $\pm$ 0,22	142,9 $\pm$ 2,8	4,90 $\pm$ 0,61	1,272 $\pm$ 0,183	103,2 $\pm$ 5,7
3	8,30 $\pm$ 0,81	4,95 $\pm$ 1,13	2,19 $\pm$ 0,26	140,4 $\pm$ 2,3	4,93 $\pm$ 0,91	1,192 $\pm$ 0,165	101,0 $\pm$ 5,6
4	8,08 $\pm$ 0,56	5,08 $\pm$ 1,07	2,17 $\pm$ 0,14	140,4 $\pm$ 1,7	5,13 $\pm$ 0,98	1,188 $\pm$ 0,142	102,3 $\pm$ 3,2
5	8,04 $\pm$ 0,61	4,76 $\pm$ 1,24	2,13 $\pm$ 0,21	142,8 $\pm$ 2,5	4,52 $\pm$ 0,70	1,240 $\pm$ 0,110	104,2 $\pm$ 4,7
6	7,99 $\pm$ 0,72	4,75 $\pm$ 1,04	2,21 $\pm$ 0,31	142,2 $\pm$ 2,2	4,53 $\pm$ 0,56	1,239 $\pm$ 0,134	107,7 $\pm$ 3,4
7	8,15 $\pm$ 1,23	4,85 $\pm$ 0,56	2,24 $\pm$ 0,28	141,7 $\pm$ 2,7	5,91 $\pm$ 3,35	1,245 $\pm$ 0,209	108,6 $\pm$ 6,0
8	8,06 $\pm$ 1,33	5,42 $\pm$ 1,71	2,30 $\pm$ 0,31	139,5 $\pm$ 4,5	5,21 $\pm$ 1,78	1,200 $\pm$ 0,194	109,5 $\pm$ 5,2
9	8,43 $\pm$ 0,63	4,79 $\pm$ 2,07	2,58 $\pm$ 0,16	141,8 $\pm$ 2,4	5,08 $\pm$ 2,36	1,219 $\pm$ 0,219	109,6 $\pm$ 5,1
10	8,23 $\pm$ 0,50	4,21 $\pm$ 1,23	2,39 $\pm$ 0,24	140,8 $\pm$ 2,0	4,63 $\pm$ 0,51	1,291 $\pm$ 0,159	108,5 $\pm$ 2,7
11	8,08 $\pm$ 0,46	4,26 $\pm$ 0,81	2,31 $\pm$ 0,41	141,6 $\pm$ 2,3	4,24 $\pm$ 0,27	1,370 $\pm$ 0,169	108,0 $\pm$ 4,5
12	7,93 $\pm$ 0,71	5,10 $\pm$ 2,14	2,23 $\pm$ 0,40	140,6 $\pm$ 2,1	4,87 $\pm$ 1,46	1,360 $\pm$ 0,121	107,1 $\pm$ 5,4
13	8,28 $\pm$ 0,64	4,90 $\pm$ 1,39	2,17 $\pm$ 0,27	141,9 $\pm$ 3,7	5,18 $\pm$ 0,16	1,305 $\pm$ 0,105	108,0 $\pm$ 4,6
14	8,34 $\pm$ 0,62	5,37 $\pm$ 1,71	2,42 $\pm$ 0,42	141,6 $\pm$ 2,1	5,17 $\pm$ 0,86	1,268 $\pm$ 0,097	106,3 $\pm$ 5,0
16	8,32 $\pm$ 0,82	5,05 $\pm$ 1,48	2,55 $\pm$ 0,30	142,0 $\pm$ 1,6	5,21 $\pm$ 1,25	1,275 $\pm$ 0,125	105,0 $\pm$ 3,9
18	8,07 $\pm$ 0,37	5,44 $\pm$ 1,44	2,39 $\pm$ 0,25	142,2 $\pm$ 2,4	4,93 $\pm$ 0,75	1,210 $\pm$ 0,102	105,5 $\pm$ 3,4
20	8,61 $\pm$ 0,96	5,77 $\pm$ 1,08	2,42 $\pm$ 0,24	141,1 $\pm$ 4,1	5,11 $\pm$ 1,10	1,228 $\pm$ 0,063	107,3 $\pm$ 4,8
22	8,37 $\pm$ 0,81	4,93 $\pm$ 1,06	2,51 $\pm$ 0,32	141,2 $\pm$ 2,0	5,34 $\pm$ 1,67	1,256 $\pm$ 0,100	106,2 $\pm$ 5,1
24	8,20 $\pm$ 0,77	5,49 $\pm$ 0,95	2,45 $\pm$ 0,33	142,1 $\pm$ 4,8	5,12 $\pm$ 1,47	1,240 $\pm$ 0,054	107,9 $\pm$ 3,9
26	8,58 $\pm$ 0,82	5,76 $\pm$ 1,38	2,37 $\pm$ 0,30	141,6 $\pm$ 3,0	4,45 $\pm$ 1,11	1,209 $\pm$ 0,114	104,9 $\pm$ 3,4
28	8,72 $\pm$ 0,42	7,14 $\pm$ 1,40	2,37 $\pm$ 0,34	143,7 $\pm$ 2,6	5,38 $\pm$ 2,45	1,195 $\pm$ 0,080	105,9 $\pm$ 4,7
35	8,55 $\pm$ 0,61	5,57 $\pm$ 1,54	2,72 $\pm$ 0,34	143,3 $\pm$ 4,2	4,51 $\pm$ 0,14	1,174 $\pm$ 0,132	111,5 $\pm$ 7,9
42	8,23 $\pm$ 1,07	6,64 $\pm$ 2,06	2,62 $\pm$ 0,29	145,2 $\pm$ 1,9	4,30 $\pm$ 0,28	1,257 $\pm$ 0,113	107,8 $\pm$ 4,8
49	8,83 $\pm$ 0,86	5,93 $\pm$ 0,95	2,40 $\pm$ 0,35	145,8 $\pm$ 1,7	4,58 $\pm$ 0,29	1,313 $\pm$ 0,119	107,8 $\pm$ 2,6
56	8,75 $\pm$ 0,64	4,68 $\pm$ 1,07	2,59 $\pm$ 0,38	145,0 $\pm$ 1,1	4,75 $\pm$ 0,36	1,259 $\pm$ 0,100	107,5 $\pm$ 3,5
63	9,27 $\pm$ 0,84	6,41 $\pm$ 1,11	2,67 $\pm$ 0,39	144,4 $\pm$ 1,8	4,61 $\pm$ 0,37	1,262 $\pm$ 0,073	107,4 $\pm$ 3,2
70	8,79 $\pm$ 0,90	6,09 $\pm$ 1,48	2,57 $\pm$ 0,11	145,4 $\pm$ 3,2	6,53 $\pm$ 4,75	1,282 $\pm$ 0,122	108,7 $\pm$ 6,0
77	8,82 $\pm$ 0,97	7,02 $\pm$ 2,19	2,76 $\pm$ 0,40	144,1 $\pm$ 3,3	4,69 $\pm$ 1,01	1,152 $\pm$ 0,041	107,0 $\pm$ 1,8
84	8,56 $\pm$ 0,68	6,67 $\pm$ 1,66	2,53 $\pm$ 0,22	144,6 $\pm$ 3,1	7,28 $\pm$ 3,05	1,165 $\pm$ 0,100	107,9 $\pm$ 3,3
91	7,61 $\pm$ 0,75	6,31 $\pm$ 2,22	2,48 $\pm$ 0,19	143,5 $\pm$ 1,3	4,80 $\pm$ 0,46	1,080 $\pm$ 0,148	109,0 $\pm$ 2,5
98	8,82 $\pm$ 0,71	6,73 $\pm$ 1,69	2,37 $\pm$ 0,20	144,9 $\pm$ 1,1	6,11 $\pm$ 2,80	1,203 $\pm$ 0,084	108,2 $\pm$ 2,5
105	8,35 $\pm$ 1,07	6,00 $\pm$ 2,15	2,52 $\pm$ 0,27	145,6 $\pm$ 2,7	7,81 $\pm$ 5,57	1,194 $\pm$ 0,132	111,9 $\pm$ 4,1
112	8,30 $\pm$ 0,72	6,36 $\pm$ 1,37	2,48 $\pm$ 0,26	145,7 $\pm$ 1,3	4,75 $\pm$ 0,54	1,221 $\pm$ 0,101	111,5 $\pm$ 5,5
119	8,69 $\pm$ 1,13	7,44 $\pm$ 1,30	2,21 $\pm$ 0,29	144,3 $\pm$ 3,9	7,43 $\pm$ 3,92	1,222 $\pm$ 0,160	111,1 $\pm$ 2,4
126	8,63 $\pm$ 0,73	5,60 $\pm$ 1,65	2,36 $\pm$ 0,22	145,4 $\pm$ 3,0	5,89 $\pm$ 3,69	1,274 $\pm$ 0,146	109,6 $\pm$ 4,3
133	8,96 $\pm$ 0,65	5,67 $\pm$ 2,05	2,34 $\pm$ 0,26	146,2 $\pm$ 1,4	7,93 $\pm$ 5,62	1,288 $\pm$ 0,174	109,9 $\pm$ 2,7
CV	8,19	25,63	10,85	1,72	40,18	9,64	3,68

Dia 0 (controle): média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta.

Tabela 8. Média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação (CV) dos metabólitos sanguíneos de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas

Dia	Crea (mg/dL)	Ureia (mg/dL)	Col (mg/dL)	Alb (g/dL)	BI (mg/dL)	BD (mg/dL)	BT (mg/dL)	Trig (mg/dL)	Glic (mg/dL)	Lac (mg/dL)	PTP (g/dL)
0	1.23 $\pm$ 0.25	33.73 $\pm$ 11.90	50.61 $\pm$ 8.83	2.15 $\pm$ 0.19	0.28 $\pm$ 0.07	0.15 $\pm$ 0.08	0.43 $\pm$ 0.13	16.96 $\pm$ 2.54	74.73 $\pm$ 13.17	35.84 $\pm$ 12.81	7.4 $\pm$ 0.4
1	1.30 $\pm$ 0.36	20.10 $\pm$ 8.31	49.67 $\pm$ 13.16	2.11 $\pm$ 0.39	0.30 $\pm$ 0.09	0.10 $\pm$ 0.11	0.40 $\pm$ 0.05	19.08 $\pm$ 7.10	79.99 $\pm$ 15.05	43.76 $\pm$ 26.41	7.6 $\pm$ 0.8
2	1.15 $\pm$ 0.25	27.54 $\pm$ 7.66	45.15 $\pm$ 6.66	2.11 $\pm$ 0.35	0.25 $\pm$ 0.10	0.13 $\pm$ 0.06	0.38 $\pm$ 0.13	16.86 $\pm$ 6.65	81.47 $\pm$ 22.07	33.10 $\pm$ 14.38	7.4 $\pm$ 0.5
3	1.12 $\pm$ 0.27	26.17 $\pm$ 8.81	42.46 $\pm$ 7.88	2.05 $\pm$ 0.32	0.30 $\pm$ 0.07	0.09 $\pm$ 0.07	0.39 $\pm$ 0.10	15.54 $\pm$ 5.41	78.82 $\pm$ 8.49	35.82 $\pm$ 23.45	7.1 $\pm$ 0.5
4	1.06 $\pm$ 0.24	24.21 $\pm$ 8.42	40.96 $\pm$ 5.17	2.07 $\pm$ 0.33	0.33 $\pm$ 0.16	0.10 $\pm$ 0.06	0.43 $\pm$ 0.14	20.19 $\pm$ 21.54	79.61 $\pm$ 7.86	28.46 $\pm$ 19.19	7.0 $\pm$ 0.5
5	1.05 $\pm$ 0.20	26.96 $\pm$ 12.09	38.06 $\pm$ 7.37	2.00 $\pm$ 0.36	0.29 $\pm$ 0.05	0.08 $\pm$ 0.07	0.36 $\pm$ 0.10	82.32 $\pm$ 11.95	82.32 $\pm$ 11.95	30.87 $\pm$ 15.65	7.1 $\pm$ 0.6
6	1.04 $\pm$ 0.20	25.78 $\pm$ 8.52	37.36 $\pm$ 9.20	2.05 $\pm$ 0.39	0.28 $\pm$ 0.08	0.09 $\pm$ 0.07	0.36 $\pm$ 0.11	13.33 $\pm$ 5.57	103.74 $\pm$ 50.22	20.18 $\pm$ 9.71	7.0 $\pm$ 0.8
7	1.08 $\pm$ 0.26	32.94 $\pm$ 23.47	38.94 $\pm$ 7.21	2.09 $\pm$ 0.33	0.30 $\pm$ 0.18	0.07 $\pm$ 0.06	0.37 $\pm$ 0.18	16.65 $\pm$ 7.79	99.74 $\pm$ 22.31	32.86 $\pm$ 12.94	7.5 $\pm$ 0.5
8	1.04 $\pm$ 0.20	44.12 $\pm$ 20.47	41.05 $\pm$ 6.71	2.13 $\pm$ 0.37	0.39 $\pm$ 0.22	0.10 $\pm$ 0.06	0.49 $\pm$ 0.22	23.62 $\pm$ 9.49	99.28 $\pm$ 29.51	25.98 $\pm$ 30.67	7.3 $\pm$ 0.6
9	1.20 $\pm$ 0.25	49.51 $\pm$ 23.02	45.80 $\pm$ 7.61	2.09 $\pm$ 0.38	0.32 $\pm$ 0.18	0.09 $\pm$ 0.06	0.42 $\pm$ 0.19	19.47 $\pm$ 7.10	90.47 $\pm$ 23.25	22.24 $\pm$ 14.33	7.5 $\pm$ 0.6
10	1.08 $\pm$ 0.27	38.33 $\pm$ 13.52	46.06 $\pm$ 8.01	2.13 $\pm$ 0.34	0.33 $\pm$ 0.17	0.12 $\pm$ 0.14	0.45 $\pm$ 0.13	17.97 $\pm$ 5.91	87.93 $\pm$ 32.39	18.14 $\pm$ 7.93	7.3 $\pm$ 0.8
11	1.14 $\pm$ 0.19	33.63 $\pm$ 7.74	47.38 $\pm$ 11.38	2.15 $\pm$ 0.26	0.40 $\pm$ 0.13	0.08 $\pm$ 0.05	0.48 $\pm$ 0.14	16.15 $\pm$ 3.96	85.72 $\pm$ 39.72	14.12 $\pm$ 12.47	7.6 $\pm$ 0.6
12	1.11 $\pm$ 0.15	44.02 $\pm$ 22.32	49.32 $\pm$ 8.86	2.09 $\pm$ 0.24	0.30 $\pm$ 0.18	0.11 $\pm$ 0.09	0.41 $\pm$ 0.21	17.16 $\pm$ 3.73	94.92 $\pm$ 21.06	20.02 $\pm$ 7.69	7.6 $\pm$ 0.7
13	1.10 $\pm$ 0.20	34.56 $\pm$ 17.62	49.85 $\pm$ 8.97	2.07 $\pm$ 0.24	0.42 $\pm$ 0.13	0.05 $\pm$ 0.04	0.47 $\pm$ 0.13	16.45 $\pm$ 7.00	96.89 $\pm$ 30.87	20.20 $\pm$ 9.25	7.3 $\pm$ 0.8
14	1.15 $\pm$ 0.18	31.08 $\pm$ 11.58	49.32 $\pm$ 10.64	2.12 $\pm$ 0.25	0.35 $\pm$ 0.14	0.07 $\pm$ 0.08	0.42 $\pm$ 0.17	16.86 $\pm$ 3.59	93.06 $\pm$ 30.97	18.60 $\pm$ 7.17	7.3 $\pm$ 0.8
16	1.07 $\pm$ 0.16	38.53 $\pm$ 10.69	39.12 $\pm$ 8.39	2.12 $\pm$ 0.24	0.28 $\pm$ 0.13	0.11 $\pm$ 0.08	0.39 $\pm$ 0.13	19.08 $\pm$ 19.20	79.27 $\pm$ 22.02	12.58 $\pm$ 5.28	7.1 $\pm$ 0.7
18	1.03 $\pm$ 0.13	35.09 $\pm$ 9.30	34.99 $\pm$ 8.20	2.08 $\pm$ 0.27	0.24 $\pm$ 0.10	0.12 $\pm$ 0.20	0.36 $\pm$ 0.14	19.18 $\pm$ 15.16	77.88 $\pm$ 19.47	18.30 $\pm$ 9.11	6.7 $\pm$ 0.7
20	1.08 $\pm$ 0.22	40.68 $\pm$ 6.04	41.49 $\pm$ 9.13	2.05 $\pm$ 0.26	0.38 $\pm$ 0.13	0.07 $\pm$ 0.03	0.45 $\pm$ 0.14	18.17 $\pm$ 14.11	80.99 $\pm$ 21.85	15.00 $\pm$ 5.56	6.9 $\pm$ 0.7
22	1.04 $\pm$ 0.17	43.33 $\pm$ 9.13	40.70 $\pm$ 6.60	2.10 $\pm$ 0.30	0.24 $\pm$ 0.13	0.09 $\pm$ 0.07	0.33 $\pm$ 0.13	13.42 $\pm$ 5.27	88.31 $\pm$ 25.73	14.61 $\pm$ 8.01	6.7 $\pm$ 0.8
24	0.99 $\pm$ 0.14	45.78 $\pm$ 5.37	40.48 $\pm$ 3.89	2.10 $\pm$ 0.26	0.22 $\pm$ 0.14	0.10 $\pm$ 0.08	0.32 $\pm$ 0.10	16.25 $\pm$ 10.92	69.76 $\pm$ 8.43	7.98 $\pm$ 2.11	6.5 $\pm$ 0.4
26	1.04 $\pm$ 0.11	45.59 $\pm$ 10.23	42.99 $\pm$ 6.68	2.10 $\pm$ 0.20	0.20 $\pm$ 0.08	0.05 $\pm$ 0.04	0.25 $\pm$ 0.07	17.16 $\pm$ 8.77	77.96 $\pm$ 15.85	14.27 $\pm$ 6.34	7.0 $\pm$ 0.5
28	1.04 $\pm$ 0.21	46.72 $\pm$ 11.59	48.35 $\pm$ 4.34	2.08 $\pm$ 0.18	0.19 $\pm$ 0.12	0.06 $\pm$ 0.02	0.24 $\pm$ 0.14	13.22 $\pm$ 5.51	97.50 $\pm$ 23.89	15.46 $\pm$ 7.26	6.9 $\pm$ 0.6
35	0.98 $\pm$ 0.16	49.06 $\pm$ 14.25	53.36 $\pm$ 10.86	2.20 $\pm$ 0.15	0.25 $\pm$ 0.07	0.05 $\pm$ 0.03	0.31 $\pm$ 0.08	23.01 $\pm$ 23.65	82.03 $\pm$ 28.78	13.57 $\pm$ 10.35	7.1 $\pm$ 0.4
42	0.98 $\pm$ 0.14	59.12 $\pm$ 24.02	63.21 $\pm$ 19.15	2.17 $\pm$ 0.22	0.22 $\pm$ 0.13	0.09 $\pm$ 0.13	0.31 $\pm$ 0.18	13.83 $\pm$ 5.92	70.07 $\pm$ 13.80	16.52 $\pm$ 6.87	7.2 $\pm$ 0.4
49	1.06 $\pm$ 0.32	58.72 $\pm$ 30.97	64.61 $\pm$ 15.24	2.36 $\pm$ 0.24	0.21 $\pm$ 0.08	0.08 $\pm$ 0.09	0.28 $\pm$ 0.16	12.21 $\pm$ 2.60	74.02 $\pm$ 8.23	13.92 $\pm$ 7.62	7.2 $\pm$ 0.7
56	1.10 $\pm$ 0.13	48.43 $\pm$ 12.76	60.57 $\pm$ 22.20	2.30 $\pm$ 0.29	0.23 $\pm$ 0.09	0.07 $\pm$ 0.04	0.29 $\pm$ 0.11	11.61 $\pm$ 3.84	74.68 $\pm$ 8.39	16.31 $\pm$ 6.65	7.2 $\pm$ 0.6
63	1.02 $\pm$ 0.13	45.78 $\pm$ 15.94	60.92 $\pm$ 16.91	2.35 $\pm$ 0.30	0.27 $\pm$ 0.13	0.06 $\pm$ 0.07	0.33 $\pm$ 0.16	12.21 $\pm$ 3.36	105.98 $\pm$ 46.08	12.47 $\pm$ 6.28	7.4 $\pm$ 0.5
70	1.18 $\pm$ 0.34	61.27 $\pm$ 25.91	61.27 $\pm$ 8.00	2.41 $\pm$ 0.23	0.22 $\pm$ 0.13	0.11 $\pm$ 0.10	0.33 $\pm$ 0.22	12.11 $\pm$ 2.02	80.26 $\pm$ 17.15	16.26 $\pm$ 7.29	7.4 $\pm$ 1.0
77	1.01 $\pm$ 0.14	56.50 $\pm$ 20.42	60.83 $\pm$ 12.29	2.26 $\pm$ 0.23	0.26 $\pm$ 0.24	0.07 $\pm$ 0.04	0.33 $\pm$ 0.25	13.42 $\pm$ 3.95	71.40 $\pm$ 11.46	14.74 $\pm$ 3.85	7.2 $\pm$ 0.8
84	1.03 $\pm$ 0.14	50.09 $\pm$ 13.01	64.35 $\pm$ 7.97	2.23 $\pm$ 0.15	0.21 $\pm$ 0.13	0.03 $\pm$ 0.03	0.24 $\pm$ 0.11	13.32 $\pm$ 2.56	68.28 $\pm$ 5.70	13.09 $\pm$ 5.34	7.5 $\pm$ 0.7
91	1.03 $\pm$ 0.12	42.15 $\pm$ 11.58	61.62 $\pm$ 12.15	2.36 $\pm$ 0.28	0.21 $\pm$ 0.06	0.06 $\pm$ 0.05	0.27 $\pm$ 0.09	17.97 $\pm$ 4.10	70.91 $\pm$ 11.69	16.36 $\pm$ 10.73	7.4 $\pm$ 0.7
98	1.09 $\pm$ 0.11	51.86 $\pm$ 10.85	65.23 $\pm$ 14.20	2.29 $\pm$ 0.31	0.23 $\pm$ 0.07	0.04 $\pm$ 0.04	0.27 $\pm$ 0.09	16.55 $\pm$ 4.52	61.22 $\pm$ 8.22	15.04 $\pm$ 7.48	7.4 $\pm$ 0.5
105	1.05 $\pm$ 0.14	42.64 $\pm$ 12.58	64.44 $\pm$ 17.17	2.36 $\pm$ 0.37	0.17 $\pm$ 0.10	0.06 $\pm$ 0.04	0.23 $\pm$ 0.13	16.96 $\pm$ 7.60	67.95 $\pm$ 10.79	12.83 $\pm$ 5.84	7.5 $\pm$ 0.7
112	1.05 $\pm$ 0.17	46.47 $\pm$ 12.28	66.67 $\pm$ 23.45	2.30 $\pm$ 0.39	0.26 $\pm$ 0.15	0.04 $\pm$ 0.02	0.30 $\pm$ 0.14	18.47 $\pm$ 6.30	77.14 $\pm$ 23.20	14.94 $\pm$ 7.56	7.6 $\pm$ 0.7
119	1.15 $\pm$ 0.10	48.82 $\pm$ 12.51	73.58 $\pm$ 20.24	2.33 $\pm$ 0.28	0.19 $\pm$ 0.13	0.11 $\pm$ 0.12	0.30 $\pm$ 0.11	18.37 $\pm$ 6.33	65.28 $\pm$ 7.58	13.58 $\pm$ 7.64	7.6 $\pm$ 0.6
126	1.04 $\pm$ 0.14	43.74 $\pm$ 17.62	74.55 $\pm$ 21.30	2.33 $\pm$ 0.26	0.20 $\pm$ 0.13	0.10 $\pm$ 0.12	0.29 $\pm$ 0.07	17.88 $\pm$ 4.29	69.10 $\pm$ 6.35	11.22 $\pm$ 4.90	7.7 $\pm$ 0.7
133	1.12 $\pm$ 0.23	36.71 $\pm$ 10.13	71.28 $\pm$ 15.74	2.41 $\pm$ 0.23	0.11 $\pm$ 0.08	0.15 $\pm$ 0.12	0.26 $\pm$ 0.06	22.26 $\pm$ 3.73	66.00 $\pm$ 10.86	14.13 $\pm$ 8.04	7.9 $\pm$ 0.7
CV	18.21	36.92	23.96	12.68	48.23	94.82	39.60	52.41	27.75	59.60	8.96

Dia 0 (controle): média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta. Crea – creatinina, Col – colesterol, Alb – albumina, BI, BD, BT – bilirrubinas indireta, direta e total, Trig – triglicerídeos, Glic – glicose, Lac – lactato, PTP – proteína total plasmática.

Os níveis de AST aumentaram antes do nono dia, diminuindo até a sexta semana e se elevando novamente até o final do período de observação ($P \leq 0,05$). A atividade de FA aumentou marcadamente até o 84º dia, decrescendo a seguir ($P < 0,001$). A associação entre o LDH e o tempo experimental foi quase constante, com pequena redução entre a primeira e a sétima semanas ($P \leq 0,05$). A atividade da GGT aumentou consideravelmente nos primeiros 11 dias, com outra elevação da décima semana até o final do período de observação ($P < 0,0001$) (Figura 11).

As concentrações de Ca ($P \leq 0,05$) e P ($P < 0,01$) reduziram nos primeiros oito dias, aumentaram até a 13ª semana e diminuíram no restante do experimento. De maneira oposta, as médias de Ca_i aumentaram antes do 10º dia, diminuíram até a 12ª semana, então se elevaram até o final do período ($P \leq 0,05$). As médias do Mg aumentaram até a nona semana, depois diminuíram até se aproximar dos valores basais ao final ($P < 0,01$). A curva de Na teve queda até o nono dia, tendendo a subir posteriormente ($P < 0,001$) (Figura 12).

Observou-se aumento nas concentrações de glicose até o 12º dia ($P < 0,01$), de ureia até a 11ª semana ($P < 0,01$), de BI e BT durante a primeira semana ($P \leq 0,05$) e, então, estas variáveis diminuíram até o final do experimento. As médias de colesterol reduziram até o oitavo dia, aumentando consideravelmente pelo resto do período ($P < 0,05$). As concentrações de triglicérides subiram levemente na primeira semana, reduziram até a nona semana e aumentaram novamente até o final ($P \leq 0,05$). Os níveis de PTP diminuíram até o 18º dia ($P < 0,0001$), então aumentaram pelo restante do tempo de observação (Figuras 13 e 14).

Os níveis de creatinina ($P \leq 0,05$), BD ($P \leq 0,05$), lactato ($P < 0,0001$) e CK ($P < 0,0001$) reduziram, enquanto os de albumina ($P \leq 0,05$), Cl ($P \leq 0,05$) e K ($P < 0,01$) aumentaram durante o período de observação (Figuras 11, 13 e 14).

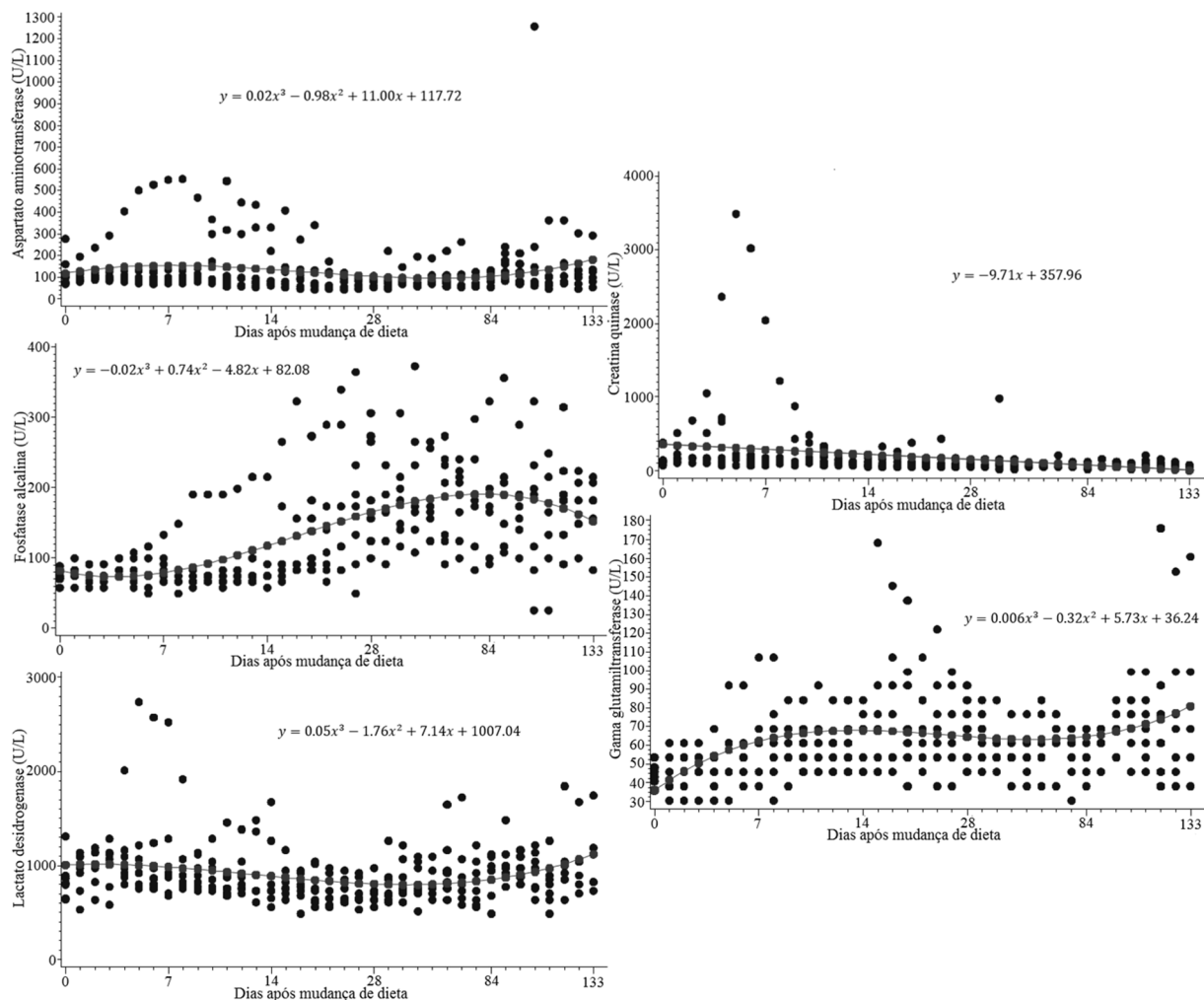


Figura 11. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e as atividades enzimáticas séricas de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas. Dia 0 (controle): média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta.

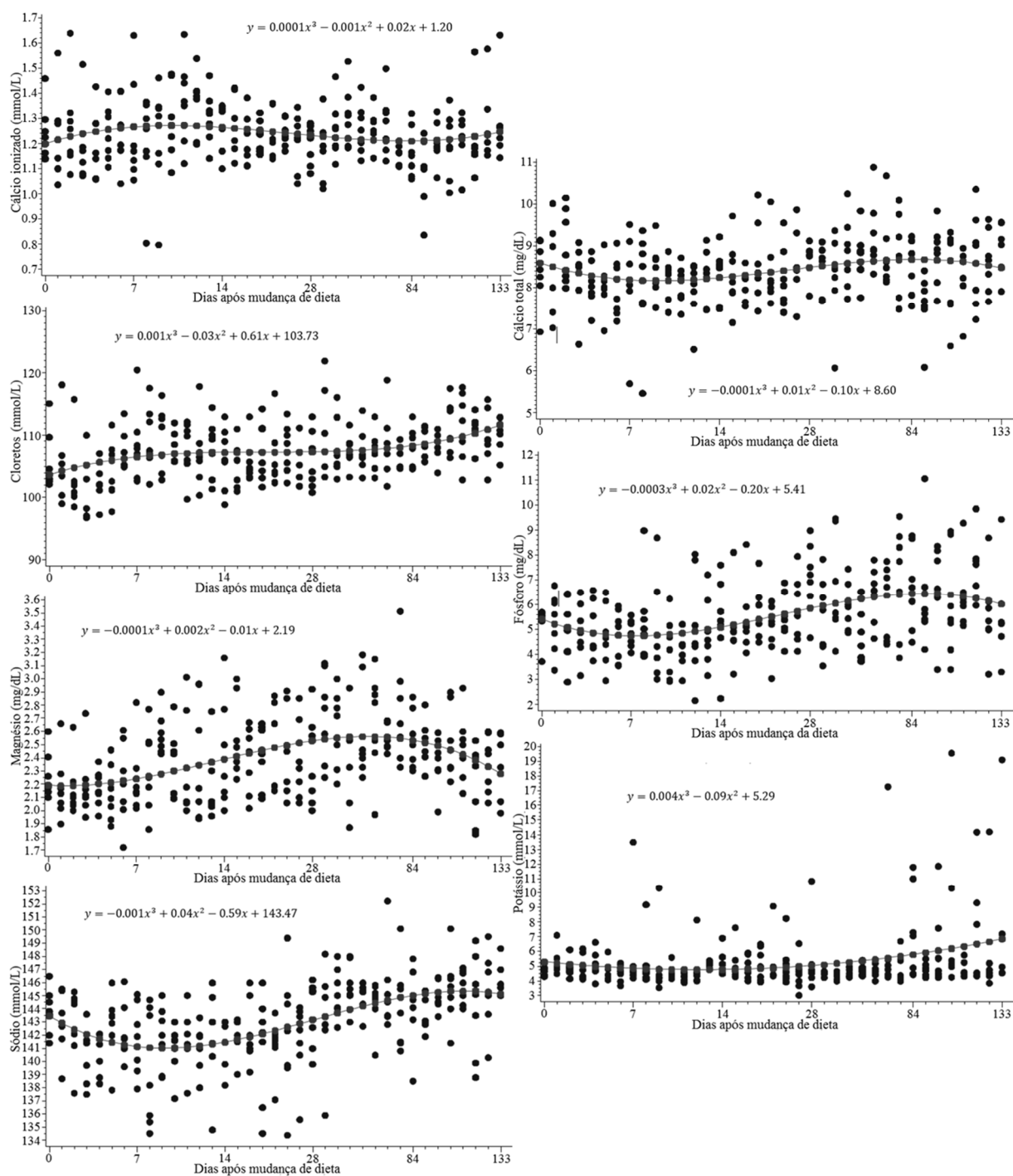


Figura 12. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e os eletrólitos sanguíneos de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas. Dia 0 (controle): média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta.

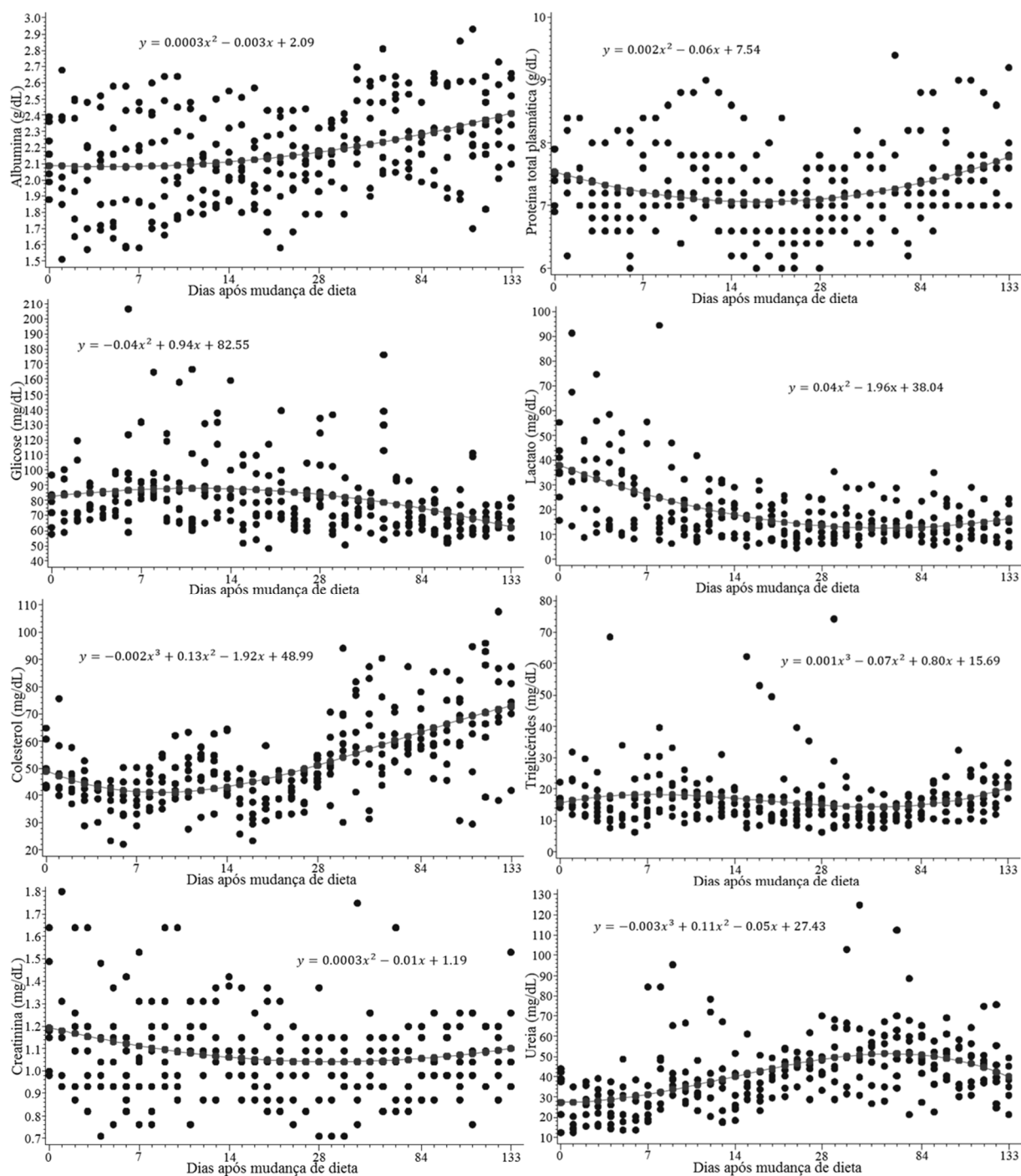


Figura 13. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e os metabólitos sanguíneos de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas. Dia 0 (controle): média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta.

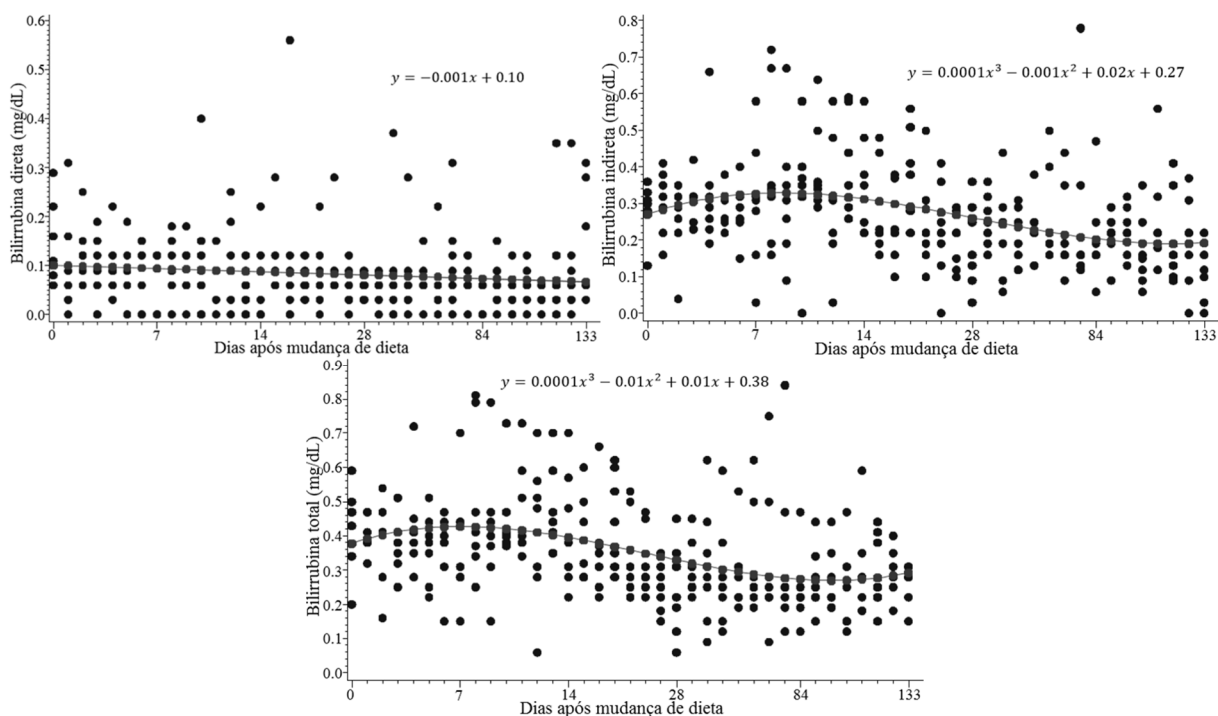


Figura 14. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e os tipos de bilirrubina sérica de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas. Dia 0 (controle): média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta.

Os resultados apresentados na Tabela 9 demonstram que a maioria das correlações significativas entre as variáveis bioquímicas analisadas foram fracas, algumas moderadas (AST e LDH, AST e CK, creatinina e Cai, FA e ureia, FA e BI, FA e BT, LDH e CK, colesterol e albumina, colesterol e Ca, albumina e Ca, BD e BT) e apenas a correlação entre BD e BI foi forte ($r=0,84$).

3.5 Necropsia

Não foi observada, durante as necropsias, nenhuma alteração macroscópica digna de nota.

Tabela 9. Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre as variáveis bioquímicas do sangue de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas

	Crea	FA	LDH	Ureia	Col	Alb	GGT	BI	BD	BT	CK	Ca	P	Mg	Trig	Na	K	Cai	Cl	Glic	Lac	PTP
AST	-0,05	0,13a	0,62d	-0,06	0,01	-0,06	0,22c	-0,11	-0,01	-0,11	0,47d	-0,10	0,04	0,01	-0,01	0,07	-0,06	-0,20b	-0,25d	-0,14a	0,06	-0,11
Crea		-0,09	-0,06	0,35d	0,08	0,07	-0,25d	0,13a	0,15a	0,20b	-0,08	0,12	-0,15a	0,01	0,29d	0,05	-0,02	0,43d	0,17b	0,12a	0,12	0,01
FA			0,17b	0,40d	0,35d	0,16b	0,24d	-0,40d	0,16a	-0,45d	-0,07	0,18b	0,27d	0,27d	-0,15a	0,35d	0,10	-0,11	0,02	-0,31d	-0,32d	-0,27d
LDH				-0,18b	0,09	0,03	0,21c	-0,13a	0,02	-0,11	0,66d	0,07	-0,01	0,01	-0,05	0,11	0,01	-0,15a	-0,23c	-0,10	0,13a	-0,07
Ureia					0,33d	0,18b	-0,10	-0,12	-0,08	-0,15a	-0,17b	0,13a	0,18b	0,28d	-0,05	0,21b	-0,05	0,13a	0,14a	-0,13a	-0,31d	-0,15a
Col						0,52d	0,08	-0,28d	-0,07	-0,29d	-0,20b	0,40d	0,05	0,08	0,02	0,26d	0,21c	0,13a	0,26d	-0,15a	-0,27d	0,18b
Alb							0,01	-0,26d	0,06	-0,21c	-0,20b	0,48d	-0,13a	0,14a	0,12	0,17b	0,11	0,13a	0,24c	0,04	-0,32d	0,06
GGT								-0,12	-0,05	-0,13a	-0,07	0,05	0,09	-0,05	-0,15a	0,09	0,15a	-0,29d	-0,06	-0,18b	-0,16a	-0,14a
BI									-0,13a	0,85d	-0,07	-0,12	-0,03	-0,13a	0,05	-0,22c	-0,18b	0,17b	0,06	0,28d	0,14a	0,16b
BD										0,42d	-0,02	0,03	-0,07	-0,05	0,36d	-0,04	0,17b	0,14a	0,10	-0,01	0,01	0,09
BT											0,08	-0,09	-0,07	-0,14a	0,24c	-0,22c	-0,07	0,23c	0,10	0,23c	0,13a	0,20b
CK												0,07	-0,02	0,02	-0,05	-0,01	-0,08	-0,11	-0,25d	-0,03	-0,32d	-0,11
Ca													-0,06	0,04	0,08	0,08	0,19b	0,36d	0,08	-0,01	-0,32d	-0,11
P														0,06	-0,05	0,26d	0,04	-0,29d	-0,14a	-0,28d	-0,11	0,06
Mg															0,04	0,11	0,10	-0,05	0,19b	-0,31d	-0,11	0,06
Trig																-0,18b	0,10	0,21c	0,22c	0,17b	0,02	0,13a
Na																	-0,13a	0,08	0,03	-0,24d	-0,13a	0,08
K																		-0,04	0,34d	-0,08	-0,13a	0,04
Cai																			0,35d	0,20b	-0,19b	0,09
Cl																				0,12	-0,27d	0,23c
Glic																					0,15a	0,19b
Lac																						0,16a

Coeficientes seguidos por letras são significantes, como segue: a - $P < 0,05$, b - $P < 0,01$, c - $P < 0,001$, d - $P < 0,0001$.

AST – aspartato aminotransferase, Crea – creatinina, FA – fosfatase alcalina, LDH – lactato desidrogenase, Col – colesterol, Alb – albumina, GGT – gama glutamiltransferase, BI, BD, BT – bilirrubinas indireta, direta e total, CK – creatina quinase, Ca – cálcio total, P – fósforo, Mg – magnésio, Trig – triglicérides, Na – sódio, K – potássio, Cai – cálcio ionizado, Cl – cloretos, Glic – glicose, Lac – lactato, PTP – proteína total plasmática.

4. Discussão

4.1 Avaliação física dos animais

As médias de FC e FR encontram-se nos intervalos fisiológicos estabelecidos por Radostitis et al. (2007) e Terra (2009) para a espécie. A diminuição da FR até o 10º dia difere do relato de aumento desta variável em cordeiros desafiados com grãos por sete dias (ODONGO et al., 2006) e de que vacas submetidas à ARS por três semanas não tiveram sua FR alterada (LI et al., 2012). A FC se elevou até o 18º dia o que, associada a problemas digestivos, sugerem distúrbios hidroeletrólíticos (FEITOSA, 2008). Além disso, aumento na FC é comum em animais afetados por dor e excitação (RADOSTITS et al., 2007), distensão abdominal, desidratação e acidose sistêmica (JONES; SMITH, 2009). As médias de TC foram menores do que os intervalos encontrados na literatura para a espécie e, apesar da elevação durante o período experimental, mantiveram-se abaixo dos limites estabelecidos (JACKSON; COCKCROFT, 2002; RADOSTITS et al., 2007; FEITOSA, 2008; TERRA, 2009), contrariando os relatos de Li et al. (2012) e Rodríguez-Lecompte et al. (2014), que não observaram diferença na temperatura retal de vacas induzidas à ARS por três e quatro semanas, respectivamente. Porém, variações fisiológicas normais ocorrem na temperatura corporal e não são indicativos de doença (RADOSTITS et al., 2007). A manutenção destas variáveis dentro dos intervalos normais para ovinos pode explicar porque a maior parte da incidência de ARS não é diagnosticada durante o monitoramento sanitário de rotina do rebanho (LI et al., 2012).

A MR diminuiu durante o período de observação, como descrito por González et al. (2012) e discordando de Li et al. (2012), que descreveu aumento em vacas com ARS induzida por três semanas. Os valores médios de MR ficaram abaixo dos valores fisiológicos descritos por FEITOSA (2008), para ovinos. O estímulo da distensão dos pré-estômagos e do acúmulo de AGCC sobre receptores epiteliais retículo-ruminais (GREGORY, 1987; RADOSTITS et al., 2007; JONES; SMITH, 2009), a estimulação dos nervos motores esplâncnicos em resposta à dor (RADOSTITS et al., 2007) e a ingesta finamente moída (JONES; SMITH, 2009) inibem a motilidade retículo-ruminal. Por raramente demonstrar sinais dolorosos, as únicas evidências clínicas de dor em

ruminantes podem ser anorexia e depressão da motilidade dos pré-estômagos (RADOSTITS et al., 2007).

A diarreia intermitente observada indica digestão inadequada e passagem rápida do alimento (NORDLUND; GARRET; OETZEL, 1995), o que pode ser decorrente da alta osmolaridade do conteúdo no intestino, funções ruminais comprometidas na ARS (MORGANTE et al., 2009; SMITH; MAGDESIAN, 2009), alterações da microbiota gastrointestinal e ação bacteriana no substrato, sendo frequente a diarreia em ruminantes por problemas nos pré-estômagos (SMITH; MAGDESIAN, 2009).

Os sinais clínicos de laminite, representados por sinais de dor intensa (NOCEK, 1997; JACKSON; COCKCROFT, 2002) como evitar apoio do membro afetado, claudicação, mudança de postura (dorso arqueado, membros estendidos), relutância em levantar e andar (RIET-CORREA et al., 2001) tiveram maior ocorrência entre o quinto e 24º dia pós-indução, com casos esporádicos até a 13ª semana, porém lesões como supercrescimento de casco, abscessos e úlceras de sola, bem descritos em bovinos e que podem ocorrer semanas ou meses após a acidose ruminal (NOCEK, 1997), não foram observados, confirmando que as lesões podais ocultas são comuns nos pequenos ruminantes (OSSENT; LISCHER, 1997). Pode-se afirmar que o manejo nutricional foi importante no desenvolvimento da laminite (NOCEK, 1997; JACKSON; COCKCROFT, 2002), a qual é considerada a sequela mais importante da ARS e sua incidência no rebanho maior que 10% é indicativa de problemas com ARS (NORDLUND; GARRET; OETZEL, 1995).

O PC e o EC apresentaram elevação por todo o experimento, o que indica melhora da condição dos animais e eficiência da dieta empregada para o ganho de peso. A diminuição não significativa do PC nos primeiros dias após inserção do alimento concentrado deve-se, possivelmente, à desidratação leve observada em alguns animais decorrente da diarreia.

Os ovinos afetados por problemas digestórios raramente apresentam sinais indicativos de anormalidade, a não ser quando estão gravemente doentes (FEITOSA, 2008) e o quadro clínico da ARS costuma ser difuso e inconsistente (NORDLUND; GARRET; OETZEL, 1995), porém sinais clínicos como diarreia, laminite (KLEEN et al., 2003) e motilidade ruminal reduzida (GONZÁLEZ et al., 2012), descritos em

bovinos, também foram observados no presente estudo. A ausência de grandes alterações nas demais variáveis clínicas torna incerta a utilidade destas na vigilância de rotina do rebanho (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002), pois a diarreia e a laminite, que são sinais mais óbvios de ARS, ao serem identificadas, já resultam em certo prejuízo produtivo.

4.2 Análise do fluido ruminal

A cor amarelada e o odor ácido apresentados pelo fluido ruminal na maior parte do período são indicativos de acidose ruminal (FEITOSA, 2008).

O tempo de redução do azul de metileno avalia o potencial redox, característica bioquímica que reflete o metabolismo fermentativo anaeróbico da população bacteriana do fluido ruminal e, em animais ingerindo predominantemente grãos é em torno de um minuto, menor do que em animais adaptados às forragens (FEITOSA, 2008; JONES; SMITH, 2009), o que pode ser observado pela diminuição desta variável durante o experimento e pelas médias observadas principalmente a partir da segunda semana experimental.

O tempo de sedimentação, o qual fornece uma avaliação rápida da atividade da microbiota ruminal pela estratificação de seu fluido pelas bolhas de gás produzidas pelas bactérias, normalmente varia de quatro a oito minutos, porém na acidose ruminal a sedimentação ocorre mais rapidamente (JONES; SMITH, 2009), o que foi percebido nos resultados obtidos.

As características descritas acima assemelham-se àquelas observadas no fluido ruminal de vacas com ARS: odor ácido, consistência levemente viscosa, tempo de sedimentação rápido e tempo de redução do azul de metileno de até três minutos (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002).

4.3 Hemograma

As médias dos valores hematológicos encontram-se dentro dos intervalos de normalidade sugeridos por Salviano, Sousa Júnior e Moura (2013) e Lima et al. (2015) para ovinos Santa Inês adultos, exceto os NB, que não constaram nestes estudos mas

foram raramente encontrados, como descrito por Jackson e Cockcroft (2002), Radostits et al. (2007) e Morris (2009a).

Os valores de contagem de hemácias, concentração de hemoglobina e volume globular, fortemente correlacionados, apresentaram redução até o décimo primeiro dia, contrariando as descrições de Li et al. (2012) de que tais variáveis não foram alteradas pela ARS, e outros estudos com acidose ruminal aguda (ARA) que relataram elevação inicial nestes parâmetros pelo aumento da pressão osmótica ruminal, consequente desidratação e hemoconcentração em ovinos (VIEIRA et al., 2012; ZEIN-ELDIN et al., 2014), bovinos (DE NARDI et al., 2013; MARCHESINI et al., 2013) e caprinos (ALMEIDA et al., 2008; ISMAIL et al., 2010; GUPTA et al., 2012; ABDALNOOR, 2014).

O aumento da contagem de plaquetas até a quarta semana assemelha-se ao observado em bovinos e pode representar a resposta ao surgimento de lesões ruminais consequentes à acidose ruminal (DE NARDI et al., 2013; MARCHESINI et al., 2013).

A ARS não causou mudanças nas contagens de leucócitos (LI et al., 2012; RODRÍGUEZ-LECOMPTE et al., 2014), basófilos e neutrófilos bastonetes (RODRÍGUEZ-LECOMPTE et al., 2014).

A contagem de eosinófilos se elevou durante todo período e a de NS nos primeiros 16 dias, como relatado por De Nardi et al. (2013) em bovinos induzidos à ARS, pela ativação do sistema imune pela translocação do LPS ruminal para a corrente sanguínea. O aumento na contagem de neutrófilos também é relatado na indução à ARA em ovinos (VIEIRA et al., 2012) e caprinos (ALMEIDA et al., 2008; ISMAIL et al., 2010), possivelmente relacionado à rumenite (VIEIRA et al., 2012) e acompanhado por diminuição na contagem de linfócitos (ALMEIDA et al., 2008; ISMAIL et al., 2010), o que também foi observado no presente estudo.

O aumento na contagem de neutrófilos e a diminuição nos valores de linfócitos indicam uma resposta leucocitária de estresse, mesmo com a contagem total de leucócitos normal (JONES; ALLISON, 2007; WEISS; WARDROP, 2010), provavelmente para neutralizar reações inflamatórias severas na parede ruminal pelo aumento da acidez e osmolaridade do conteúdo do rúmen (ISMAIL et al., 2010). A maioria dos eosinófilos são encontrados no trato gastrintestinal, exercendo função

importante na imunidade de sua mucosa (WEISS; WARDROP, 2010), o que pode explicar o aumento de sua contagem durante o período experimental. Além disso, a liberação de histamina no sangue, a qual pode ser produzida no rúmen durante a acidose ruminal, atrai eosinófilos da medula óssea para a circulação sanguínea (MORRIS, 2009b).

A contagem de monócitos diminuiu nos primeiros dez dias, concordando com as observações de De Nardi et al. (2013). A endotoxemia pode causar monocitopenia (JONES; ALLISON, 2007; MORRIS, 2009b; WEISS; WARDROP, 2010), assim como o início de períodos de estresse pela liberação de corticosteróides e pode ser seguida por monocitose (MORRIS, 2009b).

4.4 Bioquímica sérica

Os valores de AST, FA, GGT, PTP, creatinina, BT, Mg, Na e K apresentaram-se dentro de intervalos estabelecidos para a espécie; porém muitas das médias obtidas para a ureia, Cl, glicose, LDH, CK e lactato foram mais altas, enquanto as de Ca, Cai, P, colesterol e albumina foram mais baixas que os valores de referência para ovinos (JACKSON; COCKCROFT, 2002; RADOSTITS et al., 2007; KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008; CARLSON, 2009; LIMA et al., 2015).

O aumento inicial nos níveis de AST e GGT, os quais indicam alterações hepáticas, assemelham-se à descrição de aumento destas enzimas em bovinos (MARCHESINI et al., 2013), ovinos (PATRA; LAL; SWARUP, 1996) e caprinos (GUPTA et al., 2012) induzidos à acidose ruminal, possivelmente pela metabolização do LPS no fígado, enquanto o aumento posterior pode ser devido ao estresse hepático pela variação no padrão dietético (MARCHESINI et al., 2013). Em ovinos, a AST e, preferencialmente, a GGT podem ser usadas como marcadores de dano hepático (BRAUNA; TRUMELA; BÉZILLE, 2010). O aumento da GGT corrobora o aumento da FA, apesar desta ser uma enzima menos específica e com ampla variação fisiológica para ruminantes, pois o aumento de ambas ocorre na colestase (RUSSEL; ROUSSEL, 2007; KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008; BRAUNA; TRUMELA; BÉZILLE, 2010). A atividade da LDH foi quase constante no experimento, porém em ovinos, assim como em outros ruminantes, a LDH é pobremente específica do fígado (BRAUNA;

TRUMELA; BÉZILLE, 2010). Os níveis de CK apresentaram diminuição durante a pesquisa, contrariando as descrições de aumento (PATRA; LAL; SWARUP, 1996) ou ausência de mudança (ALMEIDA et al., 2008) de sua atividade em caprinos induzidos à ARA. Considerando-se que a CK é um marcador muito sensível para dano muscular e que esta enzima pode ser liberada após esforço físico (RUSSEL; ROUSSEL, 2007; KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008; CARLSON, 2009; BRAUNA; TRUMELA; BÉZILLE, 2010), pode-se considerar que a pequena redução em sua atividade deve-se ao condicionamento dos animais à contenção e manipulação, o que diminuiu o tempo e o estresse durante a realização das colheitas.

A redução nos níveis de Ca nos primeiros oito dias corrobora as observações de diminuição desta variável em vacas com ARS (RODRÍGUEZ-LECOMPTE et al., 2014) e ovinos com ARA (PATRA; LAL; SWARUP, 1993). As concentrações de P reduziram nos primeiros oito dias, mas aumentaram até a 13ª semana, semelhante ao aumento observado em ovinos alimentados por 21 dias com 70% de fubá de milho ou farelo de trigo, associado à redução no tempo de ruminação (MINERVINO et al., 2014). A hipocalcemia é um achado frequente na endotoxemia, em doenças gastrintestinais (RUSSEL; ROUSSEL, 2007) e em problemas sistêmicos resultantes em anorexia, os quais diminuem a ingestão de Ca (RADOSTITS et al., 2007; CARLSON, 2009). Adicionalmente, na acidose ruminal, pode haver diminuição na concentração de Ca sérico pela redução na sua absorção intestinal (JONES; SMITH, 2009). A diminuição na concentração sérica de P também ocorre sob condições similares às causadoras de hipocalcemia (RADOSTITS et al., 2007).

As médias de Cai aumentaram antes do 10º dia e diminuíram até a 12ª semana. O Cai tem sido pouco investigado em ovinos, mas, como em outras espécies, seu uso deve ser considerado no diagnóstico clínico (BRAUNA; TRUMELA; BÉZILLE, 2010). Na acidose, mais cálcio se separa da albumina e outras proteínas séricas, resultando em aumento na concentração de Cai (RUSSEL; ROUSSEL, 2007).

As médias de Mg aumentaram até a nona semana, o que corrobora o aumento em vacas induzidas à ARS por quatro semanas (RODRÍGUEZ-LECOMPTE et al., 2014). A diminuição inicial na curva de Na nos primeiros nove dias corrobora a observação de redução nos valores desta variável por 17 dias em cordeiros desafiados com grãos (ODONGO et al., 2006) e aos 14 dias de indução de bovinos à

ARS (BROWN et al., 2000). O posterior aumento assemelha-se ao observado em vacas submetidas à ARS por três semanas (LI et al., 2012). Mudanças no balanço hídrico são primariamente responsáveis pelas mudanças na concentração sérica de Na (RUSSEL; ROUSSEL, 2007; CARLSON; BRUSS, 2008; CARLSON, 2009). A diminuição nos níveis de Na pode ter ocorrido pela perda de fluidos na diarreia (RADOSTITS et al., 2007; RUSSEL; ROUSSEL, 2007), na qual a água perdida é repostada pelo consumo, mas não os eletrólitos (RADOSTITS et al., 2007; CARLSON; BRUSS, 2008; CARLSON, 2009) e por mudanças no balanço de fluidos pela hiperosmolaridade do conteúdo do rúmen na acidose ruminal (JONES; SMITH, 2009).

Os níveis de Cl aumentaram durante o período de observação, assim como descrito em cordeiros desafiados com grãos (ODONGO et al., 2006) e ao contrário de vacas submetidas à ARS por três semanas, para as quais estes valores diminuíram (LI et al., 2012). A concentração de Cl tende a variar inversamente à de bicarbonato sanguíneo, portanto mudanças desproporcionais nos Cl em relação ao Na podem indicar desequilíbrio ácido-base (RUSSEL; ROUSSEL, 2007; CARLSON; BRUSS, 2008; CARLSON, 2009) e, assim como o Na, alterações nos Cl podem refletir desbalanço de fluidos em resposta à hiperosmolaridade do fluido ruminal na acidose (JONES; SMITH, 2009).

As médias de K aumentaram durante a pesquisa, contrariando a descrição de diminuição nestes valores em ovinos (PATRA; LAL; SWARUP, 1993) e caprinos (ABDALNOOR, 2014) induzidos à ARA. Níveis mais elevados de K foram relacionados a bovinos vivenciando a ARS (BROWN et al., 2000) e podem resultar do movimento de K do espaço intra para o extracelular, geralmente associado à acidose metabólica (RADOSTITS et al., 2007; RUSSEL; ROUSSEL, 2007; CARLSON; BRUSS, 2008; CARLSON, 2009), pois o K intracelular é trocado pelo hidrogênio extracelular em excesso para manter a eletroneutralidade (RADOSTITS et al., 2007).

Observou-se aumento nas concentrações de glicose até o 12º dia, como descrito em bovinos (LI et al., 2012; MARCHESINI et al., 2013; RODRÍGUEZ-LECOMPTE et al., 2014), ovinos (ZEIN-ELDIN et al., 2014) e caprinos (ALMEIDA et al., 2008) induzidos à acidose ruminal. Marchesini et al. (2013) relacionaram o aumento na glicemia com a elevada ingestão de alimento concentrado, o qual era rico em amido e teria levado ao aumento na absorção de glicose no intestino delgado,

apesar dos ruminantes absorverem pouca glicose pré-formada a partir dos intestinos devido à fermentação microbiana dos carboidratos da dieta no rúmen (RUSSEL; ROUSSEL, 2007). Assim, pode-se também associar o discreto aumento na glicose plasmática observado ao estresse, excitação e dor severa, mediada por aumento de catecolaminas e hormônios glicocorticóides que aumentam a gliconeogênese em ruminantes (RUSSEL; ROUSSEL, 2007; CARLSON, 2009).

Os níveis de PTP diminuíram nos primeiros 18 dias, aumentando pelo restante do tempo de observação, contrariando os relatos em animais induzidos à ARA de elevação, correlacionada à desidratação, nas concentrações de proteína total nas primeiras horas após indução (PATRA; LAL; SWARUP, 1996; ALMEIDA et al., 2008; ISMAIL et al., 2010; GUPTA et al., 2012; VIEIRA et al., 2012; ZEIN-ELDIN et al., 2014). Pode-se considerar que a diminuição inicial seja devido à perda de nutrientes na diarreia, associada à menor ingestão de alimento e, além disso, dietas com altas proporções de concentrado tem sido associadas ao uso prejudicado da proteína dietética (JONES; SMITH, 2009). Os níveis de albumina aumentaram durante o experimento, como observado nos momentos iniciais de indução à ARA (ALMEIDA et al., 2008; ISMAIL et al., 2010; VIEIRA et al., 2012). Possivelmente, a elevação da albumina sérica deve-se ao aumento da ingestão proteica na dieta com alta proporção de alimento concentrado.

Observou-se aumento nas concentrações de ureia até a 11^a semana, semelhante ao descrito em ovinos induzidos à ARA (PATRA; LAL; SWARUP, 1996) e ao contrário do relatado para bovinos com ARA (DE NARDI et al., 2013) e ARS (LI et al., 2012; RODRÍGUEZ-LECOMPTE et al., 2014). A ureia é subproduto do catabolismo proteico (RUSSEL; ROUSSEL, 2007) e indicador de suprimento alimentar e utilização de proteínas em ovinos (RUSSEL; ROUSSEL, 2007; KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008; BRAUNA; TRUMELA; BÉZILLE, 2010). Portanto, assim como a PTP e a albumina, o aumento no nível de ureia sérica pode ser indicativo do aumento no fornecimento e metabolização da proteína fornecida na dieta.

Os níveis de BI e BT se elevaram na primeira semana e, apesar da bilirrubina apresentar-se aumentada em doenças hepatobiliares (BRAUNA; TRUMELA; BÉZILLE, 2010), níveis acima de 2 mg/dL indicam função hepática debilitada em ruminantes (CARLSON, 2009), limite que não foi alcançado durante a pesquisa.

As médias de colesterol diminuíram até o oitavo dia, semelhante à redução em bovinos induzidos à acidose ruminal por um dia, a qual foi relacionada ao status energético alterado nos animais por fatores como ingestão diária de alimento e pH ruminal (MARCHESINI et al., 2013) e, além disso, as concentrações de colesterol séricas foram úteis para distinguir bovinos afetados por ARS ou não (BROWN et al., 2000). O aumento marcante observado após a diminuição inicial nos níveis de colesterol sérico pode ser relacionado à alta ingestão energética diária e grande ganho de peso após adaptação dos animais à dieta.

Os níveis de creatinina reduziram durante o período de observação, porém dentro dos valores de referência para a espécie (CARLSON, 2009). Considerando-se que os níveis de creatinina sérica aumentam em casos de disfunção renal, percebe-se que estes animais não tiveram esta função comprometida (RUSSEL; ROUSSEL, 2007; CARLSON, 2009; BRAUNA; TRUMELA; BÉZILLE, 2010).

Os níveis de lactato sanguíneo reduziram durante o experimento, porém mantendo-se sempre acima dos limites estabelecidos para a espécie (RUSSEL; ROUSSEL, 2007), ao contrário do descrito em vacas submetidas à ARS por três semanas (LI et al., 2012). Em animais induzidos à ARA, relata-se aumento dos níveis de lactato sanguíneo (PATRA; LAL; SWARUP, 1993; RUSSEL; ROUSSEL, 2007; JONES; SMITH, 2009), pois este contribui para a acidose metabólica em ruminantes (RUSSEL; ROUSSEL, 2007). A diminuição das médias do lactato confirma que, na ARS, a população microbiana se adapta à dieta rica em grãos com aumento dos microrganismos amilolíticos e lactolíticos, de forma que o ácido láctico não se acumula (GOAD; GOAD; NAGARAJA, 1998; ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002).

4.5 Necroscopia

Alterações macroscópicas, tais como rumenite (KREHBIEL et al., 1995; NORDLUND; GARRET; OETZEL, 1995; NOCEK, 1997; MARIE KRAUSE; OETZEL, 2006), abscessos hepáticos, peritonite, infecções secundárias nos pulmões, válvulas cardíacas, rins e articulações (NORDLUND; GARRET; OETZEL, 1995; NOCEK, 1997) e paraqueratose ruminal (KREHBIEL et al., 1995), não foram observadas à necroscopia dos animais, indicando boa adaptação à dieta empregada.

5. Conclusões

As avaliações realizadas permitiram concluir que a indução de ARS em ovinos com o uso de alimento concentrado causou alterações clínicas, no fluido ruminal, hematológicas e bioquímicas séricas, principalmente nas primeiras semanas de observação, em comparação ao período no qual os animais se alimentavam exclusivamente com feno, sendo relacionadas à adaptação ao regime alimentar empregado.

6. Referências

- ABDALNOOR, K. M. O. **Blood profile in experimentally induced lactic acidosis in desert goats**. 2014. 68 f. Tese (Master of Veterinary Science) - University of Nyala, Nyala, 2014.
- ALMEIDA, M. Z. P. R. B.; MENDONÇA, C. L.; AFONSO, J. A. B.; MIRANDA NETO, E. G. Estudo clínico, hematológico e bioquímico em caprinos submetidos à acidose láctica ruminal induzida experimentalmente. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 15, n. 1, p. 100-113, 2008.
- ARCURI, P. B.; LOPES, F. C. F.; CARNEIRO, J. C. Microbiologia do rúmen. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. (Eds.). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 183-228.
- BRAUNA, J. P.; TRUMELA, C.; BÉZILLE, P. Clinical biochemistry in sheep: a selected review. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 92, n. 1-3, p. 10-18, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.04.002>>.
- BROSSARD, L.; MARTIN, C.; MICHALET-DOREAU, B. Ruminal fermentative parameters and blood acid-basic balance changes during the onset and recovery of induced latent acidosis in sheep. **Animal Research**, Les Ulis, v. 52, p. 513-530, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1051/animres:2003036>>.
- BROWN, M. S.; KREHBIEL, C. R.; GALYEAN, M. L.; REMMENG, M. D.; PETERS, J. P.; HIBBARD, B.; ROBINSON, J.; MOSELEY, W. M. Evaluation of models of acute and subacute acidosis on dry matter intake, ruminal fermentation, blood chemistry, and endocrine profiles of beef steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, n. 12, p. 3155-3168, 2000.
- CARLSON, G. P. Clinical chemistry tests. In: SMITH, B. P. **Large Animal Internal Medicine**. 4. ed. Saint Louis: Mosby Elsevier, 2009. p. 375-435.

CARLSON, G. P.; BRUSS, M. Fluid, electrolyte, and acid-base balance. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008. p. 529-559.

DE NARDI, R.; MARCHESINI, G.; GIANESELLA, M.; RICCI, R.; MONTEMURRO, F.; CONTIERO, B.; ANDRIGHETTO, I.; SEGATO, S. Blood parameters modification at different ruminal acidosis conditions. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, Zagreb, v. 78, n. 3, p. 259-262, 2013.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H.D.; STÖBER, M. **Rosenberger: exame clínico de bovinos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 420 p.

ENEMARK, J. M. D.; JORGENSEN, R. J.; ENEMARK, P. S. Rumen acidosis with special emphasis on diagnostic aspects of subclinical rumen acidosis: a review. **Veterinarija ir Zootechnika**, Kaunas, v. 20, n. 42, p. 16-29, 2002.

ESPINASSE, J.; KUIPER, R.; SCHELCHER, F. Physiopathologie du complexe gastrique. In: JARRIGE, R.; RUCKEBUSCH, Y.; DEMARQUILLY, C.; FARCE, M. H.; JOURNET, M. **Nutrition des ruminants domestiques. Ingestion et digestion**. Versailles: INRA Editions, 1995. p. 805-852.

FEITOSA, F. L. F. Exame físico geral ou de rotina. In: FEITOSA, F. L. F. (Ed.). **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008. cap. 4, p. 77-102.

GOAD, D. W.; GOAD, C. L.; NAGARAJA, T. G. Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, n. 1, p. 234-241, 1998.

GONZÁLEZ, L.A.; MANTECA, X.; CALSAMIGLIA, S.; SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K.S.; FERRET, A. Ruminal acidosis in feedlot cattle: interplay between feed ingredients, rumen function and feeding behavior (a review). **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 172, n. 1-2, p. 66-79, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.12.009>>.

GREGORY, P. C. Inhibition of reticulo-ruminal motility by volatile fatty acids and lactic acid in sheep. **The Journal of Physiology**, London, v. 382, p. 355-371, 1987.

GUPTA, S.R.; YADAV, R.; SHARMA, C.S.; GATTANI, A. Dietary induced metabolic acidosis in goats and its successful therapeutic management. **Veterinary Practitioner**, Bikaner, v. 13, n. 2, p. 312-314, 2012.

HAJIKOLAEI, M. R. H.; NOURI, M.; AFSHAR, F. S.; DEHKORDI, A. J. Effects of experimentally induced ruminal lactic acidosis on blood pH, bicarbonate and pCO₂ in the sheep. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v. 9, n. 10, p. 2003-2005, 2006.

ISMAIL, M.; MAHMOUD, A. A.; NASR, M. Y.; BADR, Y. A. Clinical and laboratory studies on experimentally induced acute ruminal lactic acidosis in male goats. **Alexandria Journal of Veterinary Sciences**, Alexandria, v. 31, n. 1, p. 53-62, 2010.

JACKSON, P. G. G.; COCKCROFT, P. D. **Clinical examination of farm animals**. Malden: Blackwell Science, 2002. 313 p.

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417 p.

JONES, M. L.; ALLISON, R. W. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. **Veterinary Clinics - Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 23, n. 3, p. 377-402, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.cvfa.2007.07.002>>.

JONES, S. L.; SMITH, B. P. Diseases of alimentary tract. In: SMITH, B. P. **Large Animal Internal Medicine**. 4. ed. Saint Louis: Mosby Elsevier, 2009. 1825 p.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008. 928 p.

KLEEN, J. L.; HOOIJER, G. A.; REHAGE, J.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M. Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, Berlin, v. 50, n. 8, p. 406-414, 2003.

KREHBIEL, C. R.; BRITTON, R. A.; HARMON, D. L.; WESTER, T. J.; STOCK, R. A. The effect of ruminal acidosis on volatile fatty acid absorption and plasma activities of pancreatic enzymes in lambs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 10, p. 3111-3121, 1995.

LI, S.; GOZHO, G. N.; GAKHAR, N.; KHAFIPOUR, E.; KRAUSE, D. O.; PLAIZIER, J. C. Evaluation of diagnostic measures for subacute ruminal acidosis in dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 92, p. 353-364, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4141/CJAS2012-004>>.

LIMA, M. B.; MONTEIRO, M. V. B.; JORGE, E. M.; CAMPELLO, C. C.; RODRIGUES, L. F. S.; VIANA, R. B.; MONTEIRO, F. O. B.; COSTA, C. T. C. Intervalos de referência sanguíneos e a influência da idade e sexo sobre parâmetros hematológicos e bioquímicos de ovinos da raça Santa Inês criados na Amazônia Oriental. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 45, n. 3, p. 317 - 322, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1809-4392201402115>>.

LOVATT, F. M. Clinical examination of sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 92, n. 1-3, p. 72-77, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.04.020>>.

MARCHESINI, G.; DE NARDI, R.; GIANESELLA, M.; STEFANI, A.L.; MORGANTE, M.; BARBERIO, A.; ANDRIGHETTO, I.; SEGATO, S. Effect of induced ruminal acidosis on blood variables in heifers. **BMC Veterinary Research**, London, v. 9, n. 98, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/1746-6148-9-98>>.

MARIE KRAUSE, K.; OETZEL, G. R. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: a review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 126, n. 3-4, p. 215-236, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.08.004>>.

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Medicina de laboratório veterinária: interpretação e diagnóstico**. São Paulo: Roca, 1995. 308 p.

MINERVINO, A. H. H.; ARAÚJO, C. A. S. C.; KAMINISHIKAWAHARA, C. M.; SOARES, F. B.; RODRIGUES, F. A. M. L.; REIS, L. F.; OLIVEIRA, F. L. C.; BARRÊTO JÚNIOR, R. A.; MORI, C. S.; ORTOLANI, E. L. Influência de diferentes dietas com alto teor de concentrados sobre parâmetros ruminais, bioquímicos e urinários de ovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 51, n. 1, p. 30-36, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v51i1p30-36>>.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Instrução Normativa nº 3, de 17 de janeiro de 2000**: Regulamento Técnico de Métodos de Insensibilização para o Abate Humanitário de Animais de Açougue. Brasília, 2000. 8 p.

MORGANTE, M.; GIANESELLA, M.; CASELLA, S.; RAVAROTTO, L.; STELLETTA, C.; GIUDICE, E. Blood gas analyses, ruminal and blood pH, urine and faecal pH in dairy cows during subacute ruminal acidosis. **Comparative Clinical Pathology**, London, v. 18, n. 3, p. 229-232, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00580-008-0793-4>>.

MORRIS, D. D. Alterations in the erythron. In: SMITH, B. P. **Large Animal Internal Medicine**. 4. ed. Saint Louis: Mosby Elsevier, 2009a. p. 400-404.

MORRIS, D. D. Alterations in the leukogram. In: SMITH, B. P. **Large Animal Internal Medicine**. 4. ed. Saint Louis: Mosby Elsevier, 2009b. p. 405-410.

NOCEK, J. E. Bovine Acidosis: Implications on Laminitis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 5, p. 1005-1028, 1997.

NORDLUND, K. V.; GARRETT, E. F.; OETZEL, G. R. Herd-based rumenocentesis: a clinical approach to the diagnosis of subacute rumen acidosis. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, Yardley, v. 17, p. S48-S56, 1995.

ODONGO, N. E.; ALZAHAL, O.; LINDINGER, M. I.; DUFFIELD, T. F.; VALDES, E. V.; TERRELL, S. P.; MCBRIDE, B. W. Effects of mild heat stress and grain challenge on acid-base balance and rumen tissue histology in lambs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, n. 2, p. 447-455, 2006.

OSSENT, P.; LISCHER, C. Post mortem examination of the hooves of cattle, horses, pigs and small ruminants under practice conditions. **In Practice**, London, v. 19, n. 1, p. 21-29, 1997. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1136/inpract.19.1.21>>.

OWENS, F. N.; SECRIST, D. S.; HILL, W. J.; GILL, D. R. Acidosis in cattle: a review. **Journal of Animal Sciences**, Champaign, v. 76, n. 1, p. 275-286, 1998.

PATRA, R. C.; LAL, S. B.; SWARUP, D. Physicochemical alterations in blood, cerebrospinal fluid and urine in experimental lactic acidosis in sheep. **Research in Veterinary Science**, London, v. 54, n. 2, p. 217-220, 1993.

PATRA, R. C. LAL, S. B.; SWARUP, D. Biochemical profile of rumen liquor, blood and urine in experimental acidosis in sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 19, n. 2, p. 177-180, 1996. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/0921-4488\(95\)00743-1](http://dx.doi.org/10.1016/0921-4488(95)00743-1)>.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Veterinary Medicine**. 10. ed. London: Saunder Elsevier, 2007. 2065 p.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MENDEZ, M. C.; LEMOS, R. A. A. **Doenças de ruminantes e eqüinos**. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 574 p.

RODRÍGUEZ-LECOMPTE, J. C.; KROEKER, A. D.; CEBALLOS-MÁRQUEZ, A.; LI, S.; PLAIZIER, J. C.; GOMEZ, D. E. Evaluation of the systemic innate immune response and metabolic alterations of nonlactating cows with diet-induced subacute ruminal acidosis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 12, p. 7777-7787, 2014.

RUSSELL, K. E.; ROUSSEL, A. J. Evaluation of the Ruminant Serum Chemistry Profile. **Veternay Clinics - Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 23, n. 3, p. 403-426, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.07.003>>.

SALVIANO, M. B.; SOUSA JÚNIOR. A.; MOURA, W. L. Valores hematológicos de ovelhas Santa Inês adultas não prenhes. **Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária**, Garça, v. 11, n. 20, p. 1-12 2013.

SILVA, N. S.; SILVEIRA, J. A. S.; CAMPOS, K. F.; SOUSA, M. G. S.; LOPES, C. T. A.; OLIVEIRA, C. M. C.; DUARTE, M. D.; BARBOSA, J. Acidose ruminal em ovinos, diagnosticada pela central de diagnóstico veterinário (CEDIVET) da Universidade Federal do Pará, no período de 2000 a 2008. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, supl. 1, p. 191-196, 2009.

SMITH, B. P.; MAGDESIAN, K. G. Alterations in alimentary and hepatic function. In: SMITH, B. P. **Large Animal Medicine**. 4. ed. Saint Louis: Mosby Elsevier, 2009. p. 96-169.

SOBRINHO, A. G. S.; BATISTA, A. M. V.; SIQUEIRA, E. R.; ORTOLANI, E. L.; SUSIN, I.; SILVA, J. F. C.; TEIXEIRA, J. C.; BORBA, M. F. S. **Nutrição de ovinos**. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 258 p.

TERRA, R. L. Ruminant history, physical examination, and records. In: SMITH, B. P. **Large Animal Internal Medicine**. 4. ed. Saint Louis: Mosby Elsevier, 2009. p. 3-14.

VIEIRA, A. C. S.; AFONSO, J. A. B.; MENDONÇA, C. L.; COSTA, N. A.; SOUZA, M. I. Estudo retrospectivo da acidose láctica em caprinos e ovinos atendidos na Clínica de Bovinos, Câmpus Garanhuns/UFRPE. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 1, n. 1, p. 97-101, 2006.

VIEIRA, A. C.; CÂMARA, A. C.; MENDONÇA, C. L.; AFONSO, A. B. Hematological and biochemical profile of sheep supplemented with salinomycin and submitted to experimental lactic ruminal acidosis. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 13, n. 2, p. 259-271, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5216/cab.v13i2.17263>>.

WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6. ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2010. 1206 p.

ZEIN-ELDIN, M.M.; GHANEM, M.M.; ABD EL-RAOF, Y.M.; EL-ATTAR, H.M.; EL-KHAIAT, H.M. Clinical, haematobiochemical and ruminal changes during the onset and recovery of induced lactic acidosis in sheep. **Biotechnology in Animal Husbandry**, Belgrade, v. 30, n. 4, p. 647-659, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2298/BAH1404647Z>>.

CAPÍTULO 4 - Acid-base balance in Santa Inês sheep (*Ovis aries*) under long-term ingestion of a high concentrate diet

Annita Moraes Girardi^{1*}, Amanda Festa Sabes¹, Darcio Zangirolami Filho¹, Gabriela Marchiori Bueno¹, João Ademir de Oliveira², Luiz Carlos Marques¹

¹ Department of Veterinary Clinic and Surgery, School of Agrarian and Veterinary Sciences, São Paulo State University. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, Brazil.

² Department of Exact Sciences, School of Agrarian and Veterinary Sciences, São Paulo State University. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, Brazil.

*Corresponding author. E-mail address: annitamgirardi@gmail.com. Telephone: +5516992335198

Acknowledgments: This work was funded by grants #2012/09111-7 and #2012/09220-0 from the São Paulo Research Foundation (FAPESP).

Ethical approval: This study was approved by the Ethics Commission in Use of Animals of the School of Agrarian and Veterinary Sciences (Protocol no. 008891/12). All procedures performed in studies involving animals were in accordance with the ethical standards of the institution at which the studies were conducted.

Artigo formatado conforme normas para submissão à revista Veterinary Research Communications.

Abstract

This study evaluated the effects of a 19-week daily ration of 80% concentrate feed on ruminal pH, urine pH, and arterial blood gases in seven hay-adapted ewes. Assessments were performed before treatment, daily for 15 days after the dietary change, every other day until the end of the first month, and weekly for the remainder of the experiment. Measurements were taken for the pH of rumen fluid, urine, and arterial blood; arterial partial pressures of oxygen (pO_2) and carbon dioxide (pCO_2); bicarbonate (HCO_3^-), base excess (BE) and carbon dioxide (ct CO_2) concentrations; oxygen saturation (SO_2); and anion gap (AG). Ruminal pH decreased until the 11th day, and then increased until the 13th week, after which it decreased again. Urine pH decreased significantly during the first 14 days and remained low throughout the experiment. Levels of SO_2 were not significantly related to time. Blood pH declined until the 24th day, and then increased. The means of pO_2 and AG increased throughout the entire study period. Concentrations of pCO_2 decreased for the first 8 days, increased until the 8th week, and then decreased. Similarly, HCO_3^- , BE, and CO_2 concentrations decreased until the 10th day, increased until the 11th week, and subsequently decreased. Statistically significant correlations were found between blood pH and BE, pO_2 and SO_2 , pCO_2 and ct CO_2 , HCO_3^- and BE, HCO_3^- and ct CO_2 , and BE and ct CO_2 . The results indicated that long-term ingestion of a high concentrate diet induced respiratory and metabolic compensations to maintain the blood pH within physiological limits.

Keywords: blood gas analysis; blood gases; ovine; Santa Inês; subacute ruminal acidosis; urine pH

Introduction

The growing sheep meat industry has increased the number of feedlot animals, which are susceptible to disorders such as ruminal acidosis. This disorder can cause economic problems because of treatment costs, lower herd productivity, disposal of animals, and decrease in animal welfare. Acidosis of ruminants is often divided into

several forms, including acute and subacute (also called chronic, latent, or subclinical) types (Owens et al. 1998; Kleen et al. 2003).

Subacute ruminal acidosis (SARA) is more frequent than its acute manifestation (Enemark et al. 2002), but is more difficult to characterize because biological parameters in the rumen fluctuate within physiological limits (Espinasse et al. 1995). SARA is defined as an intermittent decrease in ruminal pH to non-physiological levels after the intake of a diet low in structure and high in energy, and caused by a ruminal environment non-adapted to adequately fermenting and absorbing the arising short-chain fatty acids (SCFA) (Kleen et al. 2003). However, the ruminal microbial population is adapted to limiting lactic acid accumulation from diets rich in grains with many amylolytical and lactolytical microorganisms (Enemark et al. 2002). SARA clinical consequences manifest after a delay from the initial insult (Kleen et al. 2003), such as reduced feed intake and performance, but animals may not appear sick (Owens et al. 1998). Ruminal pH has been approximately 5.5 in cases of chronic rumen acidosis (Owens et al. 1998; Enemark et al. 2002; Kleen et al. 2003).

The influence of low rumen pH in systemic metabolic acidosis is uncertain (Enemark et al. 2002), but ruminal acidosis is considered a major cause of metabolic acidosis (Patra et al. 1993; Carlson 2009). Several authors reported that offering ruminants a diet with a high carbohydrate concentration decreases their blood pH (Patra et al. 1996; Nour et al. 1998; Brown et al. 2000; Hajikoalei et al. 2006; Radostits et al. 2007). Metabolic acidosis is characterized by a blood pH less than 7.35, without elevated $p\text{CO}_2$ (Jones 2010), but with lowered HCO_3^- concentration (Fletcher and Dhrampal 2003; Sucupira and Ortolani 2003; Baylis and Till 2009; Carlson 2009), and a significant base deficit (Fletcher and Dhrampal 2003). Metabolic acidosis can be compensated by respiratory and renal functions (Houpt 2006; Radostits et al. 2007; Carlson 2009; Jones 2010).

Integrative research, including ruminal and blood biological parameters, is needed to better characterize the aspects and evolution of latent acidosis (Brossard et al. 2003). Despite the large number of studies in cattle, the comparison between these animals and sheep may be flawed, because, even among cattle breeds, there are differences in the effects of ruminal and metabolic lactic acidosis (Maruta and Ortolani 2002; Ortolani et al. 2010). Thus, the present study evaluated the long-term effects of

a high concentrate diet on ruminal pH, urine pH, and arterial blood gases in Santa Inês (*Ovis aries*) sheep (a Brazilian rustic, woolless hair breed used for meat production).

Materials and methods

Seven ruminally cannulated healthy ewes were used. Only female sheep were included to decrease the risk of urethral obstruction, more common in male sheep, caused by high intake of unbuffered concentrated feed (Radostits et al. 2007). During the adaptation period, which lasted for a minimum of 60 days, the ewes were kept in hygienic pens, and were fed a basal diet of coast cross hay (*Cynodon* spp.), drinking water, and a mineral mixture (Tortuga Ovinofós com minerais orgânicos, Tortuga Companhia Zootécnica Agrária, São Paulo, São Paulo, Brasil) *ad libitum*. For induction, the ewes received a diet based on their average consumption during the adaptation period (2 kg of organic matter·animal⁻¹·day⁻¹), in which 10 to 80% of the daily ration of roughage was replaced with concentrate feed (76.8% ground corn, 18.2% soybean meal, and 5% mineral core - Guabi Ruminúcleo Ovinos 40 ADE, Mogiana Alimentos S/A, Campinas, São Paulo, Brasil), percentage maintained thereafter. The control values were the means of the weekly assessments performed 3 weeks prior to induction. After the dietary change, measurements were obtained daily for 15 days, every other day until the end of the first month, and weekly during the remainder of the 5-month experiment.

Sampling was performed in the morning, prior to feeding. Urine samples, resulting from spontaneous urination or gentle vulvar massage (Enemark et al. 2002), were collected in sterile 80 mL lidded containers. When the massage was not sufficient, the animal's breathing was restricted for a maximum of 30 seconds, a procedure that also induces urination in sheep (Jackson and Cockcroft 2002). Ten mL of ruminal fluid were obtained through the ruminal cannula using a disposable pipette, which was then packed in a sterile 15 mL conical tube and immediately analyzed.

To collect arterial blood samples, the ewes were placed in dorsal decubitus under physical restraint in a hoof-trimming crush (Tronco tombador para ovinos e caprinos ITC do Brasil, Patina Indústria e Comércio de Produtos Agropecuários Ltda, Castro, Paraná, Brasil). The auricular or carotid artery was punctured with 25 × 7 mm

disposable hypodermic needles, and blood was collected in syringes with lyophilized lithium heparin (BD Preset, BD Diagnostics, Brazil). Air bubble formation was avoided and the syringes were sealed to prevent ambient gas exchange (Sucupira and Ortolani 2003; Leal et al. 2006; Radostits et al. 2007; Carlson and Bruss 2008; Carlson 2009). The syringes were stored at 4°C (Radostits et al. 2007) for at least 30 min before analysis.

The pH of rumen fluid and urine was evaluated by digital pHmeter (Digimed DM20, Digicrom Analítica Ltda., Brazil). Hemogasometric measurements were performed using a benchtop analyzer (Roche Omni C, Roche Diagnostics GmbH, Germany). Values were corrected by body temperature (Carlson and Bruss 2008; Baylis and Till 2009; Carlson 2009). Measurements were taken for the pH of rumen fluid, urine, and arterial blood; arterial partial pressures of oxygen (pO_2) and carbon dioxide (pCO_2); bicarbonate (HCO_3^-), base excess (BE) and carbon dioxide ($ctCO_2$) concentrations; oxygen saturation (SO_2); and anion gap (AG).

Data analysis was performed using the statistical software package SAS 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA) to assess the relationships between variables and time using Pearson's correlation coefficient and linear, quadratic, and cubic regression. The correlation level was considered weak ($0.01 \leq r \leq 0.39$), moderate ($0.40 \leq r \leq 0.69$), or strong ($0.70 \leq r \leq 1.00$). The statistical significance was set at $P \leq 0.05$.

Results

The means, standard deviations, and coefficient of variation (CV) for the variables analyzed are presented in Table 1. The graphic representations of the regression analysis between each variable and time are shown in Figures 1 and 2.

Ruminal pH decreased until the 11th day, and then increased until the 13th week, when it subsequently decreased ($P < 0.0001$). Urine pH significantly decreased in the first 14 days and remained low throughout the experiment ($P < 0.001$) (Figure 1).

Levels of SO_2 were not significantly related to time ($P > 0.05$). Blood pH declined slightly until the 24th day, and then increased ($P \leq 0.05$). The means of pO_2 ($P \leq 0.05$) and AG ($P < 0.01$) increased throughout the study period. Concentrations of pCO_2

decreased in the first 8 days, increased until the 8th week, and then decreased ($P \leq 0.05$). Similarly, HCO_3^- ($P < 0.001$), BE ($P < 0.001$), and ctCO₂ ($P < 0.01$) concentrations decreased until the 10th day, increased until to the 11th week, then subsequently decreased (Figure 2).

Strong correlations were found between blood pH and BE ($r = 0.73$), pO₂ and SO₂ ($r = 0.79$), pCO₂ and ctCO₂ ($r = 0.73$), HCO_3^- and BE ($r = 0.94$), HCO_3^- and ctCO₂ ($r = 0.99$), and BE and ctCO₂ ($r = 0.91$) (Table 2).

Discussion

The decrease in pH of the rumen fluid during the first days was most likely due to the rapid daily introduction of concentrate food in the diet. Similarly, hay-adapted dairy cattle, after feeding a high-grain diet for 3 weeks, showed reduction in ruminal pH, and increase in SCFA concentration and osmolality in rumen fluid, but SARA was diagnosed only during week 1, indicating ruminal adaptation (Steele et al. 2011); and, as the diet starch level increases, increased the time per day that ruminal pH was below 5.0, in bovines (De Nardi et al. 2013).

Al Jassim et al. (2003) observed that hay-adapted sheep, such as those used in this study, are more susceptible than pasture-adapted sheep to lactic acidosis, because they showed greater increases in ruminal SCFA and increased ruminal lactate concentrations after grain overload. Studies that induced acute lactic ruminal acidosis in small ruminants reported decreases in ruminal pH hours after the carbohydrate overload because of the increased ruminal lactic acid concentration (Patra et al. 1993; Patra et al. 1996; Nour et al. 1998). Ruminants adapted or unadapted to an acidotic diet and induced to SARA showed declines in ruminal pH (Mackie et al. 1978; Goad et al. 1998; Brossard et al. 2003; Khafipour et al. 2009; Li et al. 2012; Rodríguez-Lecompte et al. 2014), but this decrease was considered to be caused primarily by an increase in the SCFA concentration rather than by the increase in ruminal lactate levels (Mackie et al. 1978; Goad et al. 1998; Brossard et al. 2003, Li et al. 2012). Brown et al. (2000) did not observe any change in ruminal status of steers maintained for 2 weeks on a 50% concentrate diet after a subacute acidosis challenge (Brown et al. 2000). However, none of the aforementioned studies examined changes

in ruminal pH in animals fed a high concentrate diet for as long a period as that used in the present research, which showed a fluctuation in the ruminal pH after the initial decrease.

The ruminal pH recuperation could be because, in sheep adapted to concentrate diets, bicarbonate secretion into the reticulo-rumen may be an important factor for alkalizing the rumen contents with high SCFA (Gäbel et al. 1991) and, as described in cattle by Schwaiger et al. (2013), the duration of time that ruminants are fed a high-grain diet may increase propionate, butyrate, and lactate absorption in the rumen. Moreover, in the present study, the concentrated feed and hay were provided separately *ad libitum*, which allowed for analysis of how feeding behavior influences SARA, because sheep can adapt to acidosis challenges by modifying feeding behavior (Commun et al. 2012), and ovines that are fed grain-based diets prefer foods and solutions that attenuate acidosis (Cooper et al. 1996; Phy and Provenza 1998). Similarly, cattle fed free-choice diets containing barley grain self-regulate intake to have similar composition, intake level, and ruminal pH and volatile fatty acids (VFA) profile to those fed a total mixed ration (Moya et al., 2011); and bovines on repeated ruminal acidosis challenges had reluctance to consume diets rich in starch after experiencing ruminal acidosis, which could be explained as an attempt to avoid the effects of the very low ruminal pH (Dohme et al. 2008; Marchesini et al. 2013). This fact is supported by this study, which evaluated the daily conditions in sheep feedlots. SARA is characterized by a ruminal pH of 5.5 or lower (Owens et al. 1998; Enemark et al. 2002; Kleen et al. 2003) which, although it approached this limit at times, was not observed in this study. This does not exclude the occurrence of an acidotic condition because further parameters are needed to characterize latent acidosis (Brossard et al. 2003).

Although it is easier to collect venous blood than arterial blood (Sucupira and Ortolani 2003), arterial samples are preferred for an acid-base balance analysis (Sobiech et al. 2005; Houpt 2006). As described by Sobiech et al. (2005), high frequency arterial blood collection from sheep was quite difficult, and it occasionally resulted in excessive bleeding and hematoma formation. However, it became practical after some training and changes in the type of physical restraint. Only one study on acid-base balance in ruminal acidosis using arterial blood samples was found in the

literature (Laskoski et al. 2014). The hemogasometric results were therefore also compared to research that used venous blood samples (Patra et al. 1993; Patra et al. 1996; Goad et al. 1998; Brown et al. 2000; Brossard et al. 2003; Hajikolaie et al. 2006).

No significant changes in SO_2 were found in sheep induced to ruminal lactic acidosis by concentrate intake (Laskoski et al. 2014) or in sheep fed with 100% hay or under an acidotic diet (Brossard et al. 2003).

The temporally increasing trend of pO_2 contradicts the findings of Brossard et al. (2003), who observed that pO_2 was lower in sheep fed with 60% pelleted ground wheat plus 40% hay than in sheep fed with 100% hay. In addition, Laskoski et al. (2014) did not observe significant changes in pO_2 in sheep induced to rumen acidosis with concentrate feed. These observations can be attributed to the reduction in the affinity of hemoglobin for O_2 in low pH conditions (increased CO_2 and H^+ concentration), causing the oxyhemoglobin dissociation curve to shift to the right, implying an increase in pO_2 (Baylis and Till 2009; Jones 2010). The oxyhemoglobin dissociation curve also explains the observed strong direct correlation between pO_2 and SO_2 .

After declining slightly in most of the first experimental month, blood pH subsequently returned to the control value. Considering that metabolic acidosis is characterized by a blood pH less than 7.35 without concurrent elevated pCO_2 (Jones 2010), the means calculated in this study showed that systemic acidosis was not reached, although occasionally, blood pH reached this lower limit. Animals induced to acute ruminal acidosis showed reduction in blood pH within the first days after carbohydrate overload (Patra et al. 1993; Patra et al. 1996; Brown et al. 2000; Hajikolaie et al. 2006; Laskoski et al. 2014), as was observed in this study during the rapid introduction of concentrate feed. The observed initial reduction in pH is similar to the findings of Goad et al. (1998), who described a slight decrease in blood pH in hay-adapted and grain-adapted steers under a 3-day all-grain diet. The subsequent increase is similar to the observation of Brown et al. (2000), of increase in blood pH in steers fed a 14-day ad libitum 50% concentrate diet. However, Brossard et al. (2003) did not find any variation between the blood pH of sheep fed an all-hay diet and that of sheep fed an acidotic diet for 2 weeks. The use of blood pH values may be useful for diagnosing SARA, because pH may decrease in this disorder (Kleen et al. 2003).

However, this study demonstrated that under long-term analysis, blood pH varied considerably.

Concentrations of $p\text{CO}_2$ decreased in the first 8 days and varied throughout the remainder of the experiment. This finding is in agreement with Hajikolaei et al. (2006), who observed decreases in the $p\text{CO}_2$ in sheep 24 hours after induction to acute ruminal acidosis; Li et al. (2012), for whom grain-based SARA challenge for three weeks decreased the blood $p\text{CO}_2$ of dairy cow; and De Nardi et al. (2013), which reported reduction in $p\text{CO}_2$ on the day of induction of subacute ruminal acidosis in cattle. However, the findings of this study are in disagreement with studies that did not detect differences in $p\text{CO}_2$ for sheep induced to subacute (Brossard et al. 2003) or acute (Laskoski et al. 2014) ruminal acidosis. Differences of $p\text{CO}_2$ in the pathological stages of SARA suggests, more probably, a subacute ruminal acidosis (Morgante et al., 2009). The decrease in $p\text{CO}_2$, primarily in the first days, may be due to the response of chemoreceptors in the brain to the increased concentration of hydrogen ions, thereby inducing the alveolar ventilation to excrete more CO_2 and reducing the $p\text{CO}_2$ (Hajikolaei et al. 2006; Houpt 2006; Jones 2010), which in turn raises the ratio of HCO_3^- to carbonic acid and normalizes the pH (Fletcher and Dharampal 2003; Houpt 2006; Radostits et al. 2007; Baylis and Till 2009; Carlson 2009).

Bicarbonate concentration decreased until the 10th day, similar to the results of several studies. Hajikolaei et al. (2006) and Laskoski et al. (2014) found decreases in blood HCO_3^- until 48 hours after induction of acute acidosis in sheep; Goad et al. (1998) demonstrated blood HCO_3^- reduction in hay-adapted or grain-adapted steers under a 3-day all-grain diet; Brown et al. (2000) observed a decrease in HCO_3^- for 7 days after acute acidosis induction in steers; and De Nardi et al. (2013) reported that bovines induced to SARA by feeding diet with medium starch level showed drop in HCO_3^- concentration. The increase of HCO_3^- concentration up to the 11th week is similar to the findings of Brown et al. (2000) who observed that venous blood HCO_3^- increased for steers adapted to a 50% concentrate ad libitum diet over 7 days, and Morgante et al. (2009), whom reported increased HCO_3^- values in lactating cows with SARA. However, this observed oscillation in blood HCO_3^- levels disagrees with Brossard et al. (2003), who did not find any significant variation in this variable in sheep given an acidotic diet for 2 weeks.

Base excess concentrations decreased in the first 10 days and subsequently increased up to the 11th week, similar to findings of other researchers. Laskoski et al. (2014) described a reduction in BE for sheep induced to acute ruminal acidosis 48 hours after grain overload; Brown et al. (2000) found that BE decreased in steers induced to acute acidosis and increased for steers adapted to a 50% concentrate diet ad libitum for 14 days; and Goad et al. (1998) found that BE declined in hay-adapted or grain-adapted steers under a 3-day all-grain diet. However, Brossard et al. (2003) reported no significant variation in BE for sheep given a 100% hay diet or an acidotic diet. Base excess describes the deviation of HCO_3^- from normal, and in metabolic acidosis, it indicates the amount of HCO_3^- required to correct the pH (Patra et al. 1993; Sobiech et al. 2005; Carlson and Bruss 2008; Baylis and Till 2009); this is highlighted by the strong correlation between blood pH and BE observed in this study. The use of BE may be relevant in detecting non-acute ruminal acidosis because it is reduced by neutralizing the SCFA absorbed from the rumen (Kleen et al. 2003). Decreases in blood HCO_3^- and BE are indicative of physiological compensation for increased absorption of ruminal SCFA during subacute acidosis (Goad et al. 1998), as was shown by the present results.

The reduction in ctCO_2 in the first 10 days and its subsequent increase are similar to the results of a study of steers (Brown et al. 2000) which showed a decrease in ctCO_2 for 7 days after acute acidosis induction, and an increase across 7 days with adaptation to a 50% concentrate diet. However, these results disagree with Brossard et al. (2003) who found no significant variation in this variable between sheep given an acidotic diet and sheep given a 100% hay diet for 2 weeks. During metabolic acidosis, the concentration of blood CO_2 increases because of the reduction in blood HCO_3^- (Brown et al. 2000; Hajikolaie et al. 2006); lower ctCO_2 is indicative of a reduced risk of metabolic acidosis (Brown et al. 2000).

Similar to pCO_2 , concentrations of HCO_3^- and ctCO_2 have been shown to decrease in metabolic acidosis (Carlson and Bruss 2008; Carlson 2009). Base excess, HCO_3^- and ctCO_2 are calculated with basis in values measured in the hemogasometric analyzer as pCO_2 and pH; the similarity of their curve shapes to the pCO_2 curve was expected. This fact also explains the very strong correlations between HCO_3^- and BE; ctCO_2 and pCO_2 , HCO_3^- , and BE.

Anion gap averages tended to rise slightly throughout the experiment, but remained within the limits of the species (17–29 mEq/L (Radostits et al. 2007)). No other study relating AG and ruminal acidosis was found. The AG is calculated as the difference between the major cations (Na^+ and K^+) and the measured anions (Cl^- and HCO_3^-) (Fletcher and Dhrampal 2003; Houpt 2006; Radostits et al. 2007; Baylis and Till 2009; Carlson 2009; Jones 2010) and provides an approximation of the unmeasured anions (e.g., plasma proteins, sulfate, phosphate, lactate, ketones, and a variety of inorganic anions (Fletcher and Dhrampal 2003; Houpt 2006; Radostits et al. 2007; Carlson and Bruss 2008; Carlson 2009; Jones 2010)). An increase in unmeasured ions will alter the AG (Baylis and Till 2009) and provide a useful way to categorize acid-base imbalances (Houpt 2006; Carlson 2009) and therefore detect animals with digestive disorders (Carlson 2009). Elevations in the AG have been associated with metabolic acidosis in which there is an increase in anions (Houpt 2006; Jones 2010), and may also be associated with an accumulation of metabolizable acids (Carlson and Bruss 2008; Carlson 2009) that will react with the HCO_3^- , thereby lowering its value and increasing the AG (Fletcher and Dhrampal 2003; Houpt 2006).

The marked reduction in urine pH, primarily in the first 2 weeks, but also throughout the experiment, agrees with Minervino et al. (2014) that sheep fed 70% cornmeal or wheat bran for 21 days showed urine acidification; and Patra et al. (1993) who showed a decline in sheep urine pH 12 hours after induction of acute ruminal acidosis, with the lowest value occurring at 48 hours. The results of the present study are also similar to those of Ganesella et al. (2010) who recorded lower urinary pH in cows with rumen pH < 5.5. The relatively small lung capacity of ruminants requires acid elimination, important for the acid-base regulation, via the kidneys (Enemark et al. 2002). Renal HCO_3^- retention and enhanced acid excretion are required for long-term correction of metabolic acidosis (Houpt 2006; Carlson and Bruss 2008; Carlson 2009; Jones 2010), but the amount of acid able to be excreted as free hydrogen ions is limited and the urine can be acidified only until a pH of 4.5, requiring that most of the acids be secreted with bases (Houpt 2006). The renal system is the most effective buffering system for responding to acid-base disturbance (Jones 2010). In a moderate acid-base disorder, continuous release of organic acids by the renal system restores the plasma HCO_3^- as soon as it is destroyed (Houpt 2006). Compared to bladder catheterization,

control animals or values before sampling, the transitory apnoea demonstrated to be an easy and effective method to obtain urine samples, without causing stress to the sheep and avoiding alterations to blood and urinary parameters (Benech et al. 2015).

Unlike previous studies that reported minimal changes in the acid-base balance in cases of SARA (Goad et al. 1998; Brown et al. 2000; Brossard et al. 2003), this study showed that most variables involved in this balance had altered levels. These differences in the results are possibly because of the higher level of concentrate feed that was provided to the sheep, as well as the longer period of observation.

The results of this study indicated that sheep fed a free choice long-term high concentrate diet relied on behavioral, respiratory and metabolic mechanisms to maintain ruminal and blood pH within physiological limits. Thus, considering the thresholds established in the literature, there were no effective ruminal or metabolic acidosis.

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Al Jassim RAM, Gordon GLR, Rowe JB (2003) The effect of basal diet on lactate-producing bacteria and the susceptibility of sheep to lactic acidosis. *Anim Sci* 77:459-469
- Baylis C, Till C (2009) Interpretation of arterial blood gases. *Surgery* 27:470-474
- Benech A, Cal-Pereyra L, Da Silva S, Acosta-Dibarrat J, González-Montaña JR (2015) Transient apnoea in sheep: an alternative method for serial urine sample collection. *Vet arhiv* 85:293-307
- Brossard L, Martin C, Michalet-Doreau B (2003) Ruminal fermentative parameters and blood acid-basic balance changes during the onset and recovery of induced latent acidosis in sheep. *Anim Res* 52:513-530
- Brown MS, Krehbiel CR, Galyean ML, Remmenga MD, Peters JP, Hibbard B, Robinson J, Moseley WM (2000) Evaluation of models of acute and subacute acidosis on dry matter intake, ruminal fermentation, blood chemistry, and endocrine profiles of beef steers. *J Anim Sci* 78:3155-3168
- Carlson GP (2009) Clinical chemistry tests. In: Smith BP (ed) *Large Animal Internal Medicine*, 4th edn. Mosby Elsevier, Saint Louis, pp 375-435

Carlson GP, Bruss M (2008) Fluid, electrolyte, and acid-base balance. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML (eds) *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 6th edn. Academic Press, San Diego, pp 529-559

Commun L, Silberberg M, Mialon MM, Martin C, Veissier I (2012) Behavioural adaptations of sheep to repeated acidosis challenges and effect of yeast supplementation. *Animal* 6:2011-2022

Cooper SDB, Kyriazakis I, Oldham JD (1996) The effects of physical form of feed, carbohydrate source, and inclusion of sodium bicarbonate on the diet selections of sheep. *J Anim Sci* 74:1240-1251

De Nardi R, Marchesini G, Giancesella M, Ricci R, Montemurro F, Contiero B, Andrighetto I, Segato S (2013) Blood parameters modification at different ruminal acidosis conditions. *Agric Conspec Sci* 78:259-262

Dohme F, Devries TJ, Beauchemin KA (2008) Repeated ruminal acidosis challenges in lactating dairy cows at high and low risk for developing acidosis: ruminal pH. *J Dairy Sci* 91:3554–3567

Enemark JMD, Jorgensen RJ, Enemark OS (2002) Rumen acidosis with special emphasis on diagnostic aspects of subclinical rumen acidosis: a review. *Vet Med Zoot* 20:16-29

Espinasse J, Kuiper R, Schelcher F (1995) Physiopathologie du complexe gastrique. In: Jarrige R, Ruckebusch Y, Demarquilly C, Farce MH, Journet M (eds) *Nutrition des ruminants domestiques. Ingestion et digestion*. INRA Editions, Versailles, pp 805-852

Fletcher S, Dhrampal A (2003) Acid-base balance and arterial blood gas analysis. *Surgery* 21:61-65

Gäbel G, Bestmann M, Martens H (1991) Influences of diet, short-chain fatty acids, lactate and chloride on bicarbonate movement across the reticulo-rumen wall of sheep. *J Vet Med A*, 38:523–529

Giancesella M, Morgante M, Cannizzo C, Stefani A, Dalvit P, Messina V, Giudice E (2010) Subacute ruminal acidosis and evaluation of blood gas analysis in dairy cow. *Vet Med Int* 2010:392371

Goad DW, Goad CL, Nagaraja TG (1998) Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. *J Anim Sci* 76:234-241

Hajikolaie MRH, Nouri M, Afshar FS, Dehkordi AJ (2006) Effects of experimentally induced ruminal lactic acidosis on blood pH, bicarbonate and pCO₂ in the sheep. *Pak J Biol Sci* 9:2003-2005

Haupt TR (2006) Equilíbrio ácido-básico. In: Reece WO (ed) *Dukes, fisiologia dos animais domésticos*, 12th edn. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, pp 147-160

Jackson PGG, Cockcroft PD (2002) *Clinical examination of farm animals*. Blackwell Science, Malden, 313 p

- Jones MB (2010) Basic interpretation of metabolic acidosis. *Crit Care Nurse* 30:63-69
- Khafipour E, Krause DO, Plaizier JCA (2009) A grain-based subacute ruminal acidosis challenge causes translocation of lipopolysaccharide and triggers inflammation. *J Dairy Sci* 92:1060-1070
- Kleen JL, Hooijer GA, Rehage J, Noordhuizen JPTM (2003) Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. *J Vet Med A* 50:406-414
- Laskoski LM, Muraro LS, Santana Júnior MS, Carvalho MB, Freitas SH, Dória RGS, Santos MD, Dittrich RL (2014) Sodium bicarbonate as prevention of metabolic acidosis in sheep submitted to experimental ruminal acidosis. *Pesqui Vet Bras* 34:822-826
- Leal MLR, Soares PC, Bertagnon HG, Silva PEG, Ortolani EL, Benesi FJ (2006) Efeito da refrigeração sobre o exame gasométrico em sangue venoso de ovinos. *Braz J Vet Res Anim Sci* 43:80-85
- Li S, Gozho GN, Gakhar N, Khafipour E, Krause DO, Plaizier JC (2012) Evaluation of diagnostic measures for subacute ruminal acidosis in dairy cows. *Can J Anim Sci* 92:353-364
- Mackie RI, Gilchrist FMC, Robberts AM, Hannah PE, Schwartz HM (1978) Microbiological and chemical changes in the rumen during the stepwise adaptation of sheep to high concentrate diets. *J Agric Sci* 90:241-254
- Marchesini G, De Nardi R, Giancesella M, Stefani AL, Morgante M, Barberio A, Andrichetto I, Segato S (2013) Effect of induced ruminal acidosis on blood variables in heifers. *BMC Vet Res* 9:98
- Maruta CA, Ortolani EL (2002) Susceptibilidade de bovinos das raças Jersey e Gir à acidose láctica ruminal: II – acidose metabólica e metabolização do lactato-L. *Ciênc. Rural* 32:61-65
- Minervino AHH, Araújo CASC, Kaminishikawahara CM, Soares FB, Rodrigues FAML, Reis LF, Oliveira FLC, Barrêto Júnior RA, Mori CS, Ortolani EL (2014) Influência de diferentes dietas com alto teor de concentrados sobre parâmetros ruminais, bioquímicos e urinários de ovinos. *Braz J Vet Res Anim Sci* 51:30-36
- Morgante M, Giancesella M, Casella S, Ravarotto L, Stelletta C, Giudice E (2009) Blood gas analyses, ruminal and blood pH, urine and faecal pH in dairy cows during subacute ruminal acidosis. *Comp Clin Pathol* 18:229–232
- Moya D, Mazzenga A, Holtshausen L, Cozzi G, Gonzalez La, Calsamiglia S, Gibb Dg, Mcallister Ta, Beauchemin Ka, Schwartzkopf-Genswein K (2011) Feeding behavior and ruminal acidosis in beef cattle offered a total mixed ration or dietary components separately. *J Anim Sci* 89:520–530
- Nour MSM, Abusamra MT, Hago BED (1998) Experimentally induced lactic acidosis in Nubian goats: clinical, biochemical and pathological investigations. *Small Rumin Res* 31:7-17

- Ortolani EL, Maruta CA, Minervino AHH (2010) Aspectos clínicos da indução experimental de acidose láctica ruminal em zebuínos e taurinos. *Braz J Vet Res Anim Sci* 47:253-261
- Owens FN, Secrist DS, Hill WJ, Gill DR (1998) Acidosis in cattle: a review. *J Anim Sci* 76:275-286
- Patra RC, Lal SB, Swarup D (1993) Physicochemical alterations in blood, cerebrospinal fluid and urine in experimental lactic acidosis in sheep. *Res Vet Sci* 54:217-220
- Patra RC, Lal SB, Swarup D (1996) Biochemical profile of rumen liquor, blood and urine in experimental acidosis in sheep. *Small Rumin Res* 19:177-180
- Phy T, Provenza F (1998) Sheep fed grain prefer foods and solutions that attenuate acidosis. *J Anim Sci* 76:954-960
- Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD (2007) *Veterinary Medicine*, 10th edn. Saunder Elsevier, London
- Rodríguez-Lecompte JC, Kroeker AD, Ceballos-Márquez A, Li S, Plaizier JC, Gomez DE (2014) Evaluation of the systemic innate immune response and metabolic alterations of nonlactating cows with diet-induced subacute ruminal acidosis. *J Dairy Sci* 97:7777-7787
- Schwaiger T, Beauchemin KA, Penner GB (2013) Duration of time that beef cattle are fed a high-grain diet affects the recovery from a bout of ruminal acidosis: short-chain fatty acid and lactate absorption, saliva production, and blood metabolites. *J Anim Sci* 91:5743–5753
- Sobiech P, Stopyra A, Kuleta Z, Zbanyszek M, Milewski S (2005) Acid-base balance parameters of arterial, venous and capillary blood in sheep. *Bull Vet Inst Pulawy* 49:125-127
- Steele MA, Croom J, Kahler M, Alzahal O, Hook SE, Plaizier K, McBride BW (2011) Bovine rumen epithelium undergoes rapid structural adaptations during grain-induced subacute ruminal acidosis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 300:R151-R1523
- Sucupira MCA, Ortolani EL (2003) Uso de sangue arterial e venoso no exame do equilíbrio ácido-básico de novilhos normais ou com acidose metabólica. *Ciênc Rural* 33:863-868

Table 1. Mean $\pm$ standard deviation and coefficient of variation (CV) of arterial hemogasometric variables, urine and ruminal pH for Santa Inês sheep (*Ovis aries*) eating a high concentrate diet for 19 weeks

Day	Blood pH	pO ₂ (mmHg)	pCO ₂ (mmHg)	HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	BE (mmol/L)	ctCO ₂ (mmol/L)	SO ₂ (%)	AG (mEq/L)	Urine pH	Ruminal pH
0	7.422 $\pm$ 0.109	98.1 $\pm$ 11.0	34.0 $\pm$ 5.3	22.6 $\pm$ 6.9	0.4 $\pm$ 5.1	20.1 $\pm$ 6.3	96.9 $\pm$ 0.9	20.3 $\pm$ 3.5	6.37 $\pm$ 0.95	6.58 $\pm$ 0.15
1	7.492 $\pm$ 0.174	109.1 $\pm$ 28.8	31.4 $\pm$ 6.6	24.3 $\pm$ 8.1	1.8 $\pm$ 9.7	21.6 $\pm$ 7.3	97.7 $\pm$ 1.6	18.4 $\pm$ 4.3	6.75 $\pm$ 1.33	6.38 $\pm$ 0.16
2	7.445 $\pm$ 0.121	95.5 $\pm$ 13.9	37.2 $\pm$ 4.6	25.7 $\pm$ 7.2	2.1 $\pm$ 8.4	23.0 $\pm$ 6.6	96.9 $\pm$ 2.0	18.9 $\pm$ 1.9	7.03 $\pm$ 1.13	6.53 $\pm$ 0.19
3	7.563 $\pm$ 0.145	108.2 $\pm$ 38.4	32.7 $\pm$ 10.5	27.7 $\pm$ 5.5	5.8 $\pm$ 5.4	25.4 $\pm$ 5.0	97.8 $\pm$ 1.8	18.1 $\pm$ 3.7	7.07 $\pm$ 1.15	6.53 $\pm$ 0.35
4	7.508 $\pm$ 0.152	120.7 $\pm$ 43.5	32.0 $\pm$ 9.3	24.5 $\pm$ 6.9	2.3 $\pm$ 7.4	22.5 $\pm$ 6.7	98.1 $\pm$ 1.3	18.8 $\pm$ 3.1	6.96 $\pm$ 1.07	6.28 $\pm$ 0.40
5	7.448 $\pm$ 0.092	110.5 $\pm$ 29.7	33.9 $\pm$ 5.3	23.0 $\pm$ 5.9	0.0 $\pm$ 6.7	21.8 $\pm$ 5.5	97.8 $\pm$ 1.1	20.1 $\pm$ 1.1	6.78 $\pm$ 1.22	6.34 $\pm$ 0.31
6	7.466 $\pm$ 0.148	106.6 $\pm$ 41.4	28.9 $\pm$ 8.7	20.7 $\pm$ 5.6	-1.4 $\pm$ 6.2	18.7 $\pm$ 5.2	96.7 $\pm$ 1.7	19.7 $\pm$ 1.5	5.76 $\pm$ 0.88	5.86 $\pm$ 0.33
7	7.445 $\pm$ 0.174	128.3 $\pm$ 38.4	27.6 $\pm$ 7.7	18.6 $\pm$ 6.5	-3.8 $\pm$ 7.9	17.0 $\pm$ 6.1	98.0 $\pm$ 1.6	20.4 $\pm$ 3.9	5.70 $\pm$ 0.72	5.58 $\pm$ 0.55
8	7.434 $\pm$ 0.110	142.9 $\pm$ 42.6	24.5 $\pm$ 9.2	15.8 $\pm$ 6.1	-6.4 $\pm$ 6.1	14.4 $\pm$ 5.9	98.7 $\pm$ 0.8	19.4 $\pm$ 2.3	5.62 $\pm$ 0.44	5.98 $\pm$ 0.68
9	7.392 $\pm$ 0.105	126.2 $\pm$ 31.6	30.2 $\pm$ 8.2	18.0 $\pm$ 6.6	-5.4 $\pm$ 7.0	16.6 $\pm$ 6.1	97.8 $\pm$ 1.4	19.3 $\pm$ 6.2	5.62 $\pm$ 0.17	5.73 $\pm$ 0.27
10	7.397 $\pm$ 0.094	118.8 $\pm$ 32.8	30.1 $\pm$ 7.8	17.7 $\pm$ 4.7	-5.6 $\pm$ 4.9	16.5 $\pm$ 4.4	97.5 $\pm$ 1.3	18.2 $\pm$ 2.4	5.61 $\pm$ 0.24	5.82 $\pm$ 0.48
11	7.352 $\pm$ 0.086	119.5 $\pm$ 28.8	32.3 $\pm$ 4.2	17.7 $\pm$ 5.2	-6.4 $\pm$ 6.0	16.2 $\pm$ 4.7	97.3 $\pm$ 1.6	20.2 $\pm$ 1.2	5.65 $\pm$ 0.35	5.77 $\pm$ 0.60
12	7.369 $\pm$ 0.061	103.0 $\pm$ 13.1	32.4 $\pm$ 6.7	18.3 $\pm$ 5.5	-5.6 $\pm$ 5.5	16.9 $\pm$ 5.1	96.9 $\pm$ 0.9	20.0 $\pm$ 2.3	5.81 $\pm$ 0.31	6.23 $\pm$ 0.75
13	7.414 $\pm$ 0.084	98.8 $\pm$ 22.3	32.4 $\pm$ 6.1	20.0 $\pm$ 5.0	-3.3 $\pm$ 5.4	18.6 $\pm$ 4.5	96.2 $\pm$ 2.3	19.0 $\pm$ 3.2	5.60 $\pm$ 0.44	5.84 $\pm$ 0.38
14	7.393 $\pm$ 0.082	101.1 $\pm$ 12.4	35.2 $\pm$ 7.5	21.2 $\pm$ 6.9	-2.6 $\pm$ 7.3	19.6 $\pm$ 6.3	96.8 $\pm$ 0.8	19.7 $\pm$ 3.6	5.72 $\pm$ 0.33	5.50 $\pm$ 0.52
16	7.459 $\pm$ 0.115	116.4 $\pm$ 52.9	35.6 $\pm$ 6.3	24.5 $\pm$ 5.3	1.3 $\pm$ 6.2	22.4 $\pm$ 4.6	97.3 $\pm$ 1.7	17.6 $\pm$ 2.4	5.83 $\pm$ 0.62	6.00 $\pm$ 0.81
18	7.433 $\pm$ 0.058	101.1 $\pm$ 18.9	35.3 $\pm$ 5.9	22.9 $\pm$ 4.5	-0.6 $\pm$ 4.6	21.1 $\pm$ 4.1	97.1 $\pm$ 1.3	18.8 $\pm$ 2.0	5.61 $\pm$ 0.59	5.94 $\pm$ 0.72
20	7.443 $\pm$ 0.052	140.8 $\pm$ 56.7	30.6 $\pm$ 11.5	20.0 $\pm$ 7.5	-2.7 $\pm$ 6.5	18.3 $\pm$ 7.0	98.2 $\pm$ 1.6	18.9 $\pm$ 1.6	5.54 $\pm$ 0.42	5.85 $\pm$ 0.64
22	7.425 $\pm$ 0.057	111.1 $\pm$ 36.3	32.4 $\pm$ 7.8	20.9 $\pm$ 6.0	-2.3 $\pm$ 6.0	19.2 $\pm$ 5.6	97.5 $\pm$ 0.9	19.4 $\pm$ 1.0	5.52 $\pm$ 0.42	6.12 $\pm$ 0.72
24	7.443 $\pm$ 0.124	116.5 $\pm$ 35.7	32.1 $\pm$ 10.2	20.9 $\pm$ 4.5	-1.3 $\pm$ 3.2	19.1 $\pm$ 4.4	97.5 $\pm$ 1.8	18.4 $\pm$ 4.4	5.68 $\pm$ 0.76	6.20 $\pm$ 0.56
26	7.443 $\pm$ 0.027	107.2 $\pm$ 19.2	34.4 $\pm$ 7.9	22.6 $\pm$ 5.3	-0.4 $\pm$ 4.8	20.7 $\pm$ 4.9	97.4 $\pm$ 1.4	18.6 $\pm$ 1.5	5.49 $\pm$ 0.25	6.26 $\pm$ 0.86
28	7.444 $\pm$ 0.092	102.9 $\pm$ 9.5	34.4 $\pm$ 6.2	22.9 $\pm$ 5.6	-0.1 $\pm$ 6.1	21.0 $\pm$ 5.1	97.4 $\pm$ 0.9	19.3 $\pm$ 1.9	5.75 $\pm$ 0.65	5.87 $\pm$ 0.60
35	7.435 $\pm$ 0.105	110.0 $\pm$ 31.3	32.5 $\pm$ 10.5	20.9 $\pm$ 6.6	-1.8 $\pm$ 6.5	19.0 $\pm$ 6.3	97.1 $\pm$ 1.9	15.9 $\pm$ 6.9	5.93 $\pm$ 0.70	6.26 $\pm$ 0.82
42	7.353 $\pm$ 0.114	103.1 $\pm$ 21.4	37.6 $\pm$ 2.7	20.8 $\pm$ 5.5	-3.9 $\pm$ 6.9	19.0 $\pm$ 4.7	96.3 $\pm$ 2.2	19.9 $\pm$ 2.0	5.65 $\pm$ 0.83	6.64 $\pm$ 0.65
49	7.406 $\pm$ 0.045	95.8 $\pm$ 13.8	37.2 $\pm$ 4.3	22.4 $\pm$ 1.7	-1.3 $\pm$ 1.8	20.2 $\pm$ 1.7	96.6 $\pm$ 1.3	20.2 $\pm$ 1.8	5.37 $\pm$ 0.34	6.31 $\pm$ 0.66
56	7.388 $\pm$ 0.083	119.1 $\pm$ 46.9	34.6 $\pm$ 5.9	20.3 $\pm$ 5.0	-3.3 $\pm$ 5.7	18.4 $\pm$ 4.5	97.0 $\pm$ 1.8	22.0 $\pm$ 1.5	5.88 $\pm$ 0.60	6.24 $\pm$ 0.35
63	7.444 $\pm$ 0.028	129.6 $\pm$ 48.8	33.6 $\pm$ 4.8	22.3 $\pm$ 3.5	-0.6 $\pm$ 3.4	20.0 $\pm$ 3.2	97.9 $\pm$ 1.9	19.3 $\pm$ 2.3	5.69 $\pm$ 0.61	6.51 $\pm$ 0.28
70	7.383 $\pm$ 0.099	109.7 $\pm$ 27.9	34.8 $\pm$ 4.4	20.3 $\pm$ 4.2	-3.6 $\pm$ 5.5	18.0 $\pm$ 3.2	96.9 $\pm$ 2.1	21.8 $\pm$ 1.7	6.24 $\pm$ 0.66	6.32 $\pm$ 0.71
77	7.534 $\pm$ 0.107	150.0 $\pm$ 48.9	30.0 $\pm$ 8.6	23.6 $\pm$ 2.2	2.4 $\pm$ 2.2	20.8 $\pm$ 2.4	99.0 $\pm$ 0.9	17.4 $\pm$ 3.8	5.83 $\pm$ 0.53	6.72 $\pm$ 0.11
84	7.440 $\pm$ 0.027	119.8 $\pm$ 43.9	31.0 $\pm$ 8.1	21.7 $\pm$ 2.6	-0.2 $\pm$ 1.1	19.2 $\pm$ 2.4	97.4 $\pm$ 2.9	22.3 $\pm$ 3.3	5.57 $\pm$ 0.44	6.71 $\pm$ 0.23
91	7.499 $\pm$ 0.051	148.3 $\pm$ 64.5	25.9 $\pm$ 6.3	19.2 $\pm$ 3.0	-1.9 $\pm$ 2.1	16.7 $\pm$ 2.9	98.1 $\pm$ 2.6	19.0 $\pm$ 1.9	5.84 $\pm$ 0.79	5.86 $\pm$ 0.29
98	7.473 $\pm$ 0.064	126.6 $\pm$ 46.2	32.6 $\pm$ 6.0	22.6 $\pm$ 1.6	0.4 $\pm$ 1.3	20.1 $\pm$ 1.6	97.9 $\pm$ 1.5	18.9 $\pm$ 4.5	5.86 $\pm$ 0.83	6.53 $\pm$ 0.46
105	7.442 $\pm$ 0.063	148.6 $\pm$ 37.0	27.9 $\pm$ 7.6	18.2 $\pm$ 4.6	-2.6 $\pm$ 2.9	16.2 $\pm$ 4.3	98.9 $\pm$ 0.8	23.3 $\pm$ 5.1	5.36 $\pm$ 0.66	5.84 $\pm$ 0.62
112	7.429 $\pm$ 0.046	122.3 $\pm$ 37.6	30.4 $\pm$ 6.9	19.2 $\pm$ 3.8	-3.2 $\pm$ 3.0	15.3 $\pm$ 3.9	98.0 $\pm$ 1.1	19.8 $\pm$ 4.8	5.53 $\pm$ 0.49	6.18 $\pm$ 0.47
119	7.462 $\pm$ 0.062	154.6 $\pm$ 22.0	26.6 $\pm$ 5.8	18.4 $\pm$ 4.1	-3.3 $\pm$ 3.8	13.3 $\pm$ 3.1	99.3 $\pm$ 0.4	23.8 $\pm$ 3.1	5.31 $\pm$ 0.70	6.41 $\pm$ 0.45
126	7.440 $\pm$ 0.030	109.2 $\pm$ 17.4	33.6 $\pm$ 2.9	21.8 $\pm$ 1.1	-1.0 $\pm$ 1.0	19.3 $\pm$ 1.4	97.7 $\pm$ 1.1	21.2 $\pm$ 3.4	5.65 $\pm$ 0.62	6.39 $\pm$ 0.34
133	7.411 $\pm$ 0.114	101.9 $\pm$ 13.5	30.5 $\pm$ 4.9	19.0 $\pm$ 5.1	-3.9 $\pm$ 6.4	16.8 $\pm$ 4.3	96.9 $\pm$ 1.6	25.2 $\pm$ 7.8	5.36 $\pm$ 0.57	6.12 $\pm$ 0.28
CV	1.12	29.34	18.80	20.82	-261.89	21.30	1.57	16.74	10.56	7.43

Negative logarithm of the hydrogen ion concentration (pH); partial pressures of oxygen (pO₂) and carbon dioxide (pCO₂); bicarbonate (HCO₃⁻), base excess (BE) and carbon dioxide (ctCO₂) concentrations; oxygen saturation (SO₂) and anion gap (AG). Day 0 (control): mean of observations performed weekly, three times before the dietary change.

Table 2. Pearson's correlation coefficient (r) between hemogasometric variables, urine and ruminal pH for Santa Inês sheep (*Ovis aries*) eating a high concentrate diet for 19 weeks

	PO ₂	PCO ₂	HCO ₃ ⁻	SO ₂	BE	ctCO ₂	AG	Urine pH	Ruminal pH
Blood pH	0.22 c	-0.23 c	0.51 d	0.43 d	0.73 d	0.47 d	-0.37 d	0.34 d	0.23 c
PO ₂		-0.58 d	-0.35 d	0.79 d	-0.18 b	-0.37 d	0.02	-0.03	-0.04
PCO ₂			0.69 d	-0.39 d	0.44 d	0.73 d	-0.15 a	0.04	0.31 d
HCO ₃ ⁻				-0.02	0.94 d	0.99 d	-0.40 d	0.35 d	0.45 d
SO ₂					0.15 a	-0.04	-0.11	0.07	0.07
BE						0.91 d	-0.41 d	0.39 d	0.43 d
ctCO ₂							-0.41 d	0.33 d	0.43 d
AG								-0.22 c	-0.14 a
Urine pH									0.18 b

Negative logarithm of the hydrogen ion concentration (pH); partial pressures of oxygen (pO₂) and carbon dioxide (pCO₂); bicarbonate (HCO₃⁻), base excess (BE) and carbon dioxide (ctCO₂) concentrations; oxygen saturation (SO₂) and anion gap (AG).

Coefficients followed by letters are significant: a – P < 0.05, b – P < 0.01, c – P < 0.001, d – P < 0.0001.

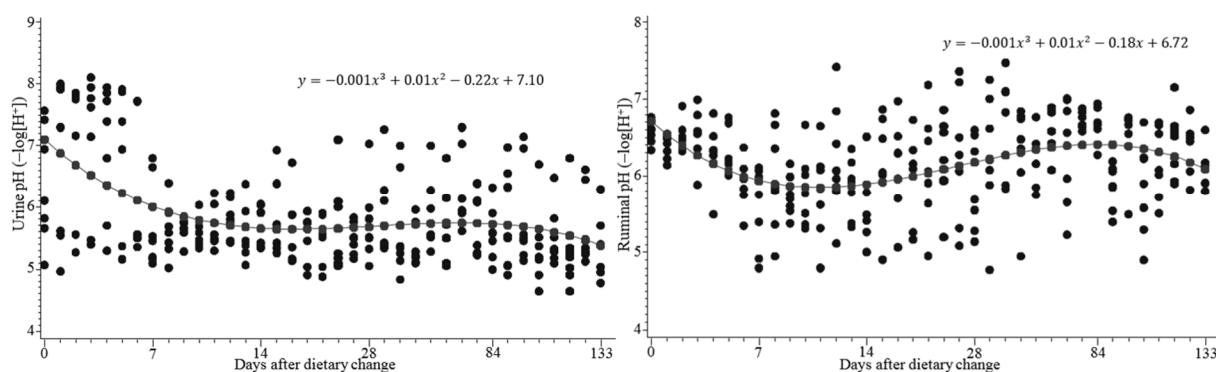


Fig. 1 Graphs of regression analysis between time and the pH of urine and rumen fluid for Santa Inês sheep (*Ovis aries*) fed a high concentrate diet for 19 weeks. Day 0 (control): mean of observations performed weekly, three times before the dietary change.

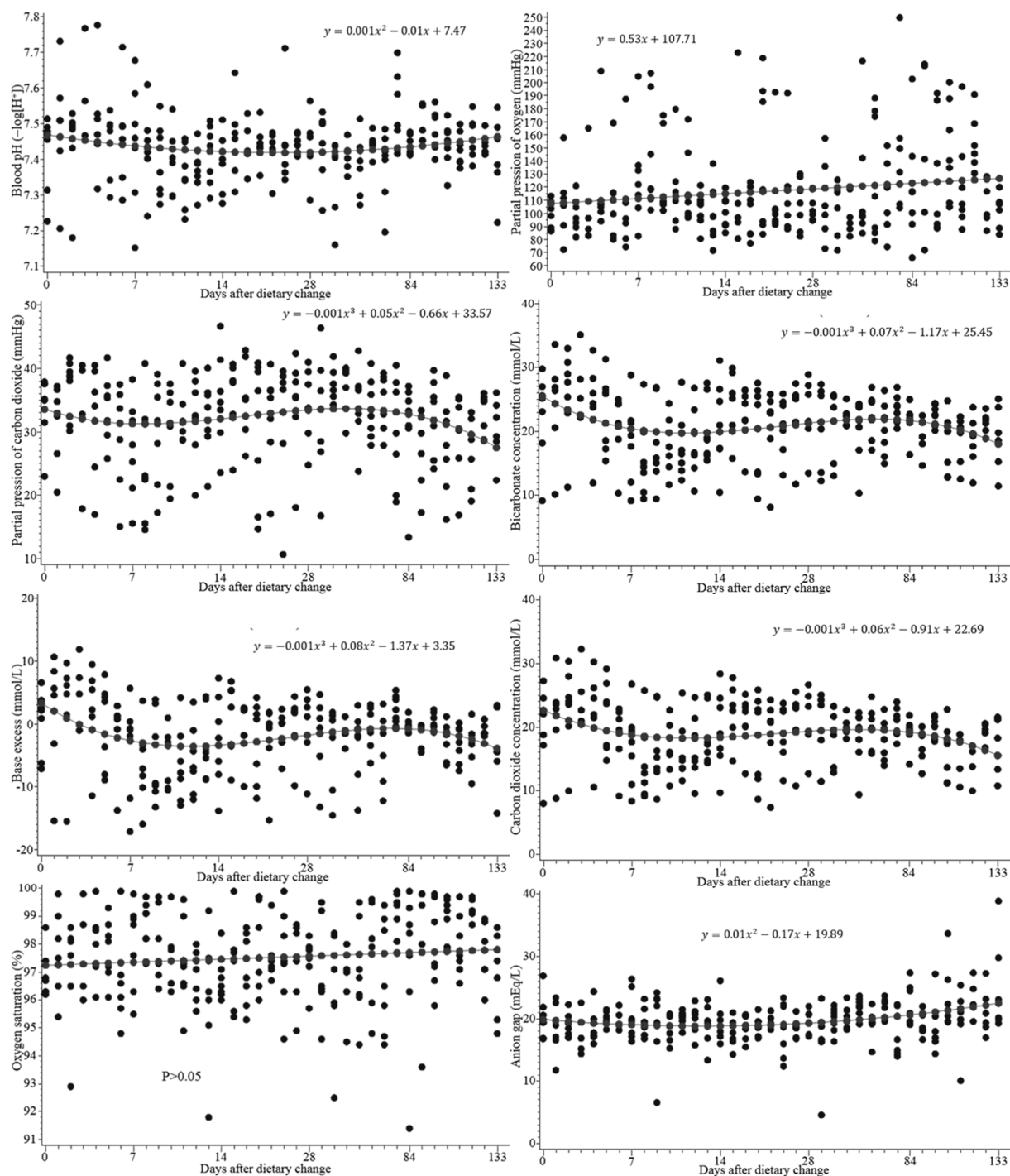


Fig. 2 Graphs of regression analysis between time and arterial hemogasimetric variables for Santa Inês sheep (*Ovis aries*) fed a high concentrate diet for 19 weeks. Day 0 (control): mean of observations performed weekly, three times before the dietary change.

CAPÍTULO 5 - Acute-phase protein and other serum protein fractions in Santa Inês sheep (*Ovis aries*) on a long-term, high-concentrate diet

Annita Moraes Girardi¹, Amanda Festa Sabes², José Jurandir Fagliari³, Paulo César da Silva⁴, João Ademir de Oliveira⁵, Luiz Carlos Marques⁶

¹ Department of Veterinary Clinic and Surgery, School of Agrarian and Veterinary Sciences, São Paulo State University. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, Brazil. Corresponding author. Email address: annitamgirardi@gmail.com

² Department of Veterinary Clinic and Surgery, School of Agrarian and Veterinary Sciences, São Paulo State University. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, Brazil. Email address: amanda.festa@hotmail.com

³ Department of Veterinary Clinic and Surgery, School of Agrarian and Veterinary Sciences, São Paulo State University. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, Brazil. Email address: fagliari@fcav.unesp.br

⁴ Department of Veterinary Clinic and Surgery, School of Agrarian and Veterinary Sciences, São Paulo State University. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, Brazil. Email address: paulocesar1958@bol.com.br

⁵ Department of Exact Sciences, School of Agrarian and Veterinary Sciences, São Paulo State University. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, Brazil. Email address: jaoliv@fcav.unesp.br

⁶ Department of Veterinary Clinic and Surgery, School of Agrarian and Veterinary Sciences, São Paulo State University. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, Brazil. Email address: lmarques@fcav.unesp.br

Artigo formatado conforme normas para submissão à revista BMC Veterinary Research.

Abstract

Background: This study evaluated the effects of 80% concentrate fed as a daily ration for 19 weeks to seven hay-adapted Santa Inês ewes on total serum protein (TP), plasma fibrinogen (Fb), and serum protein fractions.

Results: Electrophoresis was used to separate immunoglobulin A (IgA) and G (IgG); ceruloplasmin; transferrin; albumin; α_1 -antitrypsin; haptoglobin; α_1 -acid glycoprotein (α_1 AG); and 140, 101, 95, 46, 36, 34, 31, and 23 kDa molecular weight proteins (MWP). The changes in MWP₉₅ and Fb levels were not associated with time. IgA and α_1 -antitrypsin levels increased throughout the study period. IgG level decreased from the seventh day to the eighth week, and then increased. MWP₂₃ and haptoglobin levels increased after the second week. Ceruloplasmin level increased for 10 days before decreasing. MWP₁₄₀ and MWP₁₀₁ levels increased until the 14th day and fifth week, respectively, and later decreased. MWP₃₄ level decreased until the 24th day, and then increased. Transferrin level decreased in the first week, increased until the 12th week, and then trended toward baseline levels. Albumin level decreased from the seventh day to the fourth week. MWP₄₆ level increased in the first eight days, decreased until the eighth week, and then increased. α_1 AG level decreased in the first 11 days. MWP₃₆ levels decreased in the first 11 days, increased until the 12th week, and then decreased. MWP₃₁ levels increased in the first nine days, decreased until the fifth week, and then increased again. The correlation between TP and IgG levels was strong, while that between the levels of TP and albumin; ceruloplasmin, MWP₁₄₀, and α_1 -antitrypsin; transferrin, MWP₉₅, α_1 -antitrypsin, and MWP₂₃; α_1 -antitrypsin and MWP₂₃ was moderate. The correlation between the levels of the other proteins was weak or insignificant.

Conclusions: The results of this study indicate that long-term ingestion of a high-concentrate diet can induce changes in serum protein profiles of Santa Inês sheep. In addition, SDS-PAGE allowed identification of a variety of serum proteins, some with unknown functions, which were also influenced by the high-grain diet.

Keywords: acute-phase response, grain-based, ovine, SDS-PAGE, subacute ruminal acidosis

Background

The growing sheepmeat industry has resulted in increasing numbers of feedlot animals, which are susceptible to disorders such as ruminal acidosis that cause economic problems owing to treatment costs, reduced herd productivity, disposal of animals, and injury. Ruminal acidosis is often categorized into several types including acute and subacute (also called chronic, latent or subclinical) types [1, 2].

Subacute ruminal acidosis (SARA) is more common in its acute manifestation [3], but more difficult to characterize [4]. SARA is defined as an intermittent decrease of ruminal pH to non-physiological levels after intake of a low-structure, high-energy diet, owing to the inability of a non-adapted ruminal environment to adequately ferment and absorb the resulting short-chain fatty acids (SCFA) [1]. However, the rumen microbial population fits diet rich in grains with lots of amylolytical and lactolytical microorganisms and the lactic acid does not accumulate [3]. The clinical symptoms of SARA appear after a delay from the time of the initial insult [1], manifesting as reduced feed intake and performance; however, animals may not appear to be ill [2].

Inflammation due to grain-induced SARA could result from translocation of lipopolysaccharides (LPS) derived from gram-negative bacteria from the rumen to body circulation [5, 6]. There is no direct evidence that free ruminal LPS are translocated across the rumen wall [7] because the ruminant digestive epithelium acts as a barrier unless it has been damaged [5]. Translocation of LPS may also occur in the large intestine because grain-induced SARA increases its acidity and LPS content; the barrier function of the large intestine is more easily compromised than in the rumen [5, 7]. LPS interacts with mononuclear, endothelial, and smooth muscle cells; polymorphonuclear granulocytes; and thrombocytes, and also stimulates the production of pro-inflammatory mediators such as cytokines [5]. Increased LPS levels are maintained when challenges last several days, suggesting a role for LPS released during bacterial growth [5]. Other immunogenic factors in the digestive tract may contribute to inflammation following ingestion of a high-grain diet [6, 7]; because SARA can lead to rumenitis, this inflammation could also induce an acute-phase response (APR) [5, 6].

Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) is a powerful technique used for separation of proteins by molecular weight:

polyacrylamide fractionates proteins and small oligonucleotides, while SDS is an anionic detergent that denatures proteins, making them negatively charged [8].

Acute-phase proteins (APPs) are blood proteins of the innate immune system that change concentration in response to external or internal challenges such as infection, inflammation, surgical trauma, or stress [9, 10]; they act as modulators of inflammatory response by interacting with both defensive cells and pathogens [11]. Because circulating concentrations of APPs reflect disease severity, they may be useful for in vivo disease monitoring [10, 12], providing an alternative method for assessing disease pathogenesis and monitoring animal health, including diagnosis, prognosis, response to therapy, and welfare status [9, 11-14]. However, the influence of inflammation on APP concentrations and the usefulness of these concentrations for detection of diseases in veterinary clinical practice, particularly in farm animal medicine, are not well documented [14]. APPs are non-specific biomarkers [9, 12, 14] with species-specific responses [9, 10, 14].

APRs in ruminants differ significantly from those in other species, in which haptoglobin (Hp) is a major APP [9]. APRs in experimental and natural diseases in cattle have been investigated for decades [11]. While there is a lack of information about APPs in small ruminants [14, 15], likely because APRs are less commonly studied in small ruminants than in cattle [9, 11, 14], APRs appear to be similar between these organisms [9, 14]. Information on APRs and the relationships between APP levels and production parameters in sheep is limited [16], but Hp and serum amyloid A (SAA) are considered major, α 1-acid glycoprotein (α 1AG) moderate, fibrinogen (Fb) and ceruloplasmin (Cp) minor, and albumin negative APPs in this species [15]. Hp, Cp, and Fb levels may be more useful diagnostic markers than the number of circulating neutrophils in sheep [17].

Metabolic disorders in animals may cause activation of the immune system, including initiation of inflammatory responses [14]. APPs have been used to investigate the pathophysiology of the gastrointestinal tract in cattle and the effects of diet variation on its function [11]. They are informative adjuncts to pH measurements in studies on ruminal acidosis when other sources of inflammation or tissue damage can be excluded [12], and have been shown to be important in early detection of SARA [18].

APPs have been shown to be useful in categorising disease severity, which may then be correlated with pain and welfare, but there was a limited number of studies on about them to assess disease, product quality and welfare in sheep [19]. Serious economic losses due to SARA underscore the necessity for development of diagnostic tests; APPs may be useful early indicators of this condition, making them of potential interest to both veterinarians and farmers [20]. Thus, the present study aimed to evaluate the long-term effects of a high-concentrate diet on serum protein fractions in Santa Inês sheep, a rustic Brazilian ovine without wool often used for meat production.

Methods

Seven healthy ewes were kept in pens under appropriate hygiene conditions and maintained for at least 60 days on a basal diet of coast cross hay (*Cynodon* spp.), drinking water, and mineral mixture (Tortuga Ovinofós com minerais orgânicos, Tortuga Companhia Zootécnica Agrária, São Paulo, São Paulo, Brazil) ad libitum. During induction, they received a diet based on their average consumption during the adaptation period (2 kg of organic matter/animal/day); 10% of the roughage was replaced daily with a concentrated feed (76.8% ground corn, 18.2% soybean meal, and 5% mineral core - Guabi Ruminúcleo Ovinos 40 ADE, Mogiana Alimentos S/A, Campinas, São Paulo, Brazil), up to 80% in daily ration, a percentage that was maintained thereafter. No buffer was included in the rations. The control values were the means of weekly assessments performed three weeks prior to induction. After the dietary change, measurements were made daily for 15 days, every other day until the end of the first month, and weekly for the rest of the five-month experiment.

Sampling was performed in the morning, before feeding, by external jugular venipuncture using a closed evacuated system (BD Vacutainer, BD Diagnostics – Preanalytical Systems, São Paulo, Brazil), in 10 mL plastic tubes without anticoagulant to obtain serum for total protein evaluation and electrophoresis, and 4 mL tubes with ethylenediaminetetraacetic acid dipotassium anticoagulant (K₂EDTA 7,2 mg) to measure plasma fibrinogen (Fb). Serum samples were separated quickly by centrifugation and stored at -70°C. Protein fractionation was performed by SDS-PAGE as described by Laemmli [21]. Protein fraction percentages were measured using a computerized scanning densitometer (Shimadzu CS 9301, Shimadzu Corporation,

Tokyo, Japan), with a reference marker solution (SigmaMarker, Sigma-Aldrich Corporation, Saint Louis, Missouri, USA) with molecular weights from 6.5 to 200 kDa. Serum protein concentrations (mg/dL) were determined by multiplying the percentage of each fraction by the total serum protein (TP) concentration obtained by a semi-automatic spectrophotometer (Labquest, Labtest, Brazil) using the biuret method. Fb was determined by heat precipitation [22] and measured using a refractometer (Atago T2-NE Clinical, Atago Co. Ltd., Japan). These analyses were performed at the Research Laboratory of the Department of Veterinary Clinic and Surgery, School of Agrarian and Veterinary Sciences, São Paulo State University, Jaboticabal, Brazil. Data analysis was performed using commercial statistical software (SAS 9.1, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA) to assess associations among variables and time by linear, quadratic, and cubic regression. Correlation among protein levels was measured using Pearson's coefficient. Score classifications of the correlation between variables were considered weak ($0.01 \leq r \leq 0.39$), moderate ($0.40 \leq r \leq 0.69$), or strong ($0.70 \leq r \leq 1.00$). Statistical significance was set at $P \leq 0.05$.

This study was approved by the Ethics Commission in Use of Animals of the School of Agrarian and Veterinary Sciences (Protocol no. 008891/12).

Results

The means, standard deviations, and coefficients of variation of each protein are shown in Table 1.

TP levels declined slightly in the first month, then increased ($P < 0.05$). Fb concentrations were not associated with time ($P > 0.05$) (Figure 1).

Sixteen protein fractions were separated by electrophoresis: immunoglobulin A (IgA – 161 kDa) and G (IgG, the sum of the heavy – 52 kDa – and light – 25 kDa – chains), ceruloplasmin (Cp – 115 kDa), transferrin (Tf – 80 kDa), albumin (64 kDa), α_1 -antitrypsin (α_1 AT – 58 kDa), haptoglobin (Hp – 42 kDa), α_1 -acid glycoprotein (α_1 AG – 40 kDa), and the 140 (MWP₁₄₀), 101 (MWP₁₀₁), 95 (MWP₉₅), 46 (MWP₄₆), 36 (MWP₃₆), 34 (MWP₃₄), 31 (MWP₃₁), and 23 (MWP₂₃) kDa molecular weight proteins.

Mean MWP₉₅ levels were not significantly associated with experimental time ($P > 0.05$) (Figure 3).

IgA and α_1 AT levels increased throughout the study period ($P<0.0001$). IgG levels decreased from the seventh day to the eighth week, and then increased ($P<0.01$). MWP₂₃ ($P<0.0001$) and Hp ($P<0.01$) concentrations tended to increase after the second week. Cp levels increased in the first ten days, and then decreased ($P\leq 0.05$). MWP₁₄₀ and MWP₁₀₁ concentrations increased until the 14th day ($P<0.01$) and fifth week ($P\leq 0.05$) respectively, and then declined. MWP₃₄ levels decreased until about the 24th day, and then increased until the end of the experiment ($P<0.001$). Mean Tf values decreased slightly in the first week, increased until the 12th week, and then tended to return to baseline values ($P<0.0001$). Albumin concentrations were almost constant, with a slight decrease from the seventh day to the fourth week ($P\leq 0.05$). MWP₄₆ levels increased up to the eighth day of the trial, decreased until the eighth week, then increased to above baseline values by the end of the observation period ($P<0.0001$). α_1 AG concentrations fell slightly in the first 11 days ($P<0.05$). MWP₃₆ means decreased prior to the 11th day, increased until the 12th week, then declined ($P<0.01$). MWP₃₁ levels increased in the first nine days and decreased until the fifth week, before increasing again ($P<0.01$) (Figures 2 and 3).

The correlation between TP and IgG levels was strong ($r=0.77$), while correlations between the levels of TP and albumin ($r=0.54$), Cp and MWP₁₄₀ ($r=0.47$), Cp and α_1 AT ($r=-0.54$), Tf and MWP₉₅ ($r=0.51$), Tf and α_1 AT ($r=0.44$), Tf and MWP₂₃ ($r=0.42$), α_1 AT and MWP₂₃ ($r=0.58$) were moderate. The other correlations were weak or statistically insignificant.

Discussion

Compared to the current study, previous studies have used SDS-PAGE to evaluate the effects of other diseases in sheep, and these studies have identified varying numbers of different proteins [23-25].

The correlation analysis in the current study reinforced the graphical observation that TP levels change in response to changes in IgG and albumin concentrations. The correlations among proteins identified in this study differed from those reported in previous studies: Pfeffer et al. [16] reported significant correlations between concentrations of Cp, Fb, Hp and albumin in yeast-injected sheep. Costa et al. [24] described high negative correlation between albumin and Fb, Cp and albumin

concentrations, and high positive correlation between Fb and Cp, Fb and Hp, Fb and IgA, Cp and IgA, Cp and antitrypsin, and Cp and IgG concentrations in sheep with acute mastitis induced by *Staphylococcus aureus*.

Rodríguez-Lecompte et al. [26] reported reduced TP concentration due to both hypoalbuminemia and hypogammaglobulinemia in cows with grain-based and alfalfa-pellet SARA comparable to the results obtained in the first month of the present study. However, Vieira et al. [27] did not observe variations in TP over a 48-hour observational period after administration of sucrose to sheep; some authors have also described increased TP levels after acute ruminal acidosis in small ruminants, typically attributed to dehydration and subsequent hemoconcentration due to passage of water from the intravascular compartment to the rumen [28-30].

The constant Fb concentration observed in this study is concordant with other studies in which ruminal acidosis induced by sucrose [26] or high-grain diets [31-34] also did not change blood levels of this protein. However, Fb has been shown to be a useful APP in other ruminant diseases [12, 16, 17, 24, 35].

The upward trend of Hp levels from the second week observed in this study was also reported in other studies that induced ruminal acidosis by feeding high-concentrate diets [12, 18, 26, 31, 34, 36-38]. Increased Hp levels have been associated with acidic rumen environment [34], increased lysis of gram-negative bacteria in the rumen, and inflammatory response due to release of free LPS and their translocation into the peripheral circulation [36, 38]; however, Huo et al. [37] have shown evidence that LPS alone might not induce an APR and subsequent increase in Hp concentration. Danscher et al. [12] reported that hay-fed heifers induced to acute ruminal acidosis had more pronounced Hp response than those that were silage-fed, suggesting that inflammatory response depends on pre-existing conditions in the rumen, which may affect the degree of rumenitis, compromise of barrier function, change in bacterial population, and lactic acid production. Hp has been recognized as a valuable marker of disease in ruminants [13] and as a potential indicator of acidosis in goats, in which its levels might be related to the disease severity and the proportion of mixed feed used in non-adapted animals [31].

The increasing α_1 AT levels observed throughout the study period could be explained by the anti-protease activity of this APP to inhibit proteases released by

phagocytes or pathogens, limiting host tissue injury at the site of inflammation [14]. The use of plasma protein inhibitors is not widespread in veterinary medicine, so their diagnostic value has not yet been determined [10] and little is known about the diagnostic utility of α_1 AT in cattle [14].

The Cp concentration increased ten days after the dietary change, and then decreased, contrary to observations from Mohebbi et al. [34] that Cp concentration was not affected by high-grain ration in lambs. In other sheep disorders, Cp levels increase in the first days, as reported by Pfeffer and Rogers [17] in sheep with bronchial obstruction and pneumonia; Pfeffer et al. [16], in intrathoracically yeast-injected sheep; Pereira et al. [25] in lambs after hemolytic crisis due to chronic cooper poisoning; and Costa et al. [24] in ewes with induced acute mastitis. While Cp is less commonly used for diagnosis than other APPs, a number of studies have confirmed that this ferroxidase is an indicator of infection in cattle [10].

α_1 AG can down-modulate platelet aggregation, increasing platelet recruitment and its following release reaction thus down-regulating the local inflammatory response and preventing continued tissue damage [39]. In bovines, α_1 AG is a powerful anti-inflammatory protein that modulates all stages of the monocyte and polymorphonuclear attack sequence, including chemotaxis, reactive oxygen species production, and degranulation [11]. Eckersall et al. [39] suggested that α_1 AG could be a useful marker for chronic conditions in sheep, describing its extended increase in caseous lymphadenitis. However, in this study, α_1 AG concentration fell slightly in the first 11 days, and was subsequently nearly constant during the experimental period. Our observations are similar to a study by Chaves et al. [23], which described decreasing levels of this protein level for the first 10 days in sheep receiving 50 and 100% *Ipomoea asarifolia*, and a study by Costa et al. [24], which did not observe changes in α_1 AG in ewes with intramammary *S. aureus* infections.

Tf, also considered a negative APP, can bind iron tightly but reversibly, thus inhibiting multiplication of certain viral, bacterial, and fungal organisms by limiting their access to iron [14]. In the present study, Tf decreased slightly in the first week, increased until the 12th week, and then tended to return to baseline values until the end of the study period. Reduced Tf levels in sheep were also described by Costa et al. [24] 60 hours after intramammary infection of ewes by *S. aureus*, and by Chaves et al.

[23] before death due to 75% and 100% daily ration poisoning by *Ipomoea asarifolia*. The increase in serum Tf concentration during the inflammatory process may assist the host's non-specific defenses against microbial challenge [10].

Albumin levels decreased slightly from the seventh day to the fourth week, similar to reports from Pfeffer et al. [16] of a reduced concentration from seven to 33 days after intrathoracic injection of yeast in sheep, and a study by Costa et al. [24], which described reduced serum albumin levels after induction of acute mastitis in ewes, with a slight increase 96 hours after infection before returning to baseline values, an observation that coincided with clinical recovery. González et al. [35] observed decreased albumin levels in goats two days after subcutaneous injection of turpentine. Serum albumin is a major negative APP: during the APR, the increased demand for amino acids for synthesis of positive APPs necessitates reprioritization of hepatic protein synthesis [14].

IgA levels increased throughout the study period, similar to observations from Costa et al. [24] in ewes with acute mastitis, who suggested that increasing serum IgA may be related to demand for this immunoglobulin to protect body surfaces against infection. In this case, this elevation likely occurred to protect the gastrointestinal surface against chemical and microbial changes. IgG levels decreased from the seventh day to the eighth week, then tended to increase. As reported by Costa et al. [24], the initial decrease of IgG levels may be due its migration to control infections; the subsequent increase may be due to an antigenic stimulus triggered by bacteria. The forestomach epithelia comprise a very large surface that is continuously exposed to microbes and their products; while a secretory function is not documented, they may play a specific role in immune surveillance [11].

MWP₁₄₀, MWP₁₀₁, MWP₉₅, MWP₄₆, MWP₃₆, MWP₃₄, MWP₃₁, and MWP₂₃ proteins are not described in the literature, and their functions remain unknown; however, several of them show potential for use as APPs. A variety of new APPs and their mediators can be introduced to veterinary science due to a continuous quest for those substances and intensive research about their applications, thus accelerating the understanding of innate immune mechanisms and pathophysiology of infection and inflammation in animals [10].

Although APPs cannot efficiently detect chronic disease [16], APR during grain-induced SARA did not progress into acute inflammation [33], SARA signs manifest after a certain delay, and it is difficult to relate APP changes to other clinical or subclinical signs [41], the present results showed variations of serum protein profiles of sheep fed a high-grain diet for a long period of time. These findings agree with the suggestion by Ceciliani et al. [11] that the APR should be more properly defined as “systemic reaction to inflammation”, because it may accompany both acute and chronic inflammation.

Conclusions

The results of this study indicate that long-term ingestion of a high-concentrate diet can induce changes in serum protein profiles of Santa Inês sheep. In addition, SDS-PAGE allowed identification of a variety of serum proteins, some with unknown functions, which were also influenced by the high-grain diet.

Abbreviations

α_1 AG: α_1 -acid glycoprotein; α_1 AT: α_1 -antitrypsin; APP: acute phase protein; APR: acute phase response; Cp: ceruloplasmin; Fb: plasma fibrinogen; Hp: haptoglobin; IgA: immunoglobulin A; IgG: immunoglobulin G; MWP: molecular weight protein; SDS-PAGE: sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis; Tf: transferrin; TP: total serum protein.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests

Authors' contributions

AM participated in the study design, carried out the experiment and drafted the manuscript. AF participated in the the research conduction and laboratory tests. JJ helped in the analysis and interpretation of electrophoretic tracings. PC helped and coordinated the electrophoresis analysis. JA participated in the design of the study and performed the statistical analysis. LC conceived of the study, and participated in its

design and coordination and helped to draft the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

This work was funded by grants #2012/09111-7 and #2012/09220-0 from the São Paulo Research Foundation (FAPESP).

References

1. Kleen JL, Hooijer GA, Rehage J, Noordhuizen JPTM. Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. *J Vet Med A*. 2003;50:406-414.
2. Owens FN, Secrist DS, Hill WJ, Gill DR. Acidosis in cattle: a review. *J Anim Sci*. 1998;76:275-286.
3. Enemark JMD, Jørgensen RJ, Enemark PS. Rumen acidosis with special emphasis on diagnostic aspects of subclinical rumen acidosis. a review. *Vet Zootech Lith*. 2002;20,16-29.
4. Espinasse J, Kuiper R, Schelcher F. Physiopathologie du complexe gastrique. In: Jarrige R, Ruckebusch Y, Demarquilly C, Farce MH, Journet M, editors. *Nutrition des ruminants domestiques. Ingestion et digestion*. Versailles: INRA Editions; 1995. p. 805-852.
5. Plaizier JC, Khafipour E, Li S, Gozho GN, Krause DO. Subacute ruminal acidosis (SARA), endotoxins and health consequences. *Anim Feed Sci Technol* 2012;172:9-21.
6. Plaizier JC, Krause DO, Gozho GN, McBride BW. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences. *Vet J*. 2009;176:21-31.
7. 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 Vet Scand*. 2011;53:48.
8. Wenk MR, Fernandis AZ. Manual in biomedical research volume 3 – a manual for biochemistry protocols. Hackensack: World Scientific Publishing; 2007.
9. Eckersall PD, Bell R. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *Vet J*. 2010;185:23-27.
10. Murata H, Shimada N, Yoshioka M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Vet J*. 2004;168:28-40.
11. Cecilian F, Ceron JJ, Eckersall PD, Sauerwein H. Acute phase proteins in ruminants. *J Proteomics*. 2012;5:4207-4231.
12. Danscher AM, Thoenfner MB, Heegaard PMH, Ekstrøm CT, Jacobsen S. Acute phase protein response during acute ruminal acidosis in cattle. *Livest Sci*. 2011;135:62-69.

13. Eckersall PD. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. *Rev Med Vet (Toulouse)*. 2000;151:577-584.
14. Tothova C, Nagy O, Kovac G. Acute phase proteins and their use in the diagnosis of diseases in ruminants. a review. *Vet Med (Praha)*. 2014;59:163-180.
15. Gómez-Laguna J, Salguero FJ, Pallarés FJ, Rodríguez-Gómez IM, Barranco I, Carrasco L. 2011. Acute phase proteins as biomarkers in animal health and welfare. In: Veas F, editor. *Acute phase proteins as early non-specific biomarkers of human and veterinary diseases* Rijeka: Intech. p. 259-298.
16. Pfeffer A, Rogers KM, O'Keeffe L, Osborn PJ. Acute phase protein response, food intake, liveweight change and lesions following intrathoracic injection of yeast in sheep. *Res Vet Sci*. 1993;55:360-366.
17. Pfeffer A, Rogers KM. Acute phase response of sheep: changes in the concentrations of ceruloplasmin, fibrinogen, haptoglobin and the major blood cell types associated with pulmonar damage. *Res Vet Sci*. 1989;46:118-124.
18. Gozho GN, Krause DO, Plaizier JC. Rumen lipopolysaccharide and inflammation during grain adaptation and subacute ruminal acidosis in steers. *J Dairy Sci*. 2006;89:4404-4413.
19. Fitzpatrick J, Scott M, Nolan A. Assessment of pain and welfare in sheep. *Small Rum Res*. 2006;62:55–61.
20. González FHD, Martínez-Subiela S, Cerón JJ. Haptoglobina em ruminantes. Generalidades y posibles aplicaciones clínicas. *An Vet Murcia*. 2007;23:5-17.
21. Laemmli U. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970;227:680-685.
22. Allison RW. Avaliação laboratorial das proteínas do plasma e do soro sanguíneo. In: Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell TW, editors. *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. 2nd ed. São Paulo: Roca; 2015. p. 398-411.
23. Chaves DP, Fagliari JJ, Silva PC. Proteinograma sérico de ovinos intoxicados experimentalmente por salsa. *Ciê Anim Bras*. 2011;12:547-553.
24. Costa NA, Simão LCV, Santos RA, Afonso JAB, Fagliari JJ, Cardoso EC, Soares PC, Mendonça CL. Proteinograma e teores de cobre, ferro e zinco no soro sanguíneo de ovelhas da raça Santa Inês com mastite experimental por *Staphylococcus aureus*. *Pesqui Vet Bras*. 2010;30:435-442.
25. Pereira WAB, Faria JLM, Silva PC, Hatayde MR, Fagliari JJ. Proteinograma sérico de ovinos intoxicados por cobre. *Ciê Anim Bras*. 2009;1:354-359.
26. Rodríguez-Lecompte JC, Kroeker AD, Ceballos-Márquez A, Li S, Plaizier JC, Gomez DE. Evaluation of the systemic innate immune response and metabolic alterations of nonlactating cows with diet-induced subacute ruminal acidosis. *J Dairy Sci*. 2014;97:7777–7787.
27. Vieira AC, Câmara AC, Mendonça CL, Afonso AB. Hematological and biochemical profile of sheep supplemented with salinomycin and submitted to experimental lactic ruminal acidosis. *Ciê Anim Bras*. 2012;13:259-271.

28. Ismail M, Mahmoud AA, Nasr MY, Badr YA. Clinical and laboratory studies on experimentally induced acute ruminal lactic acidosis in male goats. *Alex Journal Vet Sci.* 2010;31:53-62.
29. Patra RC, Lal SB, Swarup D. Biochemical profile of rumen liquor, blood and urine in experimental acidosis in sheep. *Small Rumin Res.* 1996;19:177-180.
30. Zein-Eldin MM, Ghanem MM, Abd El-Raof YM, El-Attar HM, El-khaiat HM. Clinical, haematobiochemical and ruminal changes during the onset and recovery of induced lactic acidosis in sheep. *Biotechnol Anim Husb.* 2014;30:647-659.
31. González FHD, Ruipérez FH, Sánchez JM, Souza JC, Martinez-Subiela S, Cerón JJ. Haptoglobin and serum amyloid A in subacute ruminal acidosis in goats. *Rev Med Vet Zoot.* 2010;57:159-167.
32. Gozho GN, Krause DO, Plaizier JC. Ruminal lipopolysaccharide concentration and inflammatory response during grain-induced subacute ruminal acidosis in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2007;90:856-866.
33. Li S, Gozho GN, Gakhar N, Khafipour E, Krause DO, Plaizier JC. 2012. Evaluation of diagnostic measures for subacute ruminal acidosis in dairy cows. *Can J. Anim. Sci.* 2012;92: 353-364.
34. Mohebbi M, Sajedianfard J, Nazifi S, Samimi AS. Changes of serum amyloid A, haptoglobin, ceruloplasmin, fibrinogen, and lipid-associated sialic acid in sheep fed high grain rations with altered digestive functions. *Comp Clin Path.* 2010;19:541-546.
35. González FHD, Tecles F, Martinez-Subiela S, Tvarijonaviciute A, Vasco LS, Cerón JJ. Acute phase protein responses in goats. *J Vet Diagn Invest.* 2008;20:45-49.
36. Gozho GN, Plaizier JC, Krause DO, Kennedy AD, Wittenberg KM. Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammation response. *J Dairy Sci.* 2005;88:1399-1403.
37. Huo W, Zhu W, Mao S. Effects of feeding increasing proportions of corn grain on concentration of lipopolysaccharide in the rumen fluid and the subsequent alterations in immune responses in goats. *Asian-australas J Anim Sci.* 2013;26:1437-1445.
38. Khafipour E, Krause DO, Plaizier JC. A grain-based subacute ruminal acidosis challenge causes translocation of lipopolysaccharide and triggers inflammation. *J Dairy Sci.* 2009;92:1060-1070.
39. Hochebied T, Berger FG, Baumann H, Libert C. α 1-Acid glycoprotein: an acute phase protein with inflammatory and immunomodulating properties. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003;14:25-34.
40. Eckersall PD, Lawson FP, Bence L, Waterston MM, Lang TL, Donachie W, Fontaine MC. Acute phase protein response in an experimental model of ovine caseous lymphadenitis. *BMC Vet Res.* 2007;3:35.
41. Canizzo C, Ganesella M, Giudice E, Messina V, Piccione G, Morgante M. Serum acute phase proteins in cows with SARA (subacute ruminal acidosis) suspect. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2012;64:15-22.

Table 1. Mean $\pm$ standard deviation and coefficient of variation (CV) of serum protein concentrations (mg/dL), obtained by SDS-PAGE (IgA and IgG - immunoglobulin A and G; MWP₁₄₀, MWP₁₀₁, MWP₉₅, MWP₆₆, MWP₃₄, MWP₃₁, MWP₂₃ - 140, 101, 95, 46, 36, 34, 31, 23 kDa molecular weight proteins; Cp - ceruloplasmin; Hp - haptoglobin; α 1AT - α 1-antitrypsin; α 1AG - α 1-acid glycoprotein), in Santa Inês sheep (*Ovis aries*) eating a high-concentrate diet for 19 weeks. Plasma fibrinogen - Fb (g/dL) was obtained by heat precipitation; and total serum protein - TP (g/dL) was obtained by biuret method.

Day	IgA	MWP ₁₄₀	Cp	MWP ₁₀₁	MWP ₉₅	Transferrin	Albumin	α1AT	MWP ₃₄	Hp	α1GA	MWP ₃₁	MWP ₂₃	MWP ₁₉	IgG	Fb	TP	
0	24±7	12±7	85±22	23±5	14±10	467±21	3849±410	206±26	31±21	9±5	11±3	62±68	49±9	44±9	142±15	220±64	7.25±0.68	
1	38±13	10±6	88±26	17±11	18±7	488±115	3973±562	216±50	44±6	7±4	11±4	30±52	47±9	49±8	154±26	2531±799	7.69±0.89	
2	17±5	13±4	80±24	28±8	9±5	442±65	4044±475	243±42	47±8	14±13	11±4	26±36	48±9	46±10	166±13	2489±907	7.70±0.80	
3	21±5	14±5	96±15	30±7	19±17	358±148	3626±478	217±37	43±8	8±5	14±3	20±26	45±11	45±6	144±20	2270±750	7.00±0.66	
4	21±6	14±7	108±9	30±14	18±16	425±69	3731±305	230±51	47±18	7±3	14±4	12±7	47±8	49±6	152±7	2483±858	7.33±0.89	
5	25±9	15±6	111±12	37±5	16±15	430±53	3758±416	235±50	49±9	6±4	16±3	10±3	45±9	50±5	143±7	2389±813	7.32±0.73	
6	27±8	16±5	113±10	34±10	8±5	370±88	3824±516	220±47	54±8	12±11	14±5	11±6	49±5	52±9	137±15	2415±876	7.34±0.83	
7	24±6	20±6	76±13	20±6	18±18	371±89	3859±648	262±27	34±20	7±6	10±4	20±15	49±11	43±16	145±19	2043±672	6.96±0.51	
8	22±9	23±8	96±29	21±14	12±8	443±78	3751±300	242±34	51±17	12±13	7±3	23±23	39±18	39±19	154±46	2168±808	7.00±0.66	
9	26±13	27±10	112±49	23±13	17±3	468±87	3814±350	257±45	49±15	5±6	8±5	27±24	42±9	41±16	149±29	2170±841	7.13±0.63	
10	27±10	31±9	123±33	33±10	14±8	492±53	4034±515	231±46	54±10	6±4	7±5	16±17	49±6	52±10	152±18	2429±971	7.70±1.03	
11	25±5	26±10	114±38	38±14	12±7	504±60	4000±282	215±43	44±17	6±5	9±7	11±7	47±7	51±12	150±20	2340±844	7.61±0.91	
12	27±15	22±7	114±28	34±9	12±7	500±26	4125±746	244±60	47±14	11±14	7±3	12±6	47±5	50±10	155±33	2431±1030	7.82±1.41	
13	23±5	20±6	102±27	32±19	16±12	474±84	3974±685	255±66	52±10	12±16	9±4	16±19	43±6	50±11	158±22	2369±816	7.53±1.31	
14	23±5	20±4	87±25	20±11	12±9	484±42	3940±375	261±19	50±10	8±9	9±4	7±2	39±3	39±9	168±14	2261±815	7.26±1.01	
16	20±5	20±4	97±27	30±15	10±12	504±61	3848±322	255±27	41±14	6±3	11±4	12±11	42±6	43±9	153±24	2110±701	7.15±0.71	
18	31±15	21±8	104±19	30±18	16±8	488±85	3680±286	217±25	44±9	5±2	12±2	7±3	39±6	45±6	129±27	1972±579	6.77±0.69	
20	29±11	21±6	100±46	37±16	26±21	491±80	3790±519	248±69	39±10	7±4	11±4	20±33	42±8	46±11	130±17	1880±551	6.93±0.51	
22	47±21	22±5	91±44	38±13	11±2	721±340	3489±481	260±65	50±10	15±16	9±3	21±38	45±11	51±10	141±26	1926±468	6.93±0.66	
24	52±28	22±7	85±28	37±8	9±3	679±310	3385±421	284±49	44±11	7±5	10±2	14±23	38±13	50±12	136±22	1832±473	6.69±0.69	
26	51±15	23±9	90±37	35±9	6±3	651±276	3538±217	292±80	43±18	10±5	12±4	23±38	43±13	49±8	143±28	1841±366	6.87±0.47	
28	48±14	23±11	90±35	36±9	4±1	583±143	3579±267	277±52	30±29	8±4	12±4	24±33	43±12	46±10	146±19	1771±387	6.75±0.54	
36	34±17	17±9	69±43	24±6	3±2	582±133	3526±526	266±63	39±21	9±4	11±2	19±25	37±9	42±8	151±30	1567±533	6.42±1.07	
42	35±12	16±5	69±39	32±19	54±81	800±487	3642±504	294±93	25±15	10±8	9±2	16±20	43±12	39±7	175±46	1731±335	7.01±0.36	
49	41±24	18±4	86±36	38±7	10±3	582±88	4091±317	267±41	39±6	7±4	12±4	12±15	37±17	38±8	173±22	1776±412	7.28±0.61	
56	45±25	17±7	87±33	40±6	35±35	876±647	3636±428	286±50	36±14	7±4	10±7	35±37	36±12	38±13	178±48	1484±252	6.82±0.81	
63	24±13	21±13	76±21	34±6	26±17	766±184	4029±280	317±58	35±20	14±5	11±4	77±98	37±18	41±13	220±46	1488±240	7.23±0.60	
70	30±24	17±5	68±18	33±9	30±50	733±99	3884±379	351±133	26±16	13±4	13±4	41±50	40±16	41±13	213±44	1685±239	7.33±0.72	
77	31±25	21±9	84±15	28±9	8±7	672±61	3778±237	311±99	29±12	9±4	13±2	43±60	45±11	47±13	195±21	1893±709	7.24±0.94	
84	31±11	17±6	82±35	28±12	53±87	720±131	3843±231	301±53	22±11	14±6	9±4	32±38	44±9	50±10	214±13	2038±708	7.51±0.73	
91	42±13	13±7	86±23	18±15	16±10	585±196	3754±307	336±33	42±25	16±11	15±12	28±45	49±9	52±9	207±29	2105±738	7.35±0.82	
98	42±12	13±2	74±23	26±23	64±129	776±328	3607±303	307±59	42±11	13±9	13±5	15±21	50±17	46±5	231±34	1943±522	7.26±0.59	
105	54±19	14±2	96±62	25±21	13±8	621±158	3773±249	304±60	52±14	13±6	10±4	61±135	47±17	52±13	214±28	2030±552	7.37±0.59	
112	47±12	12±2	55±23	20±17	13±6	509±179	4036±282	330±72	66±16	16±6	9±3	41±72	46±17	52±8	230±39	2075±788	7.52±0.72	
119	55±22	16±4	61±20	46±3	15±3	600±50	3889±329	302±47	53±21	16±7	9±2	20±20	45±20	50±10	222±25	2126±753	7.54±0.63	
126	42±15	13±5	64±19	29±15	12±4	591±58	4041±288	325±42	63±13	14±6	12±4	22±34	45±19	48±8	227±21	2216±888	7.67±0.78	
133	40±20	15±5	56±12	37±14	15±5	493±53	4126±325	316±46	66±14	19±8	11±4	9±3	51±12	64±35	218±26	2272±901	7.77±0.83	
CV	44.46	37.30	33.88	41.50	181.29	34.40	10.86	22.03	34.23	75.26	40.92	174.83	27.05	25.70	16.17	33.52	70.73	7.49

Day 0 (control): mean of observations performed weekly, for three weeks before dietary change

Day 0 (control): mean of observations performed weekly, for three weeks before dietary change

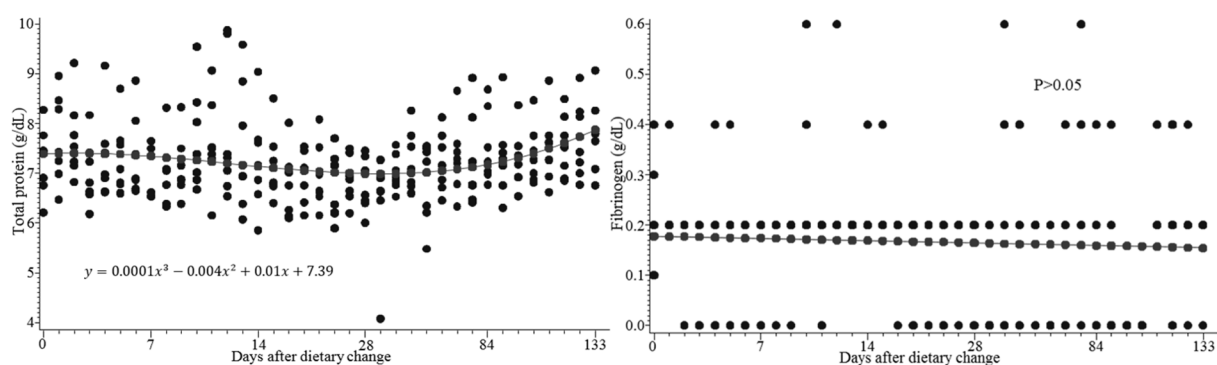


Figure 1. Results of regression analysis between time, total serum protein, and plasma fibrinogen concentrations in Santa Inês sheep (*Ovis aries*) eating a high concentrate diet for 19 weeks. Day 0 (control): mean of observations performed weekly, for three weeks before dietary change.

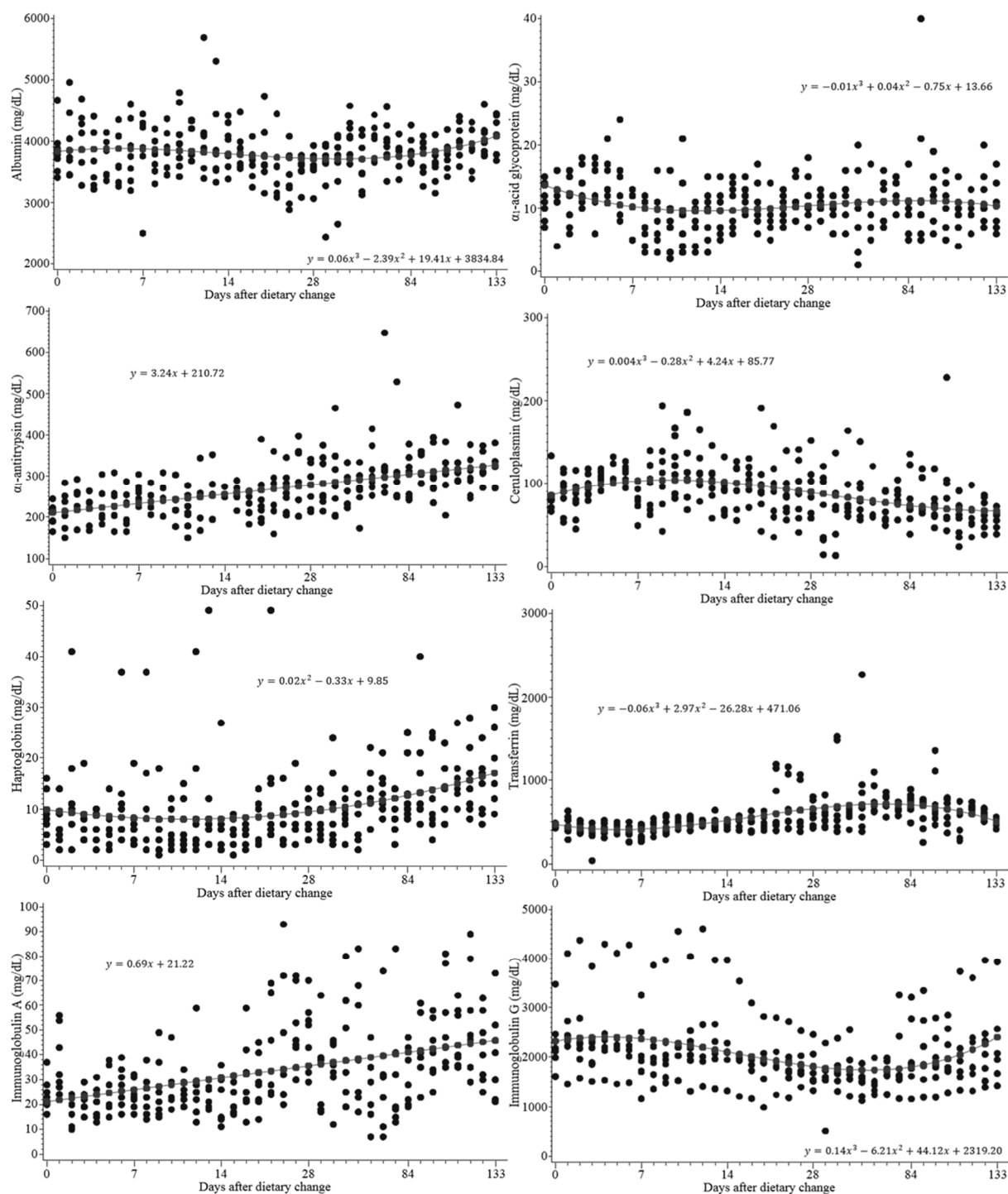


Figure 2. Results of regression analysis between time and serum protein concentrations, obtained by SDS-PAGE technique, in Santa Inês sheep (*Ovis aries*) eating a high concentrate diet for 19 weeks. Day 0 (control): mean of observations performed weekly, for three weeks before dietary change.

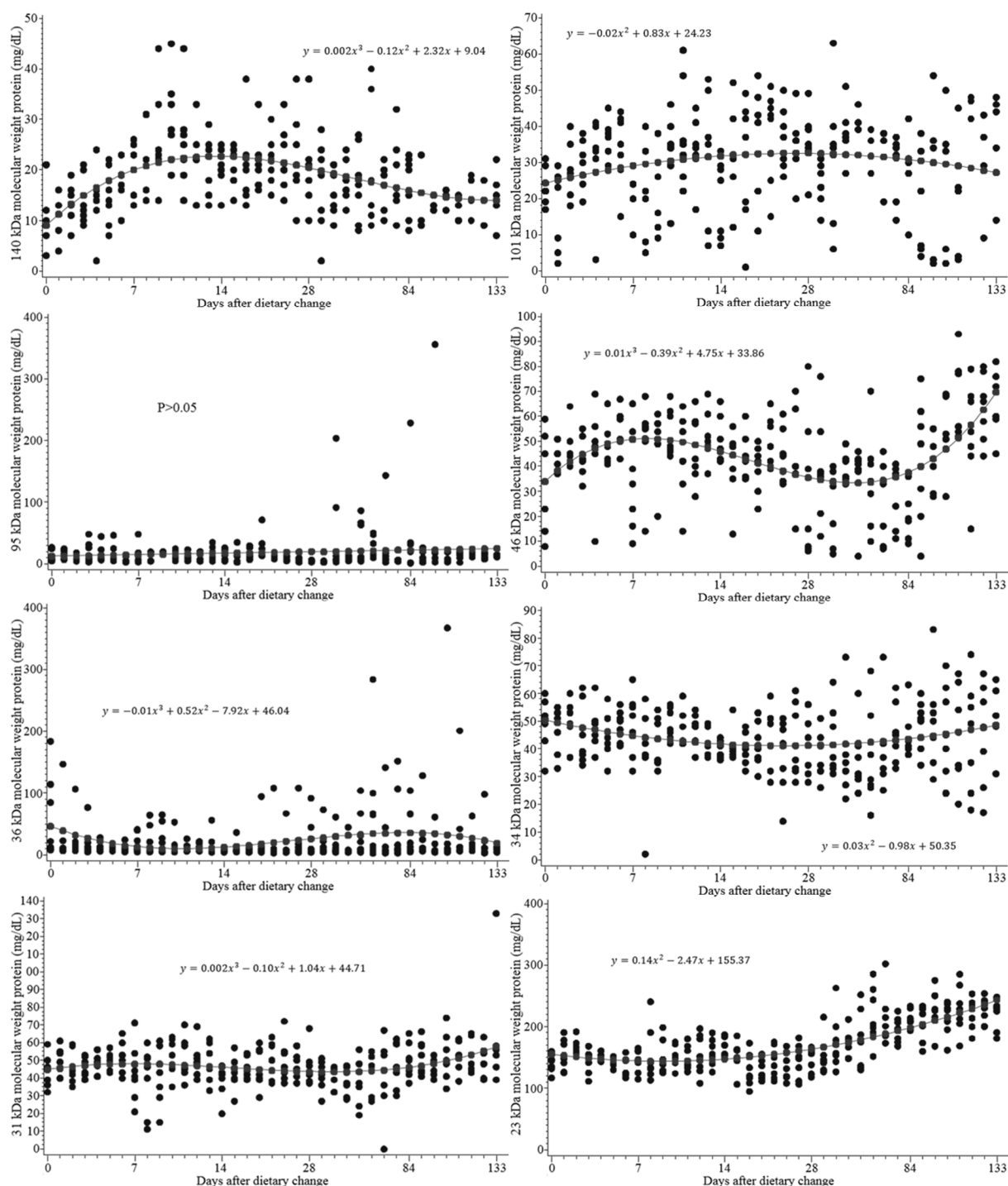


Figure 3. Results of regression analysis between time and unknown serum protein concentrations, obtained by SDS-PAGE technique in Santa Inês sheep (*Ovis aries*) eating a high concentrate diet for 19 weeks. Day 0 (control): mean of observations performed weekly, for three weeks before dietary change.

CAPÍTULO 6 – Termografia infravermelha e radiologia digital na detecção de laminite em ovelhas Santa Inês com acidose ruminal subaguda induzida experimentalmente

RESUMO - Considerando-se a importância da laminite em ovinos, exame físico e técnicas de diagnóstico por imagem para a detecção precoce dessa enfermidade foram empregadas neste estudo. Avaliou-se os sinais comportamentais dos animais e os cascos para detecção de lesões e as imagens termográficas diariamente por duas semanas e, então, em dias intercalados até completar um mês de observação. Posteriormente, assim como a análise radiográfica podal, tais avaliações foram efetuadas a cada sete dias até o final do período de 19 semanas. A termografia infravermelha apresentou grande potencial para o diagnóstico precoce da laminite em ovinos, detectando aumentos na temperatura máxima da parede do casco mesmo sem a manifestação de sinais comportamentais de dor. A radiologia digital, por sua vez, não permitiu a identificação de alterações podais decorrentes de laminite durante o período de observação.

Palavras-chave: alimento concentrado, ovinos, radiografia, raio-X, termograma

1. Introdução

O crescimento da indústria de carne ovina tem aumentado o número de animais confinados, os quais podem desenvolver desordens como a acidose ruminal subaguda (ARS), diminuição intermitente no pH ruminal a níveis não fisiológicos após a ingestão de dieta alta em energia em ambiente ruminal não adaptado para fermentá-la e absorver o excesso de ácidos graxos de cadeia curta (KLEEN et al., 2003), porém com populações aumentadas de microrganismos amilolíticos e lactolíticos que limitam o acúmulo de ácido láctico (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002). As consequências clínicas da ARS se manifestam semanas a meses após o insulto inicial (ENEMARK; JØRGENSEN; ENEMARK, 2002; KLEEN et al., 2003; MARIE KRAUSE; OETZEL, 2006). Rebanhos afetados podem apresentar alta incidência de laminite e problemas locomotores associados (KLEEN et al., 2003), sendo a laminite a sequela mais significativa da ARS (NORDLUND; GARRET; OETZEL, 1995).

A laminite, por ser uma inflamação das lâminas dos cascos, área que contém nervos e vasos sanguíneos, pode resultar em aumento do fluxo de sangue para o casco, o qual é detectado via termografia infravermelha (TIV) (TURNER, 1991; TURNER, 1998; TURNER, 2001), que permite diagnósticos e tratamentos precoces (PUROHIT; TURNER; PASCOE, 2007; LAHIRI et al., 2012). A TIV é uma tecnologia na qual uma câmera mensura a radiação infravermelha emitida e cria imagens chamadas termogramas, processadas por um software analisador (TURNER, 1998; TURNER, 2001; KNÍŽKOVÁ et al., 2007; PUROHIT; TURNER; PASCOE, 2007).

A TIV não afeta o comportamento dos animais (STEWART et al., 2005; MCCAFFERTY, 2007; D'ALTERIO et al., 2011; ZECCONI et al., 2011), é mais sensível que a palpação (EDDY; VAN HOOGLMOED; SNYDER, 2001; ÇETİNKAYA; DEMİRUTKU, 2012), portátil (TURNER, 1998; MCCAFFERTY, 2007), não envolve radiação e auxilia no monitoramento do tratamento (EDDY; VAN HOOGLMOED; SNYDER, 2001; PUROHIT; TURNER; PASCOE, 2007; LAHIRI et al., 2012). Porém, sua capacidade de previsão antes dos sinais clínicos permanece não revelada (NIKKHAH, 2015). Alguns estudos com TIV foram realizados em ovinos (KNÍŽKOVÁ et al., 2005; STELLETTA et al., 2007; CAPRARO et al., 2008; STUBSJØEN et al., 2009; D'ALTERIO et al., 2011; NETO; RODELLO; BICUDO, 2011; DE DIEGO et al., 2013; MARTINS et al., 2013; NOGUEIRA et al., 2013; PICCIONE et al., 2013; CASTRO-COSTA et al., 2014; PAIM et al., 2014). Entretanto, são raros os estudos termográficos relacionados às afecções podais que afetam, com grande frequência, esta espécie (TALUKDER; GABAI; CELI, 2015).

A radiografia tem se estabelecido como um diagnóstico padrão em Medicina Veterinária, apesar de não ter se tornado um procedimento rotineiro na prática com ruminantes, particularmente devido a seu custo, situação que também se reflete na literatura científica (KOFLEER; GEISSBÜHLER; STEINER, 2014). A radiografia digital (digital radiography – DR) usa um detector especial que, após exposição, fornece imagem em computador disponível para visualização e processamento. Este tipo de radiografia fornece várias vantagens em relação à técnica radiográfica convencional (MCKNIGHT, 2004), principalmente a redução da radiação utilizada (MCKNIGHT, 2004; UFFMANN; SCHAEFER-PROKOP, 2009; KOFLEER; GEISSBÜHLER; STEINER, 2014).

Desordens locomotoras são comuns em ovinos (JACKSON; COCKCROFT, 2002) e a claudicação representa um dos principais problemas para o bem-estar e produção de pequenos ruminantes (EZE, 2002). Ovinos com dor podal severa tem limiar para estímulos nociceptivos mais baixo mesmo após tratamento (LEY; LIVINGSTON; WATERMAN, 1989). Assim, a laminite continua sendo um dos mais importantes problemas de bem-estar que afetam a criação de ovinos (WINTER, 2004a). A carência de informações referentes às lesões podais nestes animais induz os erros no diagnóstico e dificulta o sucesso dos tratamentos implementados (HILL et al., 1997; WINTER, 2004b). Além disso, há discrepância entre os sinais clínicos da laminite e as alterações visíveis nos cascos, sendo as lesões podais ocultas comuns nos pequenos ruminantes (OSSENT; LISCHER, 1997). Portanto, a caracterização destas lesões facilita o diagnóstico e a conduta terapêutica (AGUIAR et al., 2011).

O bem-estar de ruminantes pode ser comprometido por muitos fatores, principalmente pela dor associada às doenças inflamatórias (FITZPATRICK; SCOTT; NOLAN, 2006). Deve-se realizar um esforço constante para identificar problemas causados pelo processo de produção, a fim de se estabelecer planos preventivos apropriados (ROGER, 2008) e a detecção precoce de laminite é essencial para a melhoria do bem-estar dos animais, dos rendimentos da criação e das taxas de recuperação (ZECCONI et al., 2011). Neste contexto, este estudo teve como objetivo avaliar as alterações podais, à radiografia digital e à termografia infravermelha, de ovinos Santa Inês induzidos à acidose ruminal subaguda, a longo prazo.

2. Material e métodos

2.1 Período experimental

Foram utilizadas sete ovelhas adultas, hígidas, criadas a campo, desverminadas, com cânula ruminal permanente.

Os animais foram mantidos em baias providas de cama, comedouros e bebedouros adequados, sob as devidas condições de higiene, junto ao Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp Câmpus de Jaboticabal.

Os animais foram mantidos sob dieta basal com feno de “coast cross” (*Cynodon dactylon*) *ad libitum*, o que atende às necessidades nutricionais de ovinos em manutenção (SOBRINHO et al., 1996). Além disso, tiveram livre acesso à água potável e mistura mineral (Tortuga Ovinofós com minerais orgânicos)¹. O período de adaptação foi de 69 dias e o início das colheitas deu-se 40 dias após a rumenostomia.

No início do período experimental, 15 dias, sete dias e imediatamente antes do início do fornecimento de alimento concentrado, exames físicos foram realizados em todos os animais e amostras de sangue e fluido ruminal foram obtidas e utilizadas para estabelecimento dos padrões iniciais (média das três colheitas), que serviram para comparações com os valores do período experimental.

Para a indução da acidose ruminal, as ovelhas receberam dieta, baseada no consumo médio diário (2 kg de matéria orgânica/animal/dia) do período de adaptação, na qual foram incluídos ao volumoso, diariamente, 10% de alimento concentrado farelado, composto por 76,8% de milho moído, 18,2% de farelo de soja e 5% de núcleo mineral e vitamínico (Guabi Ruminúcleo Ovinos 40 ADE)², até completar 80% (BROSSARD; MARTIN; MICHALET-DOREAU, 2003), porcentagem de alimento concentrado que foi mantida até o final do período experimental. Após o início do fornecimento de concentrado na alimentação dos animais, o experimento se estendeu por 19 semanas.

Foram avaliados, antes da obtenção dos termogramas e radiografias digitais, os sinais comportamentais de laminite e os cascos para detecção de seus sinais e lesões (RIET-CORREA et al., 2001; FEITOSA, 2008). A avaliação dos sinais de laminite e a obtenção de imagens termográficas foram realizadas diariamente por duas semanas e, então, em dias intercalados até o final do primeiro mês experimental. Posteriormente, assim como a análise radiográfica podal, tais avaliações foram efetuadas a cada sete dias até o final do período de observação.

¹ Tortuga Companhia Zootécnica Agrária, São Paulo, São Paulo, Brasil.

² Mogiana Alimentos S/A, Campinas, São Paulo, Brasil.

2.2 Termografia infravermelha

Imagens termográficas da face cranial da região podal de todos os membros foram obtidas a partir das 14h00, com os animais contidos, sem tranquilização, em estação, após descanso (PUROHIT; TURNER; PASCOE, 2007), estando estas áreas limpas, secas, na ausência de luz solar direta e corrente de ar (TURNER, 2001; KNÍŽKOVÁ et al., 2007), por meio de aparelho termovisor (FLIR T300)³ e analisadas em software (FLIR Tools Version 5.1.15036.1001, FLIR Systems Inc., Portland, Oregon, USA). Tomou-se o cuidado de se obter as imagens termográficas sempre no mesmo horário, uma vez que a temperatura podal de ovinos apresenta variação circadiana quando analisada pela termografia infravermelha (D'ALTERIO et al., 2011; PICCIONE et al., 2013).

A câmera foi posicionada perpendicular à parede do casco, a cerca de 30 cm de distância desta, na posição anteroposterior. Imagens caudais também foram tomadas, de maneira a comparar a temperatura entre membros contralaterais. A temperatura ambiente foi aferida no final dos exames por termômetro digital de máxima e mínima (modelo 7665)⁴.

Três regiões da face cranial de cada dígito foram avaliadas: acima da parede do casco (composta pela pele e banda coronária, porém coberta por pêlo, a qual foi chamada de “pele”), parede do casco e extremidade do casco (Figura 1).

Avaliou-se a associação entre as variáveis e o tempo por meio de regressão linear, quadrática e cúbica e a correlação entre as variáveis pelo coeficiente de Pearson, utilizando-se software de análise estatística (SAS 9.1)⁵. Considerou-se o escore fraco ($0,01 \leq r \leq 0,39$), moderado ($0,40 \leq r \leq 0,69$) e forte ($0,70 \leq r \leq 1,00$) para a classificação do nível de correlação entre as variáveis. O nível de significância considerado foi 5%.

³ FLIR Systems Inc., Portland, Oregon, USA

⁴ Incoterm Indústria de Termômetros LTDA., Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

⁵ SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA



Figura 1. Áreas mensuradas em termografia podal, face cranial, de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas: 1 - pele, 2 - parede do casco, 3 - extremidade do casco.

2.3 Radiologia digital

Após limpeza dos dígitos e com o animal devidamente contido (KOFLER; GEISSBÜHLER; STEINER, 2014), imagens radiográficas da região podal de todos os membros dos animais, na posição dorso-palmar e dorso-plantar, foram obtidas em aparelho de raios X digital direto (Portable DR system PDX-1417)⁶. As radiografias podais foram realizadas com o animal contido sem tranquilização no tronco tombador (Tronco tombador para ovinos e caprinos ITC do Brasil)⁷, em decúbito dorsal. Eram radiografados, simultaneamente, os dois membros torácicos e, posteriormente, os dois membros pélvicos. Para este exame, o emissor de raios X foi posicionado a 75 cm de distância da placa receptora e o aparelho configurado em 60 kV e 2,9 mAs, semelhante à configuração utilizada por DUNCAN et al. (2013) para radiografar a região podal de ovinos (Figura 2). As imagens radiográficas obtidas foram processadas e analisadas por meio de software para uso veterinário (dicomPACS® DX-R)⁸.

⁶ Poskom Co. LCD., Goyang, Korea.

⁷ Patina Indústria e Comércio de Produtos Agropecuários Ltda, Castro, Paraná, Brasil.

⁸ OR Technology (Oehm und Rehbein GmbH), Rostock, Germany.



Figura 2. Posicionamento dos equipamentos e da ovelha para realização de radiografia dos dígitos: a - tronco tombador; b - emissor de raios X; c - placa receptora.

3. Resultados

3.1 Termografia infravermelha

As médias, desvios padrão e coeficientes de variação das variáveis analisadas estão na Tabela 1. Foram observadas associações entre o tempo experimental e todas as regiões analisadas nos três tipos de aferição (temperatura média, máxima e mínima), inclusive na temperatura ambiente ($P < 0,0001$) (Figuras 3 a 6).

Todas as regiões, nos três grupos de temperatura, foram fortemente correlacionadas, com exceção da correlação entre temperatura máxima da parede do casco e temperatura mínima da extremidade do casco, que foi moderada ($r = 0,68$) (Tabela 2). Quanto à temperatura ambiente, esta se correlacionou de fortemente com as temperaturas médias da pele ($r = 0,70$) e da extremidade do casco ($0,78$); e com as temperaturas mínimas da pele ($0,71$), parede ($0,70$) e extremidade do casco ($0,74$). A temperatura ambiente teve correlação moderada com a temperatura média da parede ($r = 0,59$) e temperaturas máximas da pele ($r = 0,59$), parede ($r = 0,53$) e extremidade do casco ($r = 0,68$) ($P < 0,0001$). Assim, a temperatura máxima da parede do casco é a menos influenciada pela temperatura ambiente (Tabela 2). Não houve efeito do dígito (medial ou lateral) ou do membro (direito ou esquerdo) sobre as variáveis ($P > 0,05$).

Tabela 1. Média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação (CV) das temperaturas da pele, parede e extremidade do casco de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas ($^{\circ}\text{C}$, por termografia infravermelha) e a temperatura ambiente ($^{\circ}\text{C}$, por termômetro digital)

Dia	Temperatura média ($^{\circ}\text{C}$)			Temperatura máxima ($^{\circ}\text{C}$)			Temperatura mínima ($^{\circ}\text{C}$)			Temperatura ambiente ($^{\circ}\text{C}$)
	Pele	Parede	Extremidade	Pele	Parede	Extremidade	Pele	Parede	Extremidade	
0	21,4 $\pm$ 2,2	21,2 $\pm$ 1,9	20,3 $\pm$ 1,4	22,3 $\pm$ 2,4	22,0 $\pm$ 2,2	21,0 $\pm$ 1,6	20,4 $\pm$ 1,9	20,2 $\pm$ 1,5	19,6 $\pm$ 1,1	20,3 $\pm$ 1,9
1	23,5 $\pm$ 1,9	22,8 $\pm$ 1,6	21,6 $\pm$ 0,8	24,5 $\pm$ 2,3	23,7 $\pm$ 2,1	22,5 $\pm$ 1,3	21,9 $\pm$ 1,4	21,4 $\pm$ 0,9	20,7 $\pm$ 0,6	23,9 $\pm$ 1,0
2	24,7 $\pm$ 2,6	23,9 $\pm$ 2,5	22,3 $\pm$ 1,5	26,0 $\pm$ 3,4	25,2 $\pm$ 3,2	23,4 $\pm$ 2,2	22,4 $\pm$ 1,4	21,7 $\pm$ 1,0	20,8 $\pm$ 0,6	24,7 $\pm$ 0,8
3	26,5 $\pm$ 2,2	25,8 $\pm$ 2,9	23,0 $\pm$ 1,1	28,0 $\pm$ 2,7	27,4 $\pm$ 3,6	24,5 $\pm$ 1,7	23,8 $\pm$ 1,9	23,0 $\pm$ 1,7	21,6 $\pm$ 0,8	26,3 $\pm$ 0,5
4	26,3 $\pm$ 2,1	25,4 $\pm$ 2,9	22,7 $\pm$ 0,8	27,7 $\pm$ 2,7	26,9 $\pm$ 3,5	24,3 $\pm$ 1,6	23,8 $\pm$ 1,9	22,7 $\pm$ 1,4	21,4 $\pm$ 0,5	26,2 $\pm$ 0,6
5	25,3 $\pm$ 2,4	24,3 $\pm$ 2,4	22,1 $\pm$ 1,5	26,6 $\pm$ 3,0	25,5 $\pm$ 2,9	23,5 $\pm$ 1,9	23,0 $\pm$ 1,8	22,2 $\pm$ 1,4	20,8 $\pm$ 1,0	25,6 $\pm$ 1,2
6	24,7 $\pm$ 3,3	23,9 $\pm$ 3,2	22,2 $\pm$ 2,4	26,0 $\pm$ 4,0	25,2 $\pm$ 3,8	23,4 $\pm$ 2,9	22,7 $\pm$ 2,5	22,1 $\pm$ 2,4	21,1 $\pm$ 2,1	23,9 $\pm$ 1,4
7	25,9 $\pm$ 2,8	25,4 $\pm$ 2,9	23,1 $\pm$ 1,3	27,2 $\pm$ 3,5	26,7 $\pm$ 3,6	24,5 $\pm$ 2,4	23,6 $\pm$ 1,6	23,1 $\pm$ 1,1	21,8 $\pm$ 0,4	26,4 $\pm$ 0,8
8	28,2 $\pm$ 2,1	27,4 $\pm$ 2,5	24,2 $\pm$ 1,0	29,8 $\pm$ 3,0	29,3 $\pm$ 3,4	25,9 $\pm$ 1,6	25,3 $\pm$ 1,3	24,3 $\pm$ 1,1	22,8 $\pm$ 0,9	26,8 $\pm$ 0,9
9	29,0 $\pm$ 1,7	28,4 $\pm$ 2,4	24,5 $\pm$ 1,7	30,8 $\pm$ 2,3	30,4 $\pm$ 2,8	26,5 $\pm$ 1,9	25,8 $\pm$ 1,4	24,8 $\pm$ 1,2	22,8 $\pm$ 1,3	27,5 $\pm$ 0,3
10	27,9 $\pm$ 2,9	27,1 $\pm$ 3,7	23,9 $\pm$ 1,5	29,4 $\pm$ 3,8	28,7 $\pm$ 4,3	25,5 $\pm$ 1,9	25,3 $\pm$ 1,6	24,4 $\pm$ 1,7	22,9 $\pm$ 1,6	27,3 $\pm$ 0,7
11	27,9 $\pm$ 2,5	27,3 $\pm$ 3,3	24,1 $\pm$ 1,7	29,3 $\pm$ 3,2	29,1 $\pm$ 4,0	25,5 $\pm$ 2,3	25,3 $\pm$ 2,0	24,2 $\pm$ 1,8	22,5 $\pm$ 0,9	27,5 $\pm$ 0,0
12	27,5 $\pm$ 2,1	27,2 $\pm$ 2,8	23,8 $\pm$ 1,4	28,9 $\pm$ 2,7	28,9 $\pm$ 3,5	25,2 $\pm$ 1,6	25,1 $\pm$ 1,7	24,0 $\pm$ 1,5	22,2 $\pm$ 0,8	26,7 $\pm$ 1,7
13	28,9 $\pm$ 2,3	28,4 $\pm$ 2,8	24,4 $\pm$ 1,4	30,5 $\pm$ 2,8	30,5 $\pm$ 3,5	26,2 $\pm$ 1,8	25,6 $\pm$ 1,6	24,4 $\pm$ 1,4	22,6 $\pm$ 0,9	27,0 $\pm$ 0,0
14	28,6 $\pm$ 3,0	28,7 $\pm$ 4,0	24,8 $\pm$ 1,6	30,2 $\pm$ 3,7	30,5 $\pm$ 4,7	26,7 $\pm$ 2,6	26,0 $\pm$ 2,4	25,2 $\pm$ 2,2	23,2 $\pm$ 0,6	26,8 $\pm$ 2,0
16	26,5 $\pm$ 3,2	26,5 $\pm$ 3,0	22,3 $\pm$ 2,9	28,8 $\pm$ 3,1	28,9 $\pm$ 3,6	24,3 $\pm$ 3,0	23,5 $\pm$ 2,7	22,8 $\pm$ 2,4	20,7 $\pm$ 3,1	23,0 $\pm$ 6,6
18	26,5 $\pm$ 4,4	26,3 $\pm$ 4,5	22,4 $\pm$ 4,1	28,9 $\pm$ 4,6	28,6 $\pm$ 4,8	24,2 $\pm$ 4,1	23,3 $\pm$ 4,1	22,7 $\pm$ 3,5	20,5 $\pm$ 4,1	22,7 $\pm$ 5,8
20	25,0 $\pm$ 4,2	24,9 $\pm$ 4,6	21,8 $\pm$ 3,9	27,0 $\pm$ 4,8	26,9 $\pm$ 5,5	23,2 $\pm$ 4,0	22,7 $\pm$ 3,7	22,0 $\pm$ 3,7	20,4 $\pm$ 3,9	23,2 $\pm$ 3,0
22	25,4 $\pm$ 3,1	25,0 $\pm$ 3,5	21,7 $\pm$ 1,0	27,0 $\pm$ 4,1	26,7 $\pm$ 4,6	23,4 $\pm$ 1,8	23,2 $\pm$ 2,2	22,6 $\pm$ 1,8	20,6 $\pm$ 0,9	23,7 $\pm$ 2,6
24	28,4 $\pm$ 3,9	28,6 $\pm$ 4,7	23,5 $\pm$ 2,8	30,7 $\pm$ 4,7	31,0 $\pm$ 5,6	25,5 $\pm$ 3,6	25,1 $\pm$ 3,1	23,6 $\pm$ 2,4	21,8 $\pm$ 2,8	25,9 $\pm$ 1,6
26	28,5 $\pm$ 3,0	28,7 $\pm$ 3,1	23,3 $\pm$ 0,9	30,9 $\pm$ 3,5	31,4 $\pm$ 4,1	25,6 $\pm$ 1,5	25,1 $\pm$ 2,1	24,4 $\pm$ 1,6	21,6 $\pm$ 0,6	24,6 $\pm$ 3,2
28	29,8 $\pm$ 2,8	29,5 $\pm$ 3,5	24,6 $\pm$ 1,1	31,7 $\pm$ 3,8	31,9 $\pm$ 4,6	26,9 $\pm$ 2,0	26,4 $\pm$ 2,2	25,2 $\pm$ 1,8	23,0 $\pm$ 1,0	27,2 $\pm$ 1,2
35	26,7 $\pm$ 3,0	26,6 $\pm$ 3,7	22,7 $\pm$ 2,1	29,1 $\pm$ 4,2	28,4 $\pm$ 4,5	25,3 $\pm$ 3,7	23,8 $\pm$ 2,2	22,9 $\pm$ 2,0	21,0 $\pm$ 1,8	22,5 $\pm$ 1,6
42	29,6 $\pm$ 2,3	29,1 $\pm$ 3,0	24,8 $\pm$ 1,5	31,4 $\pm$ 3,8	31,2 $\pm$ 4,4	26,8 $\pm$ 2,5	26,2 $\pm$ 2,6	25,2 $\pm$ 2,4	22,5 $\pm$ 1,5	27,6 $\pm$ 0,7
49	19,0 $\pm$ 4,6	18,6 $\pm$ 4,0	17,2 $\pm$ 2,6	20,1 $\pm$ 5,1	19,9 $\pm$ 4,9	18,1 $\pm$ 3,0	17,7 $\pm$ 3,7	17,1 $\pm$ 2,9	16,2 $\pm$ 2,1	17,2 $\pm$ 4,6
56	25,9 $\pm$ 1,8	25,3 $\pm$ 2,7	22,3 $\pm$ 1,0	27,6 $\pm$ 2,7	27,1 $\pm$ 3,4	23,9 $\pm$ 1,5	23,7 $\pm$ 1,7	22,7 $\pm$ 1,6	20,9 $\pm$ 0,8	25,5 $\pm$ 2,4
63	29,4 $\pm$ 2,8	28,5 $\pm$ 2,8	24,7 $\pm$ 1,4	31,0 $\pm$ 3,4	30,8 $\pm$ 3,6	26,3 $\pm$ 2,0	26,6 $\pm$ 2,4	25,4 $\pm$ 1,9	22,9 $\pm$ 1,1	27,6 $\pm$ 1,8
70	26,6 $\pm$ 2,1	27,3 $\pm$ 3,4	23,3 $\pm$ 1,4	29,2 $\pm$ 3,2	29,6 $\pm$ 4,2	25,0 $\pm$ 2,2	24,3 $\pm$ 1,9	23,8 $\pm$ 2,3	21,7 $\pm$ 1,0	21,0 $\pm$ 0,2
77	30,9 $\pm$ 1,7	31,4 $\pm$ 2,1	25,8 $\pm$ 1,2	33,1 $\pm$ 2,0	34,1 $\pm$ 2,5	27,8 $\pm$ 1,5	27,7 $\pm$ 1,8	26,2 $\pm$ 1,6	23,5 $\pm$ 1,4	27,2 $\pm$ 0,3
84	27,5 $\pm$ 3,8	27,7 $\pm$ 4,8	23,3 $\pm$ 3,3	29,6 $\pm$ 4,4	30,0 $\pm$ 5,4	24,9 $\pm$ 3,8	24,6 $\pm$ 3,5	23,8 $\pm$ 3,9	21,6 $\pm$ 2,9	24,6 $\pm$ 2,4
91	28,3 $\pm$ 1,8	28,5 $\pm$ 2,3	24,6 $\pm$ 1,4	30,3 $\pm$ 2,3	30,7 $\pm$ 3,1	25,9 $\pm$ 1,5	25,9 $\pm$ 1,8	24,9 $\pm$ 1,7	22,8 $\pm$ 1,5	24,0 $\pm$ 1,6
98	28,5 $\pm$ 4,3	28,6 $\pm$ 5,2	25,7 $\pm$ 3,5	29,6 $\pm$ 4,8	30,2 $\pm$ 6,1	26,6 $\pm$ 3,7	26,5 $\pm$ 4,0	25,6 $\pm$ 3,9	24,2 $\pm$ 3,4	26,0 $\pm$ 2,6
105	30,1 $\pm$ 3,5	30,8 $\pm$ 3,3	26,6 $\pm$ 2,9	32,3 $\pm$ 2,8	33,2 $\pm$ 3,2	28,2 $\pm$ 2,8	27,6 $\pm$ 3,9	26,9 $\pm$ 3,2	24,8 $\pm$ 2,9	25,0 $\pm$ 5,3
112	30,9 $\pm$ 2,4	30,9 $\pm$ 2,8	26,2 $\pm$ 2,3	33,0 $\pm$ 2,6	33,4 $\pm$ 3,2	28,1 $\pm$ 2,3	27,9 $\pm$ 2,8	26,9 $\pm$ 2,7	24,2 $\pm$ 2,6	28,4 $\pm$ 2,2
119	29,9 $\pm$ 1,8	30,2 $\pm$ 2,0	26,1 $\pm$ 0,7	31,6 $\pm$ 2,4	32,2 $\pm$ 2,5	27,6 $\pm$ 1,2	27,4 $\pm$ 1,5	26,9 $\pm$ 1,1	24,6 $\pm$ 0,4	26,9 $\pm$ 0,4
126	29,1 $\pm$ 1,9	29,2 $\pm$ 2,6	25,6 $\pm$ 1,0	30,8 $\pm$ 2,8	30,9 $\pm$ 3,1	27,0 $\pm$ 1,5	26,9 $\pm$ 1,5	25,9 $\pm$ 1,3	24,1 $\pm$ 0,7	25,6 $\pm$ 0,4
133	33,0 $\pm$ 0,8	34,1 $\pm$ 0,6	30,2 $\pm$ 1,2	35,0 $\pm$ 0,6	36,0 $\pm$ 0,7	31,6 $\pm$ 1,0	30,9 $\pm$ 1,3	30,3 $\pm$ 1,4	28,3 $\pm$ 1,6	29,1 $\pm$ 0,5
CV	12,45	13,88	10,14	13,64	15,39	11,31	11,49	10,73	9,82	12,43

Dia 0 (controle): média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta.

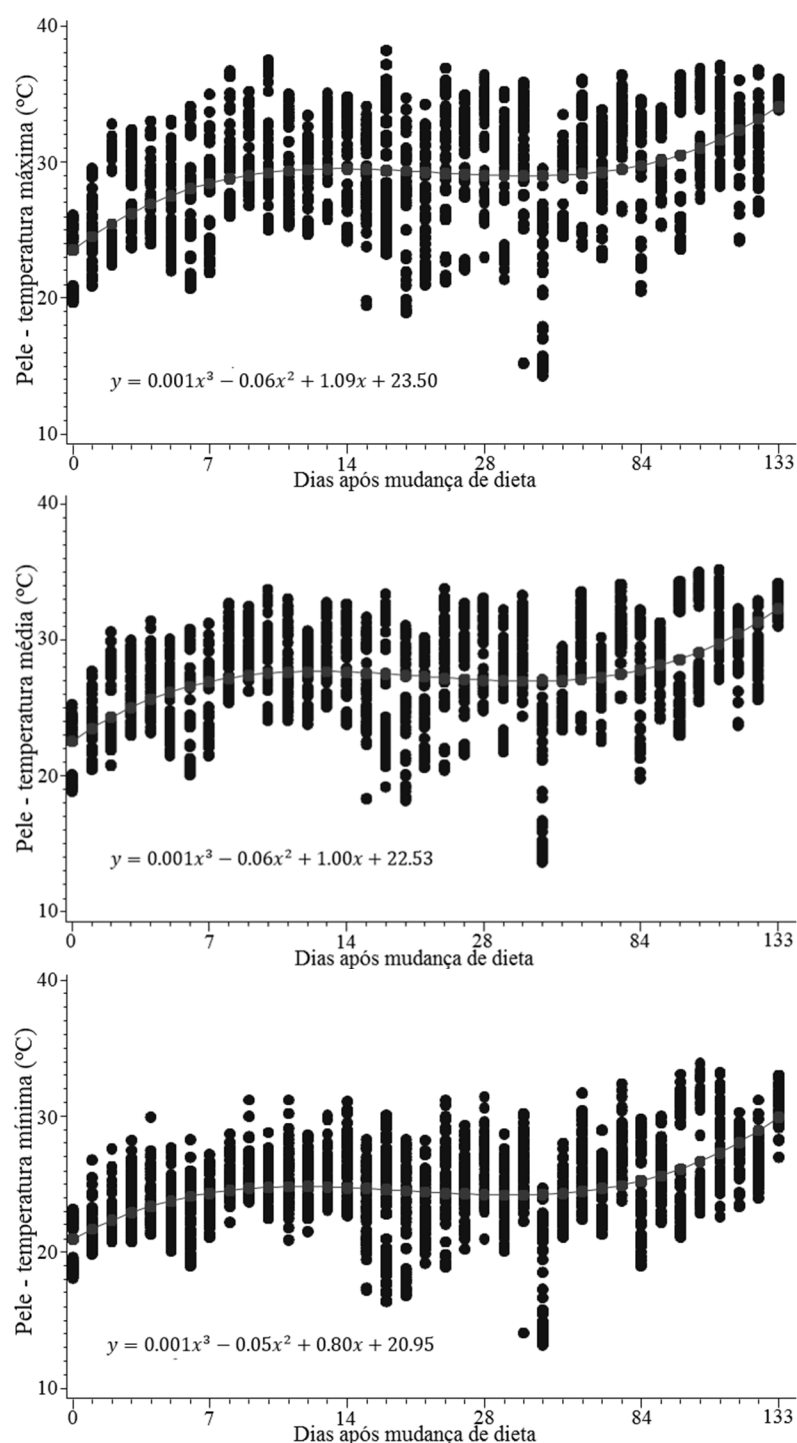


Figura 3. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e as temperaturas máxima, média e mínima da região de pele acima do casco de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas. Dia 0 (controle): média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta.

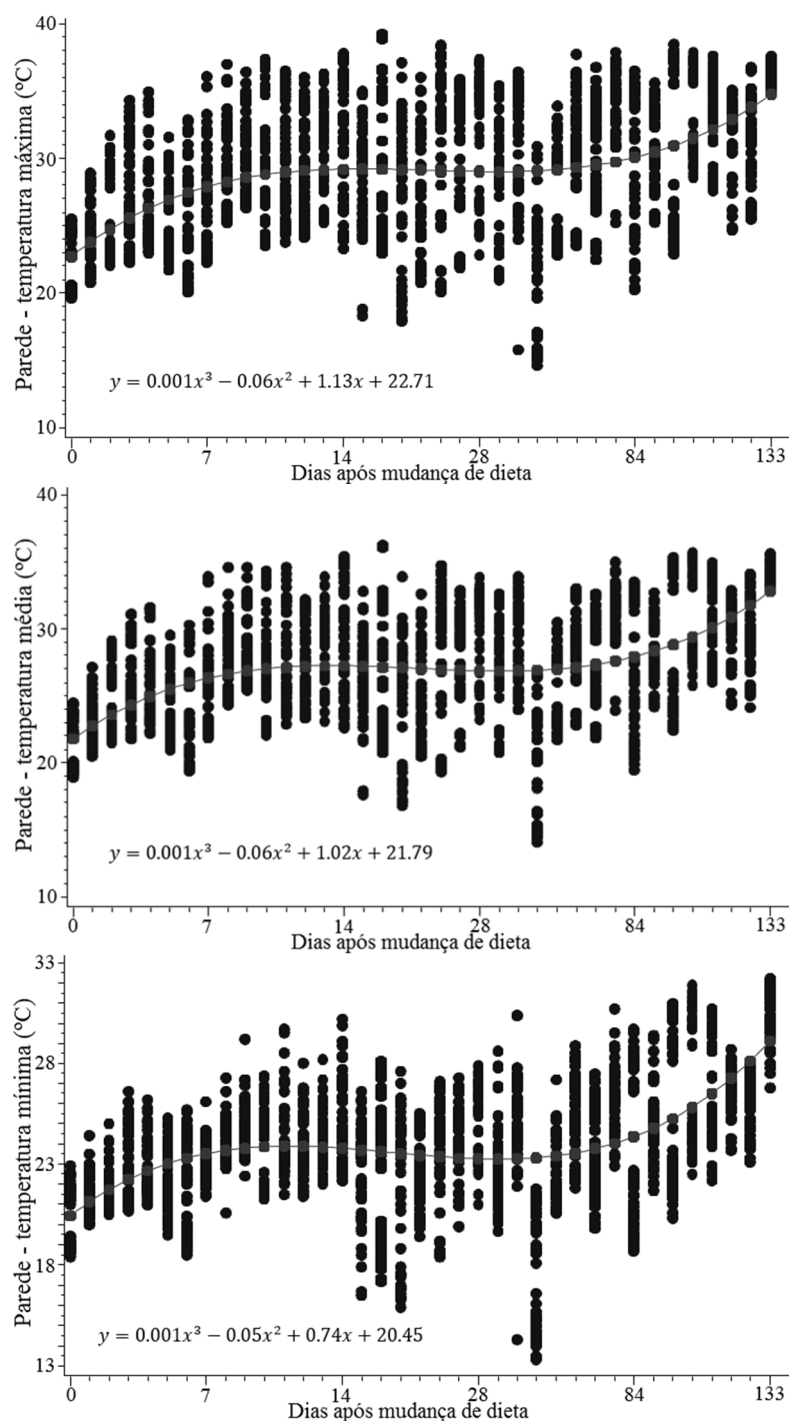


Figura 4. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e as temperaturas máxima, média e mínima da parede do casco de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas. Dia 0 (controle): média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta.

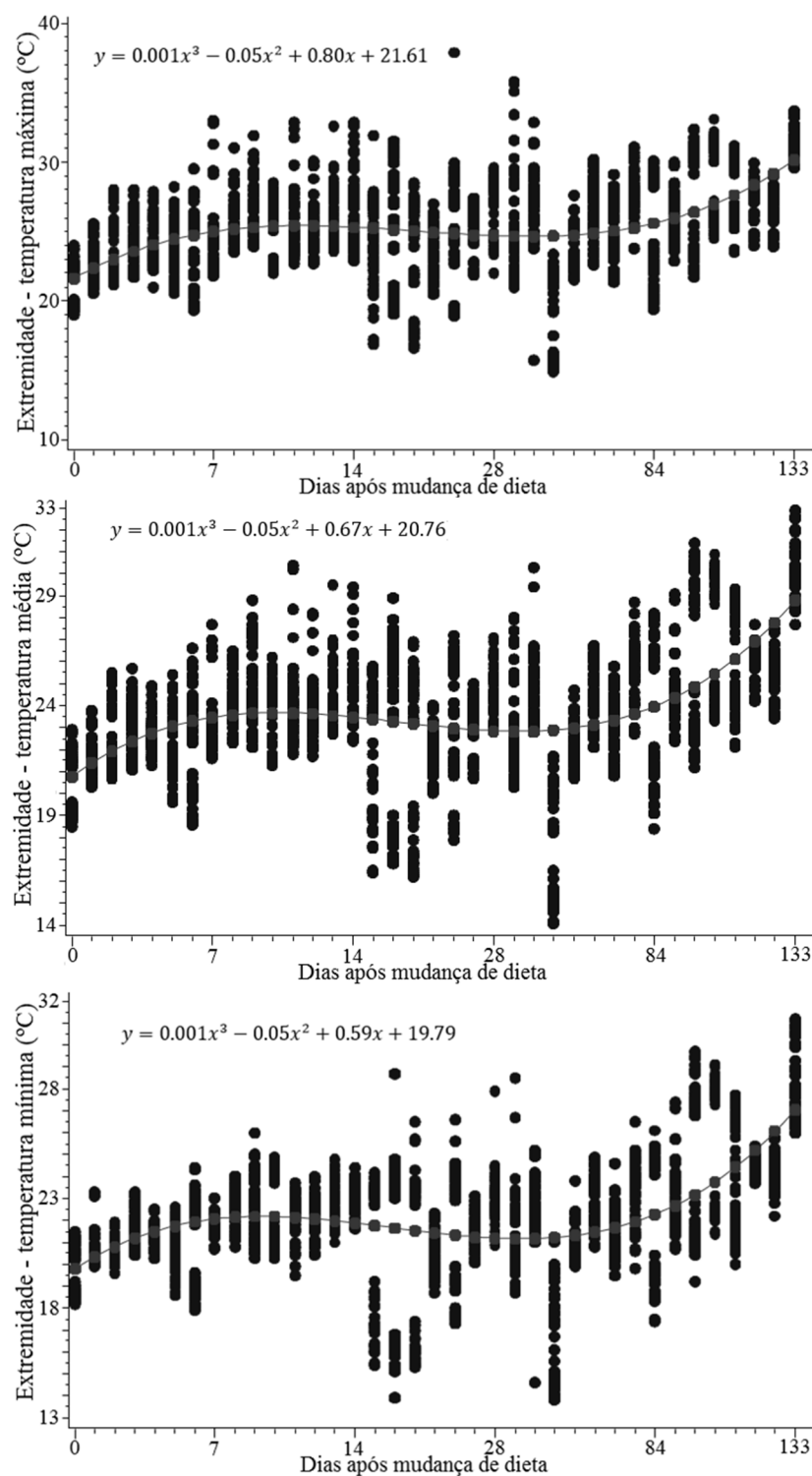


Figura 5. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e as temperaturas máxima, média e mínima da extremidade do casco de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas. Dia 0 (controle): média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta.

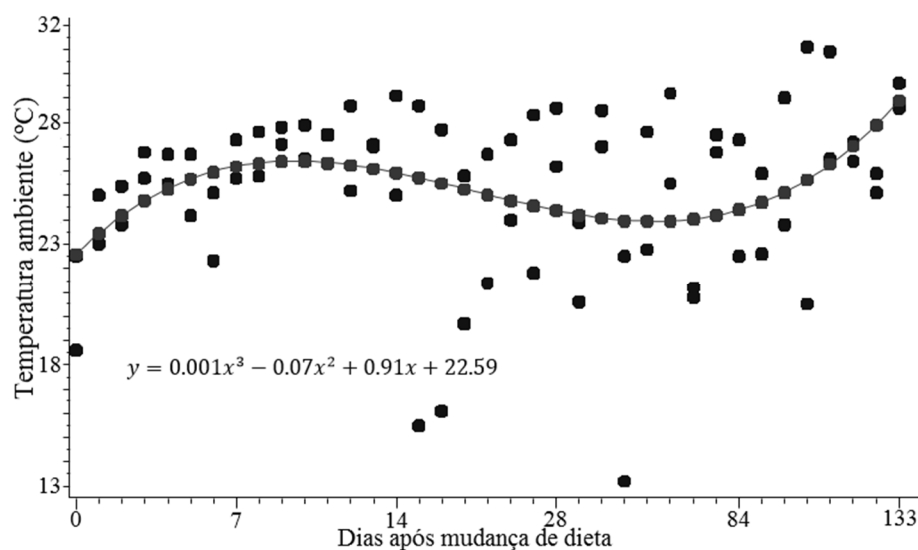


Figura 6. Representação da análise de regressão realizada entre o tempo e a temperatura ambiente durante as 19 semanas de observação. Dia 0 (controle): média das observações realizadas 15 dias, sete dias e imediatamente antes da mudança de dieta.

Tabela 2. Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre das temperaturas médias, máximas e mínimas da face cranial da pele, parede do casco e extremidade do casco de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas, obtidas por termografia infravermelha e a temperatura ambiente, mensurada por termômetro digital

	Parede Média	Extrem. Média	Pele Máxima	Parede Máxima	Extrem. Máxima	Pele Mínima	Parede Mínima	Extrem. Mínima	Tamb
Pele Média	0,96*	0,89*	0,97*	0,94*	0,93*	0,92*	0,90*	0,78*	0,70*
Parede Média		0,88*	0,96*	0,98*	0,94*	0,90*	0,90*	0,75*	0,59*
Extrem. Média			0,83*	0,81*	0,95*	0,89*	0,93*	0,95*	0,73*
Pele Máxima				0,97*	0,91*	0,87*	0,86*	0,71*	0,59*
Parede Máxima					0,90*	0,87*	0,86*	0,68*	0,53*
Extrem. Máxima						0,90*	0,92*	0,87*	0,68*
Pele Mínima							0,92*	0,85*	0,71*
Parede Mínima								0,88*	0,70*
Extrem. Mínima									0,74*

Extrem. – extremidade, Tamb – temperatura ambiente.

Coeficientes seguidos por asterisco são significantes ($P < 0,0001$).

Quando apenas um membro foi afetado pela laminite, sua identificação foi óbvia com o uso da termografia infravermelha pela diferença de temperatura entre o membro afetado e os demais, a qual pode ser percebida dias antes e depois da manifestação de sinais de dor (Figura 7). Porém, quando o aumento de temperatura afetou dois membros contralaterais ou todos os membros, tornou-se mais difícil caracterizar o processo inflamatório sem a manifestação de dor. Na Figura 8, percebe-se que grande maioria dos aumentos de temperatura indicativos de laminite não resultam em sinais clínicos, principalmente quando são acometidos todos os membros e, além disso, que a manifestação de dor muitas vezes ocorre quando a temperatura dos membros acometidos já havia sofrido diminuição.

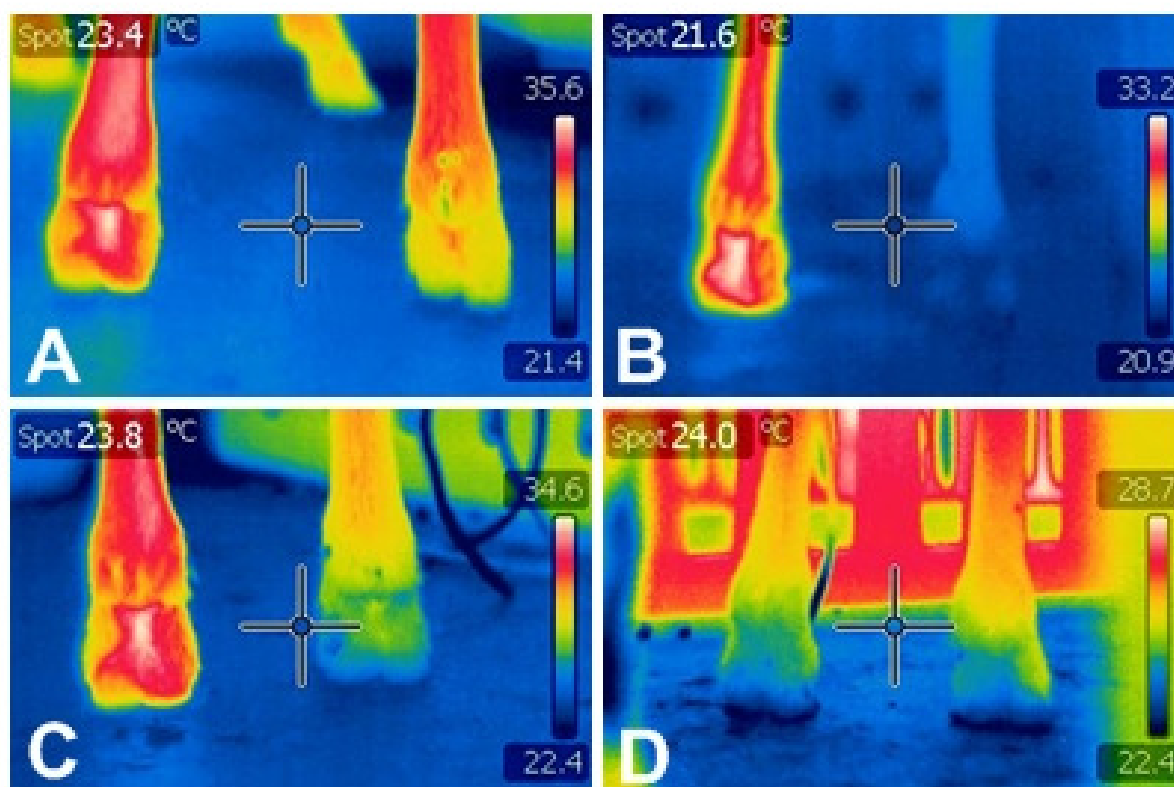


Figura 7. Temperatura (face caudal) dos membros torácicos de ovino (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas: 19º dia experimental, ainda sem manifestação de dor (A); 22º dia, com manifestação de dor no membro torácico esquerdo (B); 27º dia, já sem sinais de dor (C) e 32º dia, sem sinais de dor e sem aumento de temperatura (D).

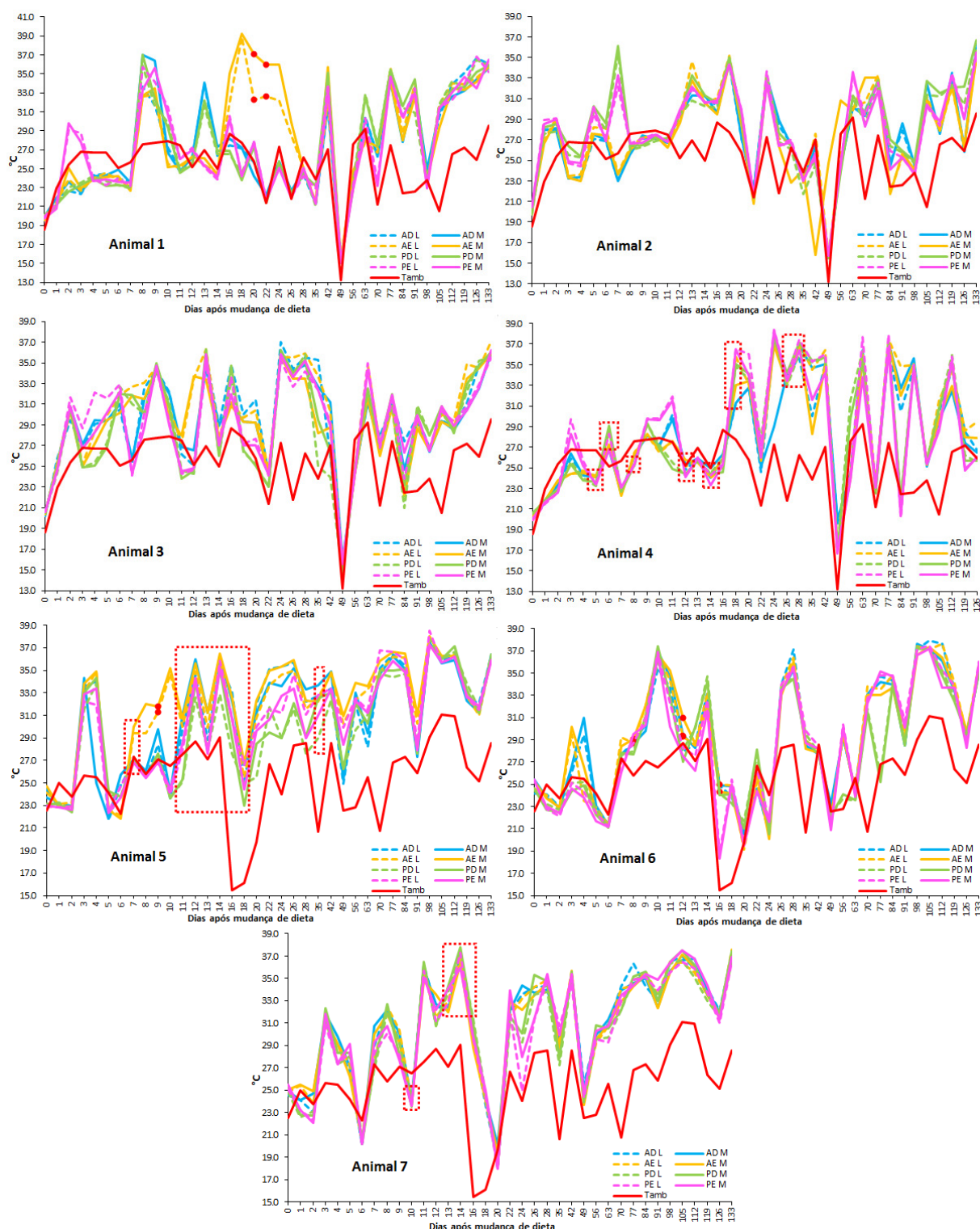


Figura 8. Temperaturas máximas das paredes dos cascos dos dígitos de ovinos (*Ovis aries*) Santa Inês recebendo dieta com alta proporção de alimento concentrado durante 19 semanas e temperatura ambiente (linha vermelha). Círculos vermelhos: manifestação de dor em apenas um membro. Retângulos vermelhos pontilhados: manifestação de dor em todos os membros. AD – membro anterior direito, AE – membro anterior esquerdo, PD – membro posterior direito, PE – membro posterior esquerdo, L – lateral, M – medial.

3.2 Radiologia digital

A comparação das imagens radiográficas dos dígitos, antes do início do período experimental e 19 semanas após a indução à acidose ruminal, estão representadas na Figura 9. As imagens radiográficas obtidas dos dígitos durante todo período de observação, inclusive nos dias em que os animais apresentaram sinais clínicos de dor podal, não revelaram alterações indicativas do desenvolvimento de laminite ou qualquer outro problema podal.



Figura 9. Radiografias podais dorso-palmares (A e B) e dorso-plantares (C e D) dos dígitos de ovino: dígitos torácicos antes da indução da acidose ruminal (A) e 19 semanas depois (B); dígitos pélvicos antes da indução da acidose ruminal (C) e 19 semanas depois (D). e – dígitos esquerdos; d – dígitos direitos.

4. Discussão

4.1 Termografia infravermelha

A temperatura máxima da parede do casco foi a menos influenciada pela temperatura ambiente e, portanto, foi a escolhida para a análise da variação da temperatura podal causada pela laminite. Como a região da pele apresenta cobertura considerável de pelos (MCCAFFERTY, 2007) e a extremidade do casco compõe-se praticamente de material córneo não vascularizado, era de se esperar que as temperaturas mensuradas nestas regiões sofressem maior influência da temperatura ambiente. Da mesma forma, as temperaturas mínimas apresentam forte correlação com a temperatura ambiente possivelmente por representar sujidades encontradas nas áreas avaliadas. Isto também torna as temperaturas médias mais influenciadas pela temperatura ambiental e, portanto, menos confiáveis para análise da laminite.

Outros autores relatam a influência da temperatura ambiente sobre a temperatura podal de ovinos (PICCIONE et al., 2013) e bovinos (GLOSTER et al., 2011; ALSAOD; BÜSCHER, 2012; STOKES et al., 2012; ALSAOD et al., 2014; PAMPARIENÉ et al., 2014; WOOD et al., 2014) pela TIV, provavelmente porque a vasoconstrição nas patas é um mecanismo poderoso de conservação de calor (PICCIONE et al., 2013). A TIV poderia fornecer um limiar de temperatura muito útil acima do qual a temperatura podal desencadeia uma suspeita de inflamação, porém, dada a variação na temperatura dos cascos de animais normais sob várias condições ambientais, um único limiar seria, na melhor das hipóteses, um indicador modesto (GLOSTER et al., 2011). Na Medicina, a termografia é geralmente realizada quando as condições ambientais estão sob controle, o que é geralmente impossível de atingir na Medicina Veterinária (ÇETİNKAYA; DEMİRUTKU, 2012). A avaliação da temperatura podal pela TIV deve ser realizada sob várias condições ambientais para uma melhor validação desta tecnologia (RAINWATER-LOVETT et al., 2009; PAIM et al., 2014; TALUKDER; GABAI; CELI, 2015) e pesquisas futuras também deveriam focar na diferenciação dos padrões de temperatura de doenças específicas (RAINWATER-LOVETT et al., 2009). Wood et al. (2014) estabeleceram equações para definir a variação da temperatura podal de vacas com ou sem lesões em

diferentes temperaturas ambientes, o que ajudaria na acurácia do exame, permitiria a comparação entre rebanhos e monitoramento durante o tempo. Modelos similares seriam úteis se estabelecidos para ovinos e sob as condições ambientais locais. É importante ter padrões e gradientes térmicos normais bem documentados em todas as espécies antes de se realizar a detecção de condições patológicas (PUROHIT; TURNER; PASCOE, 2007).

Não foram observados efeitos do dígito ou do membro sobre as temperaturas das regiões analisadas. Ao contrário, Nikkhah et al. (2005) observaram, em vacas, que a diferença entre a temperatura da banda coronária e a pele foi maior para as unhas laterais do que para as mediais e Rodrigues (2013) relatou maior temperatura nos dígitos mediais dos membros torácicos, nos laterais dos membros pélvicos e membros pélvicos mais quentes que os torácicos. Geralmente, como o descrito neste estudo, as espécies estudadas tem proporcionado padrões bilaterais simétricos notáveis de emissão infravermelha, fornecendo um recurso valioso no diagnóstico de problemas unilaterais (PUROHIT; TURNER; PASCOE, 2007). Assim, a identificação de laminite pela TIV, quando esta não ocorreu em todos os membros simultaneamente, foi relativamente fácil, com aumentos de temperatura da parede do casco dias antes e depois da manifestação de sinais comportamentais de dor, semelhante ao descrito para equinos com laminite (TURNER, 1991).

Porém, quando o aumento de temperatura afeta dois membros contralaterais ou todos os membros, torna-se mais difícil caracterizar o processo inflamatório sem a manifestação de dor. Quando isto ocorre em equinos, recomenda-se a mensuração da temperatura entre os bulbos do talão de membros contralaterais, onde uma diferença de mais de 1°C entre as patas é significativa (TURNER, 1991) ou, em qualquer espécie para a qual exista padrões térmicos normais estabelecidos para determinada área do corpo, problemas bilaterais podem ser diagnosticados por mudanças no gradiente térmico (PUROHIT; TURNER; PASCOE, 2007).

A grande maioria dos aumentos de temperatura indicativos de laminite não resultaram em sinais clínicos da doença, principalmente quando foram acometidos todos os membros e, além disso, a manifestação de dor muitas vezes ocorreu quando a temperatura dos membros acometidos já sofreu diminuição. A percepção de dor pode mostrar diferenças entre espécies e indivíduos e alta porcentagem de dor podal

em um rebanho ovino pode, comumente, não ser reconhecida (ROGER, 2008). A dor em animais é uma experiência complexa, dependente não só da severidade do insulto às vias dolorosas e o grau de danos teciduais ou nervosos, mas também de experiências dolorosas prévias e da posição social dentro do rebanho (FITZPATRICK; SCOTT; NOLAN, 2006). Os animais de produção, principalmente os pequenos ruminantes, são criaturas estóicas, que demonstram pouco ou nenhum sinal de dor ou estresse, tornando a ausência de manifestações comportamentais de sofrimento pouco confiável para se estabelecer diagnósticos. A avaliação de dor ou estresse associados à claudicação em ovinos pode ser bastante difícil pois, como são animais predados, é desvantajoso mostrar sinais de dor que poderiam torná-los alvos de predadores (FITZPATRICK; SCOTT; NOLAN, 2006; LEHUGEUR, 2012). Neste contexto, a TIV mostrou-se de extrema importância para a detecção de laminite em ovinos os quais, neste estudo, demonstraram poucas vezes ou, no caso de alguns animais, nunca apresentaram sinais comportamentais deste problema, apesar de aumentos óbvios na diferença entre a temperatura máxima da parede do casco e a temperatura ambiente, quando comparados aos momentos controle.

Aumento de temperatura podal à TIV já foi descrito em afecções de ovinos (LEHUGEUR, 2012; TALUKDER; GABAI; CELI, 2015) e bovinos (NIKKHAH et al., 2005; RAINWATER-LOVETT et al., 2009; ALSAOD; BÜSCHER, 2012; STOKES et al., 2012; RODRIGUES, 2013; ALSAOD et al., 2014; PAMPARIENÉ et al., 2014; WOOD et al., 2014). Destes, a maioria considerou a TIV uma tecnologia promissora no diagnóstico precoce de enfermidades podais de ruminantes (RAINWATER-LOVETT et al., 2009; ALSAOD; BÜSCHER, 2012; STOKES et al., 2012; RODRIGUES, 2013; ALSAOD et al., 2014; WOOD et al., 2014), porém pesquisas adicionais para melhor estabelecimento desta técnica e de limiares de temperatura para doenças específicas seriam necessárias (RAINWATER-LOVETT et al., 2009; STOKES et al., 2012; NIKKHAH et al., 2005; TALUKDER; GABAI; CELI, 2015). Apesar de detectar aumento da temperatura em casos de afecções podais, a TIV não é capaz de determinar a causa do problema (EDDY; VAN HOOOGMOED; SNYDER, 2001; LEHUGEUR, 2012; STOKES et al., 2012; NIKKHAH, 2015). Portanto, o uso conjunto da TIV com outros métodos de diagnóstico é necessário (EDDY; VAN HOOOGMOED;

SNYDER, 2001; ÇETİNKAYA; DEMİRUTKU, 2012; ALSAOD; BÜSCHER, 2012; NIKKHAH, 2015).

Nota-se também a importância de estudos investigando a progressão e regressão de lesões podais (EDDY; VAN HOOOGMOED; SNYDER, 2001; STOKES et al., 2012; TALUKDER; GABAI; CELI, 2015), assim como a presente pesquisa. No estudo de Stokes et al. (2012), a detecção de aumento de temperatura podal em vacas sem a identificação direta de lesões ocorre pelo desenvolvimento de lesões ainda não visíveis e isto explicaria o grau mais alto de variação na temperatura das patas aparentemente sadias comparadas às com lesões visíveis. Wood et al. (2014), ao acompanharem vacas quinzenalmente por seis meses, observaram maior temperatura podal no momento de identificação da lesão, diminuindo até atingir a médias mais baixas seis semanas após o tratamento por casqueamento corretivo, associada com a redução da inflamação e correção da lesão. Esta temperatura também foi mais baixa do que seis semanas antes do diagnóstico da lesão, sugerindo que a inflamação já estava presente antes dos sinais comportamentais de dor podal serem observados. Em bovinos leiteiros, foi recomendado o monitoramento permanente em longo prazo de afecções podais com a TIV, pela facilidade de sua execução (PAMPARIENÉ et al., 2014).

A laminite subclínica, observada neste estudo, já foi diagnosticada em vacas utilizando-se a TIV (RODRIGUES, 2013). Possivelmente, a ausência de lesões mais severas causadas pela laminite nos animais estudados tenha ocorrido porque outros fatores de risco como doenças infecciosas, chão com superfície muito abrasiva, cama insuficiente, exercício deficiente ou em excesso (NOCEK, 1997; JACKSON; COCKCROFT, 2002) tenham sido evitados.

A limpeza prévia da área analisada, por aumentar a confiabilidade na detecção correta de lesões podais (STOKES et al., 2012), foi importante para um diagnóstico mais preciso do aumento da temperatura podal nesta pesquisa. Porém, sabe-se que as condições de campo podem dificultar o diagnóstico pois os animais podem apresentar as patas molhadas, cobertas pela forragem, enlameadas ou com fezes. Assim, estas variáveis precisam ser estudadas em maiores detalhes antes que a TIV possa ser usada com confiança a campo (GLOSTER et al., 2011), permitindo o

desenvolvimento de um método de detecção rápido e com mínimo distúrbio à rotina diária da propriedade e ao animal (STOKES et al., 2012).

4.2 Radiologia digital

As características radiográficas da região podal dos ovinos analisados assemelham-se às descritas por JIMENEZ (2009) e DUNCAN et al. (2013) para a espécie.

Não foram encontrados, na literatura consultada, estudos radiográficos sobre a laminite em ovinos e, em bovinos, os relatos são escassos (GREENOUGH et al., 1990; GANTKE; NUSS; KÖSTLIN, 1998; NGUHIU-MWANGI et al., 2007). Mesmo em equinos, as alterações ósseas na falange distal são pobremente descritas na laminite (ENGILES et al., 2015), apesar de que sua integridade deveria ser avaliada quanto a mudanças proliferativas ou erosivas, densidade relativa, porosidade ou fraturas patológicas, pois muitos destes achados e suas evoluções tem valor prognóstico significativo (HUNT; WHARTON, 2010).

Como lesões radiográficas associadas à laminite em bovinos, Greenough et al. (1990) relataram a osteopatia do ápice e rotação da falange distal; Gantke, Nuss e Köstlin (1998), à visão dorsopalmar/plantar, observaram irregularidade grosseira da margem solear e radioluscência da ponta do osso podal; e Nguhiu-Mwangi et al. (2007) relataram canais vasculares do osso podal dilatados ou proeminentes na laminite subclínica e crônica e margens irregulares, exostose, estreitamento, rotação, ausência de ápice, afundamento, fratura, periostite e osteólise na terceira falange na laminite crônica, alterações mais severas quando deformidades extremas dos cascos também estavam presentes. Nenhum destes achados foi observado no presente estudo. A ausência de alterações indicativas do desenvolvimento de laminite ao exame radiológico pode ter ocorrido porque os episódios não foram suficientemente intensos e/ou prolongados para causar reações visíveis à radiografia digital, apesar da excelente qualidade das imagens obtidas.

Pode-se afirmar que, além da ausência de alterações ósseas, não houve alterações em tecidos moles, pois, embora radiografias não sejam ideais para esta avaliação, informações sobre estes tecidos podem ser obtidas usando a radiografia

digital (SHERLOCK; PARKS, 2013). Como exemplo, Angell et al. (2015) observaram alterações nos tecidos moles da região podal de ovinos com dermatite digital contagiosa.

A ausência de alterações radiográficas de laminite não exclui a ocorrência aguda ou subclínica da mesma, pois tais indicadores são predominantemente observados na laminite crônica (GREENOUGH et al., 1990; GANTKE; NUSS; KÖSTLIN, 1998; NGUHIU-MWANGI et al., 2007; ENGILES et al., 2015) e, em equinos, apesar da presença de lesões laminares e da falange distal na laminite aguda moderada ou subclínica por outros métodos de diagnóstico, não foram observadas alterações radiográficas, sugerindo que a injúria laminar moderada possa ocorrer com manutenção da integridade estrutural geral do aparato suspensório da falange distal (ENGILES et al., 2015).

5. Conclusão

A termografia infravermelha apresentou grande potencial para o diagnóstico precoce da laminite em ovinos, detectando aumentos na temperatura máxima da parede do casco mesmo sem a manifestação de sinais comportamentais de dor. A radiologia digital, por sua vez, não permitiu a identificação de alterações podais decorrentes de laminite durante o período de avaliação.

6. Referências

- AGUIAR, G. M. N.; RIET-CORREA, F.; SILVA, T. R.; ASSIS, A. C. O.; MEDEIROS, J. M. A.; SIMÕES, S. V. D. Caracterização das lesões podais em caprinos e ovinos. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 18, n. 4, supl. 3, p. 302-305, 2011.
- ALSAAOD, M.; BÜSCHER, W. Detection of hoof lesions using digital infrared thermography in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 2, p. 735-742, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-4762>>.
- ALSAAOD, M.; SYRING, C.; DIETRICH, J.; DOHERR, M. G.; GUJAN, T.; STEINER, A. A field trial of infrared thermography as a non-invasive diagnostic tool for early detection of digital dermatitis in dairy cows. **The Veterinary Journal**, London, v. 199, n. 2, p. 281–285, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.11.028>>.

ANGELL, J. W.; BLUNDELL, R.; GROVE-WHITE, D. H.; DUNCAN, J. S. Clinical and radiographic features of contagious ovine digital dermatitis and a novel lesion grading system. **Veterinary Record**, London, v. 176, n. 21, p. 544, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1136/vr.102978>>.

BROSSARD, L.; MARTIN, C.; MICHALET-DOREAU, B. Ruminal fermentative parameters and blood acid-basic balance changes during the onset and recovery of induced latent acidosis in sheep. **Animal Research**, Les Ulis, v. 52, p. 513-530, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1051/animres:2003036>>.

CAPRARO, G. A.; COUGHLIN, B. F.; MADER, T. J.; SMITHLINE, H. A. Testicular cooling associated with testicular torsion and its detection by infrared thermography: an experimental study in sheep. **Journal of Urology**, Linthicum, v. 180, n. 6, p. 2688-2693, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2008.08.004>>.

CASTRO-COSTA, A.; CAJA, G.; SALAMA, A. A. K.; ROVAI, M.; FLORES, C.; AGUILÓ, J. Thermographic variation of the udder of dairy ewes in early lactation and following an *Escherichia coli* endotoxin intramammary challenge in late lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 3, p. 1377-1387, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-6978>>.

ÇETİNKAYA, M. A.; DEMİRUTKU, A. Thermography in the assessment of equine lameness. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, Ankara, v. 36, n. 1, p. 43-48, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3906/vet-1102-791>>.

D'ALTERIO, G.; CASELLA, S.; GATTO, M.; GIANESELLA, M.; PICCIONE, G.; MORGANTE, M. Circadian rhythm of foot temperature assessed using infrared thermography in sheep. **Czech Journal of Animal Science**, Prague, v. 56, n. 7, p. 293-300, 2011.

DE DIEGO, A. C. P.; SÁNCHEZ-CORDÓN, P. J.; PEDRERA, M.; MARTÍNEZ-LÓPEZ, B.; GÓMEZ-VILLAMANDOS, J. C.; SÁNCHEZ-VIZCAÍNO, J. M. The use of infrared thermography as a non-invasive method for fever detection in sheep infected with bluetongue virus. **The Veterinary Journal**, London, v. 198, n. 1, p. 182-186, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.07.013>>.

DUNCAN, J. S.; SINGER, E. R.; DEVANEY, J.; OULTRAM, J. W. H.; WALBY, A. J.; LESTER, B. R.; WILLIAMS, H. J. The radiographic anatomy of the normal ovine digit, the metacarpophalangeal and metatarsophalangeal joints. **Veterinary Research Communications**, Amsterdam, v. 37, n. 1, p. 51-57, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11259-012-9546-6>>.

EDDY, A. L.; VAN HOOOGMOED, L. M.; SNYDER, J. R. The role of thermography in the management of equine lameness. **The Veterinary Journal**, London, v. 162, n. 3, p. 172-181, 2001. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1053/tvjl.2001.0618>>.

ENEMARK, J. M. D.; JØRGENSEN, R. J.; ENEMARK, P. S. Rumen acidosis with special emphasis on diagnostic aspects of subclinical rumen acidosis: a review. **Veterinarija ir Zootechnika**, Kaunas, v. 20, n. 42, p. 16-29, 2002.

ENGILES, J. B.; GALANTINO-HOMER, H. L.; BOSTON, R.; MCDONALD, D.; DISHOWITZ, M.; HANKENSON, K. D. Osteopathology in the equine distal phalanx associated with the development and progression of laminitis. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 52, n. 5, p. 928-944, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1177/0300985815588604>>.

EZE, C. A. Lameness and reproductive performance in small ruminant in Nsukka area of the Enugu State, Nigeria. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 44, n. 3, p. 263-267, 2002. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488\(02\)00030-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488(02)00030-5)>.

FEITOSA, F. L. F. Exame físico geral ou de rotina. In: FEITOSA, F. L. F. (Ed.). **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008. cap. 4, p. 77-102.

FITZPATRICK, J.; SCOTT, M.; NOLAN, A. Assessment of pain and welfare in sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 62, n. 1-2, p. 55-61, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.07.028>>.

GANTKE, S.; NUSS, K.; KÖSTLIN, R. Radiologic findings in bovine laminitis. **Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere**, Stuttgart, v. 26, n.5, p. 239-246, 1998.

GLOSTER, J.; EBERT, K.; GUBBINS, S.; BASHIRUDDIN, J.; PATON, D. J. Normal variation in thermal radiated temperature in cattle: implications for foot-and-mouth disease. **BMC Veterinary Research**, London, v. 7, p. 73, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/1746-6148-7-73>>.

GREENOUGH, P. R.; VERMUNT, J. J.; MCKINNON, J. J.; FATHY, F. A.; BERG, P. A.; COHEN, R. D. H. Laminitis-like changes in the claws of feedlot cattle. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 31, n. 3, p. 202-208, 1990.

HILL, N. P.; MURPHY, P. E.; NELSON, A. J.; MOUTTOTOU, N.; GREEN, L. E.; MORGAN, K. L. Lameness and foot lesions in adult British dairy goats. **Veterinary Record**, London, v. 141, n. 16, p. 412-416, 1997.

HUNT, R. J.; WHARTON, R. E. Clinical presentation diagnosis, and prognosis of chronic laminitis in North America. **The Veterinary clinics of North America. Equine practice**, Philadelphia, v. 26, n. 1, p. 141-153, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cveq.2009.12.006>>.

JACKSON, P. G. G.; COCKCROFT, P. D. **Clinical examination of farm animals**. Malden: Blackwell Science, 2002. 313 p.

JIMENEZ, K. A. **Aspectos morfológicos e biométricos da mão e densitométricos do metacarpo de ovinos da raça santa inês**. 2009. 41 f. Dissertação (Mestre em Cirurgia Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2009.

KLEEN, J. L.; HOOIJER, G. A.; REHAGE, J.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M. Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, Berlin, v. 50, n. 8, p. 406-414, 2003.

KNÍŽKOVÁ, I.; MALA, G.; KUNC, P.; KNIZEK, J.; 2005. Resistance of early postnatal lambs from four genetic types to cold environment and rain. In: INTERNATIONAL SOCIETY FOR ANIMAL HYGIENE, 12., 2005, Warsaw. **Proceedings...** Warsaw: Bel Studio, 2005. p. 271-273.

KNÍŽKOVÁ, I.; KUNC, P.; GÜRDİL, G. A. K.; PINAR, Y.; SELVİ, K. Ç. Applications of infrared thermography in animal production. **Journal of the Faculty of Agriculture**, Samsun, v. 22, n. 3, p. 329-336, 2007.

KOFLER, J.; GEISSBÜHLER, U.; STEINER, A. Diagnostic imaging in bovine orthopedics. **The Veterinary clinics of North America. Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 30, n. 1, p. 11-53, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2013.11.003>>.

LAHIRI, B. B.; BAGAVATHIAPPAN, S.; JAYAKUMAR, T.; PHILIP, J. Medical applications of infrared thermography: a review. **Infrared Physics & Technology**, Exeter, v. 55, n. 4, p. 221-235, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.infrared.2012.03.007>>.

LEHUGEUR, C. M. **Bem-estar em ovinos no Rio Grande do Sul: termografia na avaliação da podridão dos cascos e estresse por calor**. 2012. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

LEY, S. J.; LIVINGSTON, A.; WATERMAN, A. E. The effect of chronic clinical pain on thermal and mechanical thresholds in sheep. **Pain**, Amsterdam, v. 39, n. 3, p. 353-357, 1989.

MARIE KRAUSE, K.; OETZEL, G. R. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: a review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 126, n. 3-4, p. 215-236, 2006.

MARTINS, R. F. S.; PAIM, T. P.; CARDOSO, C. A.; DALLAGO, B. S. L.; MELO, C. B.; LOUVANDINI, H.; McMANUS, C. Mastitis detection in sheep by infrared thermography. **Research in Veterinary Science**, London, v. 94, n. 3, p. 722-724, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.10.021>>.

MCCAFFERTY, D. J. The value of infrared thermography for research on mammals: previous applications and future directions. **Mammal Review**, Oxford, v. 37, n. 3, p. 207-223, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2907.2007.00111.x>>.

MCKNIGHT, A. L. Digital radiography in equine practice. **Clinical Techniques in Equine Practice**, London, v. 3, n. 4, p. 352-360, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1053/j.ctep.2005.02.013>>.

NETO, C. R.; RODELLO, L.; BICUDO, S. D. Termografia escrotal em ovinos pré-púberes submetidos a estresse térmico. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 18, n. 4, supl. 3, p. 1017-1019, 2011.

NGUHIU-MWANGI, J.; MBITHI, P. M. F.; WABACHA, J. K.; MBUTHIA, P. G. Radiographic features of laminitic claws of dairy cows around Nairobi. **The Kenya Veterinarian**, Nairobi, v. 31, n. 2, p. 72-78, 2007.

NIKKHAH, A. Infrared thermography as a prognostic livestock agrotechnology: a critique. **Agrotechnology**, Zanjan, v. 4, n. 1, e112, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4172/2168-9881.1000e112>>.

NIKKHAH, A.; PLAIZIER, J. C.; EINARSON, M. S.; BERRY, R. J.; SCOTT, S. L.; KENNEDY, A. D. Infrared thermography and visual examination of hooves of dairy cows in two stages of lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 8, p. 2749-2753, 2005.

NOCEK, J. E. Bovine Acidosis: Implications on Laminitis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 5, p. 1005-1028, 1997.

NOGUEIRA, F. R. B.; SOUZA, B. B.; DE CARVALHO, M. G. X.; GARINO JUNIOR, F.; MARQUES, A. V. M. S.; LEITE, R. F. Termografia infravermelha: uma ferramenta para auxiliar no diagnóstico e prognóstico de mastite em ovelha. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 3, p. 289-297, 2013.

NORDLUND, K. V.; GARRETT, E. F.; OETZEL, G. R. Herd-based rumenocentesis: a clinical approach to the diagnosis of subacute rumen acidosis. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, Yardley, v. 17, p. S48-S56, 1995.

OSSENT, P.; LISCHER, C. Post mortem examination of the hooves of cattle, horses, pigs and small ruminants under practice conditions. **In Practice**, London, v. 19, p. 21-29, 1997. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1136/inpract.19.1.21>>.

PAIM, T. P.; MARTINS, R. F. S.; CARDOSO, C.; DALLAGO, B.; LOUVANDINI, H.; MCMANUS, C. Thermal comfort index and infrared temperatures for lambs subjected to different environmental conditions. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 71, n. 5, p. 345-355, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0103-9016-2013-0191>>.

PAMPARIENĖ, I.; ŽYMIANTIENĖ, J.; OBERAUSKAS, V.; ŽELVYTĖ, R.; JUOZAITIENĖ, V.; NOREIKA, A.; SEDEREVIČIUS, A.; VEIKUTIS, V. Determination of cows' hooves health applying thermography. **Veterinarija ir Zootechnika**, Kaunas, v. 68, n. 90, p. 60-68, 2014.

PICCIONE, G.; GIANESELLA, M.; MORGANTE, M.; REFINETTI, R. Daily rhythmicity of core and surface temperatures of sheep kept under thermoneutrality or in the cold. **Research in Veterinary Science**, London, v. 95, n. 1, p. 261-265, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.03.005>>.

PUROHIT, R. C.; TURNER, T. A.; PASCOE, D. D. Use of Infrared Imaging in Veterinary Medicine. In: DIAKIDES, N. A.; BRONZINO, J. D. **Medical Infrared Imaging**. Boca Raton: CRC Press, 2007. p. 21/1-21/8. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1201/9781420008340.ch21>>.

RAINWATER-LOVETT, K.; PACHECO, J. M.; PACKER, C.; RODRIGUEZ, L. L. Detection of foot-and-mouth disease virus infected cattle using infrared thermography. **The Veterinary Journal**, London, v. 180, n. 3, p. 317–324, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.01.003>>.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MENDEZ, M. C.; LEMOS, R. A. A. **Doenças de ruminantes e eqüinos**. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 574 p.

RODRIGUES, M. **Avaliação das características do líquido ruminal associada à termografia digital e atividade pedométrica em vacas holandesas**. 2013. 22 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2013.

ROGER, P. A. The impact of disease and disease prevention on sheep welfare. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 76, n. 1-2, p. 104–111, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2007.12.005>>.

SHERLOCK, C.; PARKS, A. Radiographic and radiological assessment of laminitis. **Equine Veterinary Education**, Newmarket, v. 25, n. 10, p. 524-535, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/eve.12065>>.

SOBRINHO, A. G. S.; BATISTA, A. M. V.; SIQUEIRA, E. R.; ORTOLANI, E. L.; SUSIN, I.; SILVA, J. F. C.; TEIXEIRA, J. C.; BORBA, M. F. S. **Nutrição de ovinos**. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 258 p.

STELLETTA, C.; MURGIA, L.; CARIA, M.; GIANESELLA, M.; PAZZONA, A.; MORGANTE, M. Thermographic study of the ovine mammary gland during different working vacuum levels. **Italian Journal of Animal Science**, Pavia, v. 6, supl. 1, p. 600, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4081/ijas.2007.1720>>.

STEWART, M.; WEBSTER, J. R.; SCHAEFER, A. L.; COOK, N. J.; SCOTT, S. L. Infrared thermography as a non-invasive tool to study animal welfare. **Animal Welfare**, Saint Albans, v. 14, n. 4, p. 319-325, 2005.

STOKES, J. E.; LEACH, K. A.; MAIN, D. C. J.; WHAY, H. R. An investigation into the use of infrared thermography (IRT) as a rapid diagnostic tool for foot lesions in dairy cattle. **The Veterinary Journal**, London, v. 193, n.3, p. 674–678, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.06.052>>.

STUBSJØEN, S. M.; FLØ, A. S.; MOE, R. O.; JANCZAK, A. M.; SKJERVE, E.; VALLE, P. S.; ZANELLA, A. J. Exploring non-invasive methods to assess pain in sheep. **Physiology & Behavior**, Oxford, v. 98, n. 5, p. 640-648, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.09.019>>.

TALUKDER, S.; GABAI, G.; CELI, P. The use of digital infrared thermography and measurement of oxidative stress biomarkers as tools to diagnose foot lesions in sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 127, p. 80-85, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.04.006>>.

TURNER, T. A. Diagnostic thermography. **The Veterinary Clinics of North America, Equine Practice**, Philadelphia, v. 17, n. 1, p. 95-113, 2001.

TURNER, T. A. Thermography as an aid to the clinical lameness evaluation. **The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice**, Philadelphia, v. 7, n. 2, p. 311-338, 1991.

TURNER, T. A. Use of Thermography in Lameness Evaluation. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 44., 1998, Baltimore. **Proceedings...** Lexington: American Association of Equine Practitioners, 1998. p. 224-226.

UFFMANN, M.; SCHAEFER-PROKOP, C. Digital radiography: the balance between image quality and required radiation dose. **European Journal of Radiology**, Limerick, v. 72, n. 2, p. 202-208, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejrad.2009.05.060>>.

WINTER, A. Lameness in sheep 1. Diagnosis. **In Practice**, London, v. 26, p. 58-63, 2004a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1136/inpract.26.2.58>>.

WINTER, A. Lameness in sheep 2. Treatment and control. **In Practice**, London, v. 26, p. 130-139, 2004b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1136/inpract.26.3.130>>.

WOOD, S.; LIN, Y.; KNOWLES, T. G.; MAIN, D. C. J. Infrared thermography for lesion monitoring in cattle lameness. **Veterinary Record**, London, v. 176, n. 12, 308, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1136/vr.102571>>.

ZECCONI, A.; REDAELLI, V.; TARANTINO, S.; LUZI, F.; VERGA, M. Infrared thermography as a non invasive technique to assess lameness in dairy cows. In: SYMPOSIUM AND 8TH CONFERENCE LAMENESS - A GLOBAL PERSPECTIVE, 16., 2011, Rotorua. **Lameness in ruminants**, Rotorua, 2011. p. 183.