

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



Dissertação

Parâmetros sanguíneos de ovinos desafiados dieteticamente e suplementados com tamponantes.

Caroline da Silva Wrague
Zootecnista

Pelotas, 2022
CAROLINE DA SILVA WRAGUE

Parâmetros sanguíneos de ovinos desafiados dieteticamente e suplementados com tamponantes.

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Área do conhecimento: Produção Animal).

Orientador: Prof. Cássio Cassal Brauner
Co-orientador: Marcio Nunes Correa

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na publicação

W939p Wrague, Caroline da Silva

Parâmetros sanguíneos de ovinos desafiados dieteticamente e suplementados com tamponantes / Caroline da Silva Wrague ; Cássio Cassal Brauner, orientador ; Márcio Nunes Correa, coorientador. – Pelotas, 2022.
42 f.

Dissertação (Mestrado) – Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Borregos. 2. Nutrição. 3. Ruminantes. I. Brauner, Cássio Cassal, orient.
II. Correa, Márcio Nunes, coorient. III. Título.

CDD : 636.3084

Elaborada por Ubirajara Buddin Cruz CRB: 10/901

CAROLINE DA SILVA WRAGUE

Parâmetros sanguíneos de ovinos desafiados dieteticamente e suplementados com tamponantes.

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 31/03/2022

Banca Examinadora:

Prof^o. Dr. Cássio Cassal Brauner (Orientador)
Doutor em Zootecnia pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof^o. Dr. Giovanni Fiorentini
Doutor em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista – Campus Jaboticabal.

Prof^o. Dr. Stefani Macari
Doutor em Zootecnia pelo Instituto Federal do Rio Grande do Sul.

Prof^a. Dra. Eliza Rossi Komninou
Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas.

“The key, though, win or lose, is not to fail. And the only way to fail is not to fight. So you fight until you can’t fight anymore. Hold up your head and enter the arena, and face the enemy. Fight until you can’t fight anymore, never let go, never give up, never run, never surrender. Fight the good fight, you fight even when it seems inevitable that you’re about to go down”.

Shepherd, A.
(Greys Anatomy T11-E14)

Resumo

WRAGUE, Caroline da Silva. **Parâmetros sanguíneos de ovinos desafiados dieteticamente e suplementados com tamponantes**. 2022. 44p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

O estudo teve como objetivo comparar os efeitos do fornecimento de dois produtos comerciais distintos, com ação tamponante: Equalizer® (Cargill®) e LithoNutri (Oceana Minerals®), sobre o comportamento alimentar, metabolismo de ovinos confinados e sob desafio dietético de alto concentrado. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação animal da Universidade Federal de Pelotas, sob o código 009653/2021-45. Dessa forma, 18 ovinos (doze animais não canulados e seis animais canulados) foram distribuídos aleatoriamente em três grupos, em um bloco estatístico de quadrado latino contendo dois tratamentos e um grupo controle: Controle (BICARB; n=6), Lithothamnium Calcareum® (LITHO; n=6) e Equalizer® (EQUA; n=6), os quais receberam uma dose de 7.56g/animal/dia, fornecido sobre a TMR. O experimento foi dividido em três ciclos de vinte e sete dias cada. Amostras de sangue, fezes e líquido ruminal foram coletadas em intervalos de sete dias e durante os cinco dias de desafio nutricional, assim como foi feito a avaliação zootécnica, sendo avaliados seis coletas por ciclo, três durante o período pré-desafio e três durante o desafio. As análises hemogasométricas do sangue venoso, coletado da veia jugular, foram realizadas logo após a alimentação da manhã. Indicadores metabólicos sanguíneos como glicose, albumina, proteínas plasmáticas totais (PPT), uréia, cálcio (Ca), magnésio (Mg), paraoxonase (PON), ácidos graxos não esterificados (AGNE) e β -hidroxibutirato (BHB) foram analisados através da coleta de sangue da veia jugular utilizando o sistema Vacutainer. Os resultados obtidos para todos os parâmetros avaliados demonstraram não ter havido diferenças entre os grupos nos diferentes ciclos, incluindo o período de desafio. Concluímos que os diferentes tamponantes utilizados neste estudo foram efetivos no tamponamento ruminal dos animais, mantendo os níveis de parâmetros hemogasométricos e plasmáticos em níveis fisiológicos aceitáveis, não sendo observadas alterações que pudessem indicar acidose ou alterações metabólicas sob as condições avaliadas.

Palavras-chaves: borregos; nutrição, ruminantes.

Abstract

Wrague, Caroline da Silva. **Blood parameters of diet-challenged sheep supplemented with buffers.** 2022. 45p. Dissertation (Master) – Postgraduate Program in Animal Science. Federal University of Pelotas, Pelotas, 2022.

The study aimed to compare the effects of the supply of two distinct commercial products, with buffering action: Equalizer® (Cargill®) and LithoNutri (Oceana Minerals®), on feeding behavior, metabolism of confined sheep and under high concentrate dietary challenge. . The study was approved by the Animal Ethics and Experimentation Committee of the Federal University of Pelotas, under code 009653/2021-45. Thus, 18 ewe (twelve non-cannulated animals and six cannulated animals) were randomly assigned to three groups, in a Latin square statistical block containing two treatments and a control group: Control (BICARB; n=6), Lithothamnium Calcareum® (LITHO; n=6) and Equalizer® (EQUA; n=6), which received a dose of 7.56g/ewe/day, provided over the TMR. The experiment was divided into three cycles of twenty-seven days each. Blood, feces and rumen fluid samples were collected at intervals of seven days and during the five days of nutritional challenge, as well as the zootechnical evaluation, being evaluated six collections per cycle, three during the pre-challenge period and three during the challenge. Hemogasometric analyzes of venous blood, collected from the jugular vein, were performed immediately after the morning meal. Blood metabolic indicators such as glucose, albumin, total plasma proteins (PPT), urea, calcium (Ca), magnesium (Mg), paraoxonase (PON), non-esterified fatty acids (NEFA) and β -hydroxybutyrate (BHB) were analyzed using collection of blood from the jugular vein using the Vacutainer system. The results obtained for all parameters evaluated showed that there were no differences between the groups in the different cycles, including the challenge period. We concluded that the different buffers used in this study were effective in the ruminal buffering of the animals, maintaining the levels of blood gas and plasma parameters at acceptable physiological levels, with no changes that could indicate acidosis or metabolic changes under the conditions evaluated.

Key-words: lambs; nutrition; ruminants.

Lista de Figuras

Figura 1: Galpão de Ovinos - NUPEEC.....	15
Figura 2: Cocho de alimentação.....	16
Figura 3: Cocho de água.....	16
Figura 4: Ovino após a recuperação do procedimento cirúrgico.....	17
Figura 5: Linha Temporal das coletas realizadas durante o experimento.....	18

Lista de Tabelas

Tabela 1: Composição bromatológica da ração misturada total (TMR) ofertada aos animais durante o período experimental.....	18
---	----

Sumário

1. Introdução	10
2. Objetivos	13
2.1 Objetivo Geral	13
2.2 Objetivo específico	13
3. Hipótese	13
4. Relatório de Trabalho de Campo	13
4.1 Metodologia	14
4.2 Aspectos éticos	15
4.3 Local e instalações	15
4.4 Animais	16
4.5 Dietas e Tratamentos	17
4.6 Coletas e Análises	18
4.7 Delineamento Experimental	19
5. Artigo	20
6. Conclusões	34
7. Considerações Finais	34
8. Referências Bibliográficas	34

1. INTRODUÇÃO

A dieta influencia diretamente o consumo e a digestibilidade dos nutrientes e, como consequência imediata, o desempenho dos animais, bem como a composição corporal e da carcaça. Dietas com alto teor de energia normalmente provocam uma acentuada produção de ácidos graxos voláteis (AGVs), especialmente os precursores glicogênicos (glicerol e lactato, por exemplo), além de exercerem uma estimulação, por vezes, insuficiente sobre a mastigação e salivação (Humer et al., 2018). A associação do alto teor de energia na dieta e a insuficiente produção de saliva resulta na interrupção do equilíbrio acidobásico intraruminal, diminuindo o pH do rúmen, podendo levar ao aparecimento de distúrbios como a acidose ruminal (Neville et al., 2019). Quando não é possível proporcionar uma fermentação ruminal adequada, como nos casos de dietas desafiadoras, os sistemas tamponantes naturais não são eficazes, recomendando-se o uso de aditivos tamponantes ou alcalinizantes na dieta dos animais (Bach et al., 2018). Com base nisso, diversos aditivos tamponantes e alcalinizantes tem sido pesquisado com intuito de diminuir as variações de pH ruminal, uma vez que, o controle da fermentação ruminal usando agentes tamponantes contribuem para aumentar a produtividade e o desempenho dos ruminantes submetidos a dietas altamente energéticas, como aquelas ricas em amido (Cruywagen et al., 2015).

Parâmetros sanguíneos representam importante ferramenta zootécnica, pois permitem avaliar o metabolismo animal, procedente do efeito nutricional das dietas, além das respostas fisiológicas dos animais (Rabassa et al., 2009; Bedoya et al., 2013). Quando há suspeitas de alterações no equilíbrio acidobásico, são importantes as determinações dos valores médios de referência dos gases sanguíneos dióxido de carbono e oxigênio (PCO_2 e PO_2 , respectivamente), potencial hidrogênio iônico (pH) e excesso de ácido-base (BE), os testes bioquímicos mais utilizados são a glicemia, proteínas plasmáticas totais, quantificação de eletrólitos e metais com a finalidade de obter o perfil dos parâmetros eletrolítico e metabólico do animal. Muitos dos desequilíbrios acidobásicos trazem poucos transtornos ao organismo, pois são transitórios ou devidamente compensados pelo animal. Contudo, em diversas circunstâncias, a correção desse estado é fundamental para evitar que haja a ocorrência de choque, colocando o animal em risco de morte por inibição do centro respiratório ou mesmo da bateria enzimática celular, em especial, do sistema sanguíneo, que trabalha em faixa restrita de pH (o pH ideal em ovinos, segundo Kaneko (2008) é de 7,28, abaixo ou acima disso é considerado crítico). Portanto, análises sanguíneas são importantes para avaliar a absorção dos nutrientes, funcionalidade de órgãos vitais, por meio de avaliações celulares e de metabólitos sanguíneos frente às novas situações alimentares. Sendo assim, objetivou-se avaliar a resposta metabólica de ovinos, criados em confinamento, desafiados dieteticamente com dietas contendo alto teor de amido e observar as respostas metabólicas de acordo com o tamponante utilizado sobre as características nos perfis energético, enzimático, proteico e mineral.

Neste estudo, os produtos utilizados foram Bicarbonato de sódio (Raudi®), Equalizer® (Cargill®) e Lithothamnium Calcareum - LithoNutri® (Oceana minerais marinhos®). O primeiro atuando como um tamponante do pH ruminal. Já os outros dois, caracterizam-se por serem produtos alcalinizantes que agem neutralizando os ácidos produzidos no rúmen, além de servir de fonte de macro minerais como cálcio (Ca) e magnésio (Mg). O bicarbonato de sódio é o tamponante mais utilizado na nutrição animal. É um composto usado predominantemente como tamponante ruminal em casos de dietas que apresentem altas quantidades de concentrados. O Lithothamnium ssp., família Corallineacea, pertencente ao grupo das algas vermelhas, compostas por calcite, aragonite e vaterite (Schlegel, 2017). Essa alga pode ser extraída e fornecida como suplemento mineral aos animais, atuando principalmente nos níveis séricos de cálcio (Taddei, 2014). Sabe-se que as algas marinhas calcárias retêm elevado índice de elementos minerais do meio marinho, além de apreciável quantidade de substâncias nutritivas. Estas algas são plantas que crescem naturalmente no meio marinho e se desenvolvem onde existe a presença de luz (Dias, 2000; Melo & Moura, 2009). Já o Litro Equalizer, é um tamponante que está associado ao bicarbonato de sódio, óxido de magnésio e carbonato de cálcio de fontes orgânicas. Oferece uma maior variedade de fontes de energia, como fibras mais digestíveis e gordura, evita o excesso de carboidratos fermentáveis no rúmen.

Em sistemas de produção de ruminantes é comum a oferta de dietas contendo ingredientes de boa digestibilidade e altos níveis de energia, objetivando maximizar a produção. Quando não é possível proporcionar uma fermentação ruminal adequada, como nessa oferta, onde os animais recebem uma dieta com alto teor de amido, os sistemas tamponantes naturais não são eficazes, recomenda-se então o uso de aditivos tamponantes ou alcalinizantes na dieta dos animais.

Os tampões tem a função de neutralizar o excesso de ácidos produzidos no rúmen em situações onde os sistemas tamponantes, principalmente bom fluxo salivar, são insuficientes (Valadares Filho e Pina, 2006). O termo “tamponante” é usado genericamente em nutrição. Os "tampões verdadeiros" previnem o aumento na acidez (redução no pH), mas não aumentam o pH acima de um determinado valor (Leal et al. 2007). Os "alcalinizantes", outro tipo de aditivo alimentar, além de neutralizarem a acidez também podem causar aumento no pH.

Em um estudo realizado por D Lorenzo (2004) trabalhando com ruminantes rapidamente passados de uma dieta de alta proporção de forragem para outra com alto teor de concentrado ou quando são abruptamente submetidos a dietas de alto concentrado desencadeiam uma série de processos fisiológicos, resultando num distúrbio metabólico conhecido como acidose.

A acidose pode ser definida como a redução do conteúdo alcalino do fluido corporal em relação ao conteúdo ácido (Owens et al., 1998). A acidose ruminal causa a migração de ácidos para a corrente sanguínea devido à diferença de osmolaridade entre o rúmen e o sangue, derrubando, desse modo, a capacidade do bicarbonato de tamponar o sangue (Galyean & Rivera, 2003). Quando o suprimento de carboidratos não fibrosos é aumentado abruptamente, ácidos graxos voláteis produzidos pelos microrganismos no rúmen e a proporção de ácido láctico aumentam como resultado da maior taxa de fermentação. Aproximadamente metade do bicarbonato que entra no rúmen vem da saliva durante mastigação e ruminação; e a outra metade chega ao rúmen vindo da corrente sanguínea na troca com os ácidos ionizados enquanto estes estão sendo absorvidos. Com dietas de alto concentrado e reduzida contribuição de saliva, maior proporção de bicarbonato deve ser derivada do sangue. Isso reduz os excessos de base no sangue e se o animal não conseguir restabelecer a homeostase, isso causa acidose metabólica (Owens et al., 1998). Sob condições normais, o pH do sangue é altamente regulado e raramente flutua, porque este está saturado com bicarbonato. Durante a acidose clínica, no entanto, a produção excessiva de ácidos pode exaurir a capacidade de o bicarbonato tamponar o sangue e então o pH sanguíneo pode diminuir (Owens et al., 1998).

Nas amostras sanguíneas das ovelhas foram analisados os marcadores energéticos AGNE, BHB e glicose, marcadores inflamatórios PON1, albumina e PPT, marcadores de metabolismo mineral, Ca e Mg e, como marcador do metabolismo nitrogenado, a ureia. Ainda, foram analisados os parâmetros hemogasométricos de PO_2 e PCO_2 , pH plasmático, $CHCO_3$ e BE.

Alguns transtornos se caracterizam primeiro por alterações bioquímicas nos líquidos corporais (urina, fluido ruminal, leite e sangue), e mais tarde por diminuição da eficiência reprodutiva, além da diminuição da produção. Os perfis metabólicos são utilizados desde a década de 1970 e são usados como procedimento de monitoramento rotineiro para o diagnóstico de transtornos subclínicos. Os sistemas que controlam o equilíbrio acidobásico são chamados de sistemas tampão. Esses sistemas reduzem as variações de pH nas soluções em que podem ocorrer mudanças na concentração de ácidos ou de bases. O valor ideal do pH plasmático em ovinos varia entre 7,28 e 7,42 segundo Ortolani (2003) e Kaneko (2008). Os fluidos do organismo mantem seu pH constante pela ação de vários tipos de controle. Primeiro, pelos sistemas tampão e, complementarmente, por eventos equilibradores em nível pulmonar, mediante a troca gasosa de oxigênio (O_2) e dióxido de carbono (CO_2), e em nível renal, através da excreção de H^+ e reabsorção de HCO_3 . As alterações acidobásicas do sangue podem gerar transtornos e podem ocorrer devido a estados fisiológicos de acidose ou alcalose. Esses transtornos originados no rúmen são também frequentes em animais por erros no manejo alimentar. Alterações mistas também são possíveis. O principal ácido do sangue está representado pelo CO_2 e a principal base pelo HCO_3 (Díaz Gonzáles, Félix H, et al. 2014).

Tanto a glicose como os AGNE são influenciados pelo estresse de manipulação podendo ter alteração na sua concentração sem significar alteração na homeostase (Payne e Payne, 1987; Herdt, 2000). Os AGNE são considerados os metabólitos sanguíneos que estão mais diretamente

relacionados com o balanço energético (Kaneko et al., 2008). Em ovinos, os AGNE são mais bem correlacionados com o consumo de energia do que a glicose (Herd, 2000).

O BHB é o corpo cetônico de escolha para a avaliação clínica devido a sua estabilidade no plasma ou no soro, apesar de ser melhor indicador de distúrbio latente do que do perfil energético (Herd, 2000). Em um estudo, Schlumbohm e Harmeyer (2008) relataram que altas concentrações de corpos cetônicos plasmáticos em ovelhas causam redução de 30% nos níveis de produção de glicose. Os níveis de AGNE acima de 0,4 mmol/L e BHB acima de 0,8 mmol/L, foram estabelecidos como aceitáveis de acordo com Kaneko et al (2008).

A glicose pode ser considerada o combustível mais importante para a oxidação respiratória, sendo de vital importância para a maior parte das funções fisiológicas, principalmente no cérebro. Os níveis de glicose no sangue são também indicativos de distúrbios metabólicos como a toxemia da gestação e a cetose (González; Silva, 2006). Nos ruminantes a glicose ingerida é quase toda utilizada pelos microrganismos ruminais na formação dos AGV, que são a principal fonte de energia para esses animais. Os níveis de glicose entre 50-80 mg/dL são aceitáveis para ovinos (Kaneko et al. 2008).

A paraoxonase (PON1) é uma enzima com propriedades antiaterogênica e anti-inflamatória (Schrader; Rimbach, 2011). As paraoxonases possuem várias funções em diversas vias bioquímicas, tais como proteção contra danos oxidativos e peroxidação lipídica, contribuições para o sistema imune, desintoxicação de moléculas reativas, regulação da proliferação celular e apoptose (Martinelli et al., 2013). É também uma proteína de fase aguda, que compreende um grande grupo de proteínas que se reduzem (negativas) ou se elevam (positivas) rapidamente em resposta a infecções ou lesões teciduais, e os níveis geralmente refletem o grau e extensão do processo inflamatório e infeccioso (Chavatte, et al., 1992). A paraoxonase-1 (PON-1) é um composto antioxidante considerado como proteína de fase aguda negativa em animais (Rossi et al., 2013) que, conforme a descrição de Costa et al. (2005) é sintetizada no fígado e transportada no plasma através da associação com a lipoproteína de alta densidade (HDL) (Ruggerone et al., 2018).

A determinação da ureia, albumina e proteína total séricas são indicadores úteis para a avaliação do perfil proteico. A ureia é o metabólito mais bem estudado em ruminantes, pois tem relação com a digestão proteica e com o metabolismo dos microorganismos do rúmen. De modo geral, a ureia é um indicador sensível e imediato da ingestão de proteína, enquanto a albumina é o indicador a longo prazo do estado proteico (González, 2018). O valor ótimo de ureia plasmática em ovinos varia de 5,3 a 10mmol/L (32-60mg/dL).

A albumina é a proteína mais abundante no sangue, é sintetizada pelo fígado e suas concentrações são indicadores de função hepática e do estado nutricional, constituindo também importante reserva proteica, sendo um transportador de AGNE, aminoácidos, metais e bilirrubina. A baixa concentração de albumina no sangue pode afetar o metabolismo de outras substâncias devido ao papel da albumina como transportadora (González e Scheffer, 2002). Seus valores normais variam entre 2,6 e 4,2g/dL segundo González et al (2006). Para os dados de proteínas plasmáticas totais, a amplitude do intervalo de referência segundo Kaneko et al (2008) é de 1,9g/dL. E os valores aceitáveis, segundo o mesmo autor variam entre 6,0-7,9g/dL. A concentração de proteínas totais no sangue reflete o status nutricional proteico de maneira muito confiável. Em animais não lactantes uma diminuição dos níveis deste metabólito pode indicar deficiência proteica na dieta (Peixoto; Osorio, 2007).

O cálcio presente no organismo se encontra distribuído entre a formação de ossos e dentes e os fluidos intracelulares e membranas. No soro, cerca de 45% do cálcio presente é encontrado de forma livre ionizada, outros 45% ligados a albumina e o restante ligado a outros compostos, como fosfato, citrato e bicarbonato (Mangueira 2008; González e Scheffer, 2002). Para os dados de cálcio, o intervalo de referência segundo Kaneko et al (2008) varia entre 5,1 e 5,5mg/dL. O magnésio atua como cofator para mais de 300 enzimas, é componente dos ossos, e tem participação na atividade neuromuscular. Seu metabolismo e sua distribuição se relacionam estreitamente com o cálcio e o fósforo (Riccó, 2004; Mangueira, 2008). Por não haver um mecanismo de controle homeostático específico para este metabólito, sua concentração sanguínea se relaciona diretamente com a dieta, e a excreção é realizada pela urina. Bovinos e ovinos são as espécies que apresentam maior

susceptibilidade a distúrbios de magnésio. As concentrações ótimas variam de 2,2 a 2,8mg/dL, segundo Kaneko et al. (2008).

A hemogasometria é a prova laboratorial que permite analisar os gases sanguíneos e o equilíbrio ácido-básico, de forma rápida e prática. Os valores de HCO_3^- entre 19 e 25 mmol/L são considerados aceitáveis e para os gases os valores variam para pCO_2 entre 37 e 46 mmHg e para pO_2 entre 83 e 95 mmHg. O excesso de base trata-se de uma quantificação de bases no sangue, calculada sob condições padronizadas de pressão parcial de CO_2 e temperatura, que gira em torno dos 37°C . Quando o EB está aumentado, indica alcalose e quando está diminuído, acidose, o valor expressa indiretamente a quantidade de tampões existentes no sangue. Em ovinos o valor de referência está entre -4,0 e 2,0 mm/L.

Há uma carência de trabalhos detalhados sobre os níveis sanguíneos em pequenos ruminantes e poucos registros sobre achados importantes e seus possíveis significados patológicos nesta espécie, diante do desafio nutricional e por isso a importância deste estudo nos dias atuais. Sugere-se que ovinos desafiados com dietas contendo alto teor de amido respondem metabolicamente diferente de acordo com o tamponante utilizado.

2. OBJETIVOS

2.1 *Objetivo geral*

Mensurar os efeitos de diferentes tamponantes ruminais nos parâmetros bioquímicos, hematológicos e hemogasométricos de ovinos desafiados dieteticamente.

2.2 *Objetivos específicos*

- Avaliar a eficiência de diferentes tamponantes sob a estabilidade do pH do rúmen.
- Investigar possíveis alterações nos parâmetros séricos de animais suplementados com tamponantes.
- Mensurar os efeitos hemogasométricos de animais suplementados com tamponantes.

3. Hipótese

“Ovinos desafiados com dietas contendo alto teor de amido respondem metabolicamente diferente de acordo com o tamponante utilizado.”

4. RELATÓRIO DE TRABALHO DE CAMPO

4.1 Metodologia

O estudo foi realizado com ovinos, utilizando três produtos de efeito tamponante sobre o pH ruminal: Bicarbonato de sódio (Raudi®) Equalizer® (Cargill®) e Lithothamnium calcareum - LithoNutri® (Oceana Minerals®). Tanto para a condução dos procedimentos experimentais, quanto para a análise técnica dos resultados, ficou disponível toda a equipe do Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC), composta por professores, doutores em Veterinária, Zootecnia, Biotecnologia e Farmácia, além de Médicos Veterinários, Zootecnistas, Biotecnologistas e Farmacêuticos que realizam pós-graduação (mestrado e doutorado) junto à equipe, e ainda pesquisadores vinculados ao NUPEEC. Todos os integrantes da equipe, bem com os trabalhos realizados, podem ser conhecidos através do site wp.ufpel.edu.br/nupeec.

EXPERIMENTO

O experimento foi realizado na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), no município de Capão do Leão, localizado no sul do Rio Grande do Sul, sobre as coordenadas geográficas -31.805429, -52.414984. Foram utilizados 18 ovinos de raças mistas. Sendo seis animais fistulados ruminalmente, homogêneos quanto ao peso, ECC e idade, agrupados aleatoriamente em três grupos: Grupo controle (BICARB, adição de 7,56g/animal/dia, n=6), Grupo Lithothamnium Calcareum (LITHO, adição de 7,56g/animal/dia, n=6), Grupo Equalizer (EQUA, adição de 7,56g/animal/dia, n=6).

A dieta fornecida nos cochos, duas vezes ao dia, pela manhã (às 8h30min) e pela tarde (às 16h30min), com água *ad libitum*. A dieta continha cerca de 28% de amido durante o período experimental. O experimento contou com um período de sete dias para adaptação ambiental e alimentícia dos animais. Após a adaptação, a relação de fornecimento de concentrado e volumoso foi de 50:50 e que foi ofertada durante os próximos 15 dias do experimento, logo, nos últimos cinco dias experimentais a dieta mudou de forma abrupta para 100% concentrado. Os produtos fornecidos para os animais foram administrados de maneira *on top* na alimentação.

O experimento rodou em quadrado latino, 3x3, possibilitando que todos os animais recebam todos os tratamentos. As coletas de sangue foram realizadas por punção da veia jugular utilizando sistema Vacutainer (BD diagnostics, SP, Brasil) nos dias 0, 7, 14, 15, 16, 17, 18, 19, totalizando 08 coletas por ciclo. As amostras de sangue foram coletadas em três tubos: um com fluoreto de sódio para obtenção de plasma para avaliar os níveis de glicose; outro com sílica (ativador de coágulo) para obtenção do soro e realização das análises bioquímicas de ureia, albumina, AGNE, BHB e PON1, e outro com heparina de sódio para análise de pH, bicarbonato e gases (pCO₂, pO₂) sanguíneos.

Antes do início do experimento seis dos ovinos passarão por um procedimento de fistulação do rúmen, os quais serão realizados mediante intervenção cirúrgica para implantação de cânula ruminal do tipo silicone (KEHL®, São Carlos, Brasil). Serão escolhidos dois animais de forma aleatória de cada grupo para a realização do procedimento.

A fistulação consiste em um procedimento cirúrgico, onde é realizado uma abertura no lado esquerdo no animal, na região central, permitindo acesso ao rúmen. Logo, a cânula de silicone é implantada no orifício e posteriormente vedada, possibilitando acesso ao órgão para coletar as análises necessárias no desenvolvimento do experimento. Esse método é considerado muito importante nos estudos de nutrição animal, pois proporciona de modo mais preciso a avaliação do metabolismo e da fisiologia do rúmen. Assim, permitindo o desenvolvimento de estratégias nutricionais mais eficazes para solucionar os problemas relacionados ao crescimento de bactérias, ao pH e digestibilidade (Duffield et al., 2004; Grovum, 1989; Thyfault et. al., 1975; Muzzi et. al., 2009).

As coletas do líquido ruminal serão realizadas nos mesmos dias das coletas de sangue, realizadas com 30 minutos antes à alimentação da manhã, e de hora em hora, até 4 horas após a alimentação do turno da manhã. A análise deste fluido será feita logo após a coleta, avaliando-se os aspectos físicos (odor, cor, consistência), químicos (pH, redução de azul de metileno e sedimentação) e biológicos (motilidade, densidade, proporção e contagem de protozoários) interpretados de acordo com as técnicas propostas por Dirksen (1993). Uma alíquota de líquido ruminal será armazenada a -20°C e posteriormente usada para determinar a concentração de AGV. A concentração de AGV será quantificada por cromatografia em fase gasosa (HP 5890 series II GC, Hewlett-Packard, Waldbronn, Alemanha) conforme descrito por Stefańska et al. (2018). Além disso, será feito o isolamento de DNA de bactérias ruminais e amplificação de qPCR de genes de 16S rDNA, usando um protocolo anterior descrito por Abdelmegeid et al. (2018) com modificações conforme Grazziotin et al. (2020). Será coletado ainda, amostras fecais, coletadas do reto de cada animal em recipientes de plástico para análise de pH e amido.

O pH fecal será medido imediatamente após a coleta com medidor de pH portátil, e posteriormente as amostras serão armazenadas a -20°C até análise do amido fecal. Será realizado a pesagem de todos os animais, a cada dia de coleta, para avaliação do ganho de peso, assim como avaliação do ECC. Uma vez por semana será coletado amostras de dieta, para avaliação da digestibilidade *in vitro*, com e sem adição dos produtos comerciais Lithothamnium Calcareum e Equalizer, determinada pelo procedimento de Tilley & Terry (1963). Serão realizadas análises bromatológicas de todos os componentes da dieta para determinação dos teores de matéria seca (MS),

proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), extrato etéreo (EE) e matéria mineral (MM). Para análises da fibra detergente neutro (FDN) e fibra detergente ácido (FDA) será empregada a metodologia proposta por Van Soest et al. (1991).

Durante a execução do experimento, os animais serão avaliados diariamente, caso seja observada alguma alteração no comportamento ou condição física, será realizado o exame clínico completo. Os parâmetros analisados serão: sinais clínicos vitais, frequência cardíaca e respiratória, temperatura corporal, coloração das mucosas e tempo de perfusão capilar avaliado por pressão sobre a mucosa oral, levando em consideração os parâmetros fisiológicos propostos por Raiser (2003). Os dados obtidos no experimento serão analisados estatisticamente considerando o animal, o grupo, o momento da coleta e suas interações (Littell et al., 1998). A comparação de médias individuais será feita através do teste de Tukey-Kramer. Serão considerados significativos os valores de $p < 0,05$.

4.2 Aspectos Éticos

A proposta do presente projeto será submetida para avaliação do Comitê de Ética em Experimentação Animal – CEEA-UFPEL. As atividades que serão executadas são de baixo a médio risco aos animais, além disso, serão acompanhadas por um Médico Veterinário afim de zelar pelo bem-estar e saúde destes, dentro dos limites do experimento. As amostras serão extraídas da melhor forma possível, evitando ao máximo o estresse a que estes animais possam passar durante os procedimentos. Entretanto, estas amostras são cruciais para que se alcance os objetivos deste estudo, que trará um grande impacto na criação de ruminantes.

4.3 Local e Instalações

Durante o experimento, os animais ficaram sob regime de confinamento e foram adaptados ao ambiente e à dieta. O pavilhão de ovinos apresenta em torno de 300m², estando disponível 2m² por animal, e estes foram alojados em seis baias com medições de 4x4m, que continham cochos destinados para a alimentação (Figura 2) e bebedouros destinados à água (Figura 3). Os cochos eram limpos todos os dias. Já a cama, era manejada a cada dois dias para troca de maravalha que cobria as camas e limpas diariamente para retirada de maravalha molhada e fezes, já que o ambiente de confinamento apresentava piso de chão batido (terra) e divisórias de madeira, podendo haver intensificação se necessário.



Figura 1: Galpão de Ovinos do Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária – NUPEEC.



Figura 2: Cocho de alimentação.



Figura 3: Cocho de água.

4.4 Animais

Os animais foram vermifugados utilizando disofenol e doramectina via subcutânea, no início do experimento e durante o período experimental, quando fosse necessário, mediante o resultado do exame de contagens de ovos por grama de fezes (OPG), de acordo com a técnica descrita por Gordon & Whitlock (1939).

Foi realizado um procedimento cirúrgico de colocação de cânula em seis animais, para otimizar a coleta de amostras de líquido ruminal para avaliação (Figura 4). Esse procedimento foi realizado pelos residentes em clínica de ruminantes, sob supervisão de seus preceptores. A realização do procedimento cirúrgico consistiu na realização do protocolo anestésico no paciente, e em seguida, o paciente foi colocado em decúbito lateral direito para realização da tricotomia na região da fossa paralombar esquerda, facilitando a limpeza e desinfecção do local. Posteriormente, foi realizada assepsia local, e bloqueio anestésico local em L invertido, utilizando-se cloridrato de lidocaína 2% sem vasoconstritor. Realizou-se antisepsia com álcool-iodo povidona-álcool posicionou-se a cânula

sobre as a fossa paralombar esquerda, entre a última costela, o processo espinhal lateral e a ponta do ísquio, e realizada a incisão circular da pele, com aproximadamente 6cm de diâmetro. Após isso, foi feita a instilação do anestésico e a divulsão dos músculos oblíquo externo, oblíquo interno e o transverso do abdômen, com auxílio de tesoura de Metzambaum e pinça anatômica, até visualização do peritônio e a parede do rúmen. Assim, foi efetuada a exposição do rúmen, rumenostomia, e posteriormente as camadas da borda da pele, músculos do abdômen e peritônio foram suturados ao rúmen com um fio de nylon 0, sutura padrão ponto isolado simples. Dessa forma, após a formação da fístula a cânula foi posicionada no local da incisão. Anteriormente à colocação, a cânula foi mantida em água aquecida com solução antisséptica para facilitar que a aba interna fosse invertida parcialmente dentro do orifício central, facilitando a inserção da cânula no rúmen. A parte interna da cânula se fixou na parede interna do rúmen, enquanto a externa ficou justaposta à pele e o tubo central preencheu a fístula. Posteriormente ao procedimento cirúrgico, realizou-se o protocolo de analgesia com administração via parenteral durante cinco dias, antibioticoterapia via parenteral durante dez dias, , além do uso de solução antisséptica para limpeza e higienização da fístula e da cânula diariamente, com uso de pomadas cicatrizantes.



Figura 4: Ovino após a recuperação do procedimento cirúrgico.

4.5 Dietas e tratamentos

A dieta dos animais foi formulada conforme recomendação do NRC (2007). E a composição bromatológica da TMR fornecida durante o período experimental está predisposta na Tabela 1. Diariamente a oferta de alimento era pesada em balança digital e fornecida no cocho, sendo ajustada durante o período experimental conforme o peso e o consumo dos animais. Estes, permaneceram em regime de confinamento por 60 dias, divididos em 3 ciclos, havendo sete dias de adaptação no início de cada ciclo experimental, iniciando-se por uma oferta de dieta em uma relação de 60% concentrado e 40% volumoso (ração comercial, farelo de soja e silagem de milho); em seguida foi ofertado uma dieta com proporções de 50% concentrado e 50% volumoso (ração comercial, farelo de soja e silagem de milho), por 15 dias, e, a partir desta etapa, os animais passaram a receber os tratamentos de maneira *on top* no cocho, junto à oferta de dieta. Nos últimos cinco dias de experimento, ao entrarem no desafio, foi ofertado no cocho uma dieta com 100% concentrado (ração comercial e farelo de soja). O período de desafio nutricional foi proposto a fim de testar os efeitos dos tratamentos em animais desafiados nutricionalmente e que ficassem pré-dispostos ao quadro clínico de SARA. O intervalo entre os ciclos foi de sete dias, onde os animais foram racionados com a dieta formulada e não recebiam a adição dos tamponantes.

A dieta durante o período experimental apresentou média de 28,3% de amido no período pré-desafio e durante o desafio média de 32,46% de amido na composição total. A oferta de alimento era realizada em dois momentos, às 08:30h e às 16:30h, sendo ofertada 50% da dieta diária pela manhã e 50% a tarde. A água foi disponibilizada *ad libitum*.

Tabela 1. Composição bromatológica da TMR ofertada aos animais durante o período experimental.

Proporção Volumoso:concentrado	% MS ¹	MM ² %MS	PB ³ %MS	EE ⁴ %MS	FDN ⁵ %MS	FDA ⁶ %MS	CNF ⁷ %MS
Período pré-desafio							
60:40	45,72	7,15	12,79	1,73	35,16	22,70	45,32
50:50	53,78	7,45	14,34	1,69	35,57	23,43	43,38
Período de desafio							
100%C	89,54	7,72	16,00	1,87	24,80	17,05	48,12

¹MS- Matéria Seca; ²MM- Matéria Mineral; ³PB- Proteína Bruta; ⁴EE- Extrato Etéreo; ⁵FDN- Fibra em Detergente Neutro; ⁶FDA- Fibra em Detergente Ácido; ⁷CNF- Carboidratos não Fibrosos.

4.5 Coletas e Análises

Durante o período experimental, foram coletadas amostras de sangue e realizado controle zootécnico de todos os animais em dias intercalados e durante os dias de desafio (D0 – D7 – D14 – D16 – D18 – D19).

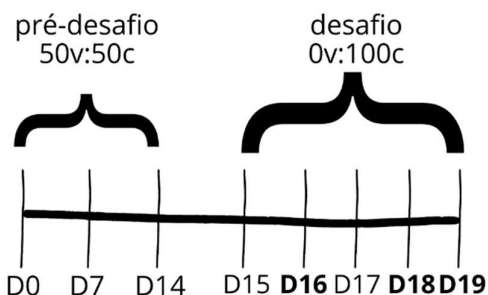


Figura 5: Linha temporal das coletas realizadas durante o experimento, e sua respectiva dieta. Em negrito as coletas analisadas.

As coletas sanguíneas foram realizadas sempre no período da manhã, após o fornecimento da alimentação, via punção da veia jugular com auxílio de tubos BD Vacutainer®, um com fluoreto de sódio, para dosagem de glicose e outro com ativador de coágulo para análises bioquímicas de albumina, proteínas plasmáticas totais (PPT), uréia, cálcio (Ca), magnésio (Mg), paraoxonase (PON), ácidos graxos não esterificados (AGNE) e β -hidroxibutirato (BHB). Logo após a coleta do sangue, o mesmo foi centrifugado por 20 minutos, a 4000 rpm, com auxílio de uma centrífuga (80-2B Analógica - Daiki®), para a separação e extração de soro e plasma. Após a centrifugação, o sobrenadante foi separado e acomodados em tubos Eppendorf com tampa, congelados a -20°C para posterior realização das análises. As análises sorológicas e plasmáticas foram realizadas no equipamento Labmax Plenno (Analisador bioquímico labmax plenno – Labtest Diagnóstica SA, Brasil®), e a análise de PON sérica foi por espectrofotometria com o auxílio do espectrofotômetro FEMTO 600 plus (Alfakit®), com auxílio dos respectivos reagentes para cada leitura, no laboratório de metabolismo do NUPEEC. Outra amostra sanguínea foi coletada em seringa heparinizada (Seringa balanceada com Cálcio e sem agulha, com tampa slip – BD®), resfriada rapidamente e já transportada para o laboratório de patologia clínica, do hospital de clínicas veterinárias da UFPel, para realização da análise de hemogasometria. Através dessa análise foi possível visualizar as concentrações de gases

sanguíneos (pO_2 e pCO_2), além do potencial hidrogênico (pH) plasmático, bicarbonato ($CHCO^3$) e excesso de base (BE).

4.6 Delineamento Experimental e Tratamentos

Durante o período experimental foi adotada a metodologia de delineamento em quadrado latino, sendo três ciclos e três tratamentos. Os animais foram atribuídos aleatoriamente entre os tratamentos, pertencendo 6 animais por tratamento em cada ciclo, a fim de identificar diferenças significativas entre os efeitos dos tratamentos. E minimizando os efeitos de clima e efeito animal. Cada grupo passou pelos três tratamentos em períodos diferentes, ou seja, o experimento rodou com 20 dias em cada ciclo, totalizando 60 dias experimentais e cada grupo experimental totalizou com 18 animais.

Os grupos tratamento receberam a adição dos produtos junto à dieta, de maneira *on top* no cocho, 7,56g/animal/dia seguindo a recomendação dos produtos sobre a dieta ofertada, 0,5% da MS ofertada.

Avaliação dos parâmetros metabólicos sanguíneos de ovinos desafiados dieteticamente e suplementados com três diferentes tamponantes ruminais.

C.S. Wrague ^a, M.L. Munhoz ^a, A.L. Kalb ^a, G.S. Boer ^b, A.P. Silveira ^b, A.H. Souza ^c, D. Langwinski ^c, M. N. Corrêa ^a, C.C. Brauner ^a.

^aNúcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária – Universidade Federal de Pelotas (NUPEEC – UFPel), Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. ^bOceana Minerals, Jundiaí, São Paulo, Brasil. ^cCargill, Campinas, São Paulo, Brasil.

Autor correspondente: Wrague, Caroline da Silva; Brauner, Cássio Cassal.
Email: carolwrague2@hotmail.com; cassiocb@gmail.com.

Abstract

O estudo teve como objetivo comparar os efeitos do fornecimento de dois produtos comerciais distintos, com ação tamponante: Equalizer® (Cargill®) e LithoNutri (Oceana Minerals®), sobre o comportamento alimentar, metabolismo de ovinos confinados e sob desafio dietético de alto concentrado. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação animal da Universidade Federal de Pelotas, sob o código 009653/2021-45. Dessa forma, 18 ovinos (doze animais não canulados e seis animais canulados) foram distribuídos aleatoriamente em três grupos, em um bloco estatístico de quadrado latino contendo dois tratamentos e um grupo controle: Controle (BICARB; n=6), Lithothamnium Calcareum® (LITHO; n=6) e Equalizer® (EQUA; n=6), os quais receberam uma dose de 7.56g/animal/dia, fornecido sobre a TMR. O experimento foi dividido em três ciclos de vinte e sete dias cada. Amostras de sangue, fezes e líquido ruminal foram coletadas em intervalos de sete dias e durante os cinco dias de desafio nutricional, assim como foi feito a avaliação zootécnica, sendo avaliados seis coletas por ciclo, três durante o período pré-desafio e três durante o desafio. As análises hemogasométricas do sangue venoso, coletado da veia jugular, foram realizadas logo após a alimentação da manhã. Indicadores metabólicos sanguíneos como glicose, albumina, proteínas plasmáticas totais (PPT), uréia, cálcio (Ca), magnésio (Mg), paraoxonase (PON), ácidos graxos não esterificados (AGNE) e β -hidroxibutirato (BHB) foram analisados através da coleta de sangue da veia jugular utilizando o sistema Vacutainer. Os resultados obtidos para todos os parâmetros avaliados demonstraram não ter havido diferenças entre os grupos nos diferentes ciclos, incluindo o período de desafio. Concluímos que os diferentes tamponantes utilizados neste estudo foram efetivos no tamponamento ruminal dos animais, mantendo os níveis de parâmetros hemogasométricos e plasmáticos em níveis fisiológicos aceitáveis, não sendo observadas alterações que pudessem indicar acidose ou alterações metabólicas sob as condições avaliadas.

Keywords: borregos; nutrição; ruminantes.

Interpretive Summary

Avaliação do metabolismo de ovinos desafiados dieteticamente suplementados com três diferentes tamponantes ruminais. Wrague, C.S. Ovinos desafiados com dietas contendo alto teor de amido respondem metabolicamente diferente de acordo com o tamponante utilizado. O objetivo deste estudo foi verificar a utilização de diferentes tamponantes no metabolismo animal e avaliar os indicadores bioquímicos, hematológicos e hemogasométricos num momento de desafio dietético sobre a influência dos diferentes tamponantes comerciais.

Introdução

A intensificação dos sistemas de produção de ruminantes buscando-se a máxima eficiência produtiva e econômica está relacionada com estratégias que buscam o uso e alimentos de alto valor energético (Yang et al., 2012). Práticas adequadas de manejo alimentar são cruciais para a melhoria na produção dos ovinos, evitando o surgimento de distúrbios metabólicos (Lima et al., 2016).

A dieta influencia diretamente o consumo e a digestibilidade dos nutrientes e, como consequência imediata, o desempenho dos animais, bem como a composição corporal e da carcaça. Alguns fatores resultam na interrupção do equilíbrio acidobásico intraruminal, diminuindo o pH do rúmen, podendo levar ao aparecimento de distúrbios como a acidose ruminal (Neville et al., 2019). A acidose metabólica é caracterizada por uma queda de pH e na concentração de bicarbonato. Em ruminantes (principalmente em sistemas intensivos de produção), está muito relacionado ao acúmulo de ácido lático em dietas ricas em concentrados energéticos (Owens et al., 1998). Neste cenário, há uma migração de ácidos para a corrente sanguínea devido à diferença de osmolaridade entre o rúmen e o sangue, derrubando, desse modo, a capacidade do bicarbonato de tamponar o sangue (Galyean & Rivera, 2003). Quando não é possível proporcionar uma fermentação ruminal adequada, como nos casos de dietas desafiadoras, os sistemas tamponantes naturais não são eficazes, recomendando-se o uso de aditivos tamponantes ou alcalinizantes na dieta dos animais (Bach et al., 2018).

Parâmetros sanguíneos representam importante ferramenta zootécnica, pois permitem avaliar o metabolismo animal, procedente do efeito nutricional das dietas, além das respostas fisiológicas dos animais (Rabassa et al., 2009; Bedoya et al., 2013). Quando há suspeitas de alterações no equilíbrio acidobásico, são importantes as determinações dos valores médios de referência dos gases sanguíneos dióxido de carbono e oxigênio (PCO_2 e PO_2 , respectivamente), potencial hidrogênio iônico (pH) e excesso de ácido-base (BE). Muitos dos desequilíbrios acidobásicos trazem poucos transtornos ao organismo, pois são transitórios ou devidamente compensados pelo animal. Portanto, análises sanguíneas são importantes para avaliar a absorção dos nutrientes, funcionalidade de órgãos vitais, por meio de avaliações celulares e de metabólitos sanguíneos frente às novas situações alimentares. Sob condições normais, o pH do sangue é altamente regulado e raramente flutua, porque este está saturado com bicarbonato.

Os tampões tem a função de neutralizar o excesso de ácidos produzidos no rúmen em situações onde os sistemas tamponantes, principalmente bom fluxo salivar, são insuficientes (Valadares Filho e Pina 2006).

Em um estudo realizado por Dilonzo (2004) trabalhando com ruminantes rapidamente passados de uma dieta de alta proporção de forragem para outra com alto teor de concentrado ou quando são abruptamente submetidos a dietas de alto concentrado desencadeiam uma série de processos fisiológicos, resultando num distúrbio metabólico conhecido como acidose.

O bicarbonato de sódio é o tamponante mais utilizado na nutrição animal. É um composto usado predominantemente como tamponante ruminal em casos de dietas que apresentem altas quantidades de concentrados. O *Lithothamnium* ssp., família Corallineacea, pertencente ao grupo das algas vermelhas, compostas por calcite, aragonite e vaterite (Schlegel, 2017). É uma alga que pode ser extraída e fornecida como suplemento mineral aos animais, atuando principalmente nos níveis séricos de cálcio (Taddei, 2014). Estas algas são plantas que crescem naturalmente no meio marinho e se desenvolvem onde existe a presença de luz (Dias, 2000; Melo & Moura, 2009). Já o Litro Equalizer, é um tamponante que está associado ao bicarbonato de sódio, óxido de magnésio e carbonato de cálcio de fontes orgânicas. Oferece uma maior variedade de fontes de energia, como fibras mais digestíveis e gordura, evita o excesso de carboidratos fermentáveis no rúmen.

Há uma carência de trabalhos detalhados sobre os níveis sanguíneos em pequenos ruminantes e poucos registros sobre achados importantes e seus possíveis significados patológicos nesta espécie, diante do desafio nutricional e por isso a importância deste estudo nos dias atuais. Sugere-se que ovinos desafiados com dietas contendo alto teor de amido respondem metabolicamente diferente de acordo com o tamponante utilizado.

Materiais e Métodos

Instalações e Animais

O experimento foi realizado no prédio de experimentação animal do Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária – NUPEEC, na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), no município de Capão do Leão, localizado no sul do Rio Grande do Sul, sobre as coordenadas geográficas -31.805429, -52.414984. E aconteceu entre os meses de agosto e outubro de 2021. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética de Experimentação Animal (CEEAA) da Universidade Federal de Pelotas (nº 009653/2021-45). Foram utilizados 18 ovinos de raça mestiça, com 14 meses de idade e peso vivo médio de 51,11Kg $\pm$ 1,18 e média de escore de condição corporal (ECC) 3. Os animais foram divididos de forma homogênea de acordo com o peso e colocados em três baias contendo quatro animais e três baias contendo dois animais canulados.

Durante o experimento, os animais ficaram sob regime de confinamento e foram adaptados ao ambiente e à dieta. O pavilhão de ovinos apresenta em torno de 300m², estando disponível 2m² por animal, e estes foram alojados em seis baias com medições de 4x4m, que continham cochos destinados para a alimentação e bebedouros destinados à água. Os cochos eram limpos todos os dias. Já a cama, era manejada a cada dois dias para troca de maravalha que cobria as camas e limpas diariamente para retirada de maravalha molhada e fezes, já que o ambiente de confinamento apresentava piso de chão batido (terra) e divisórias de madeira, podendo haver intensificação se necessário.

Os animais foram vermifugados via subcutânea, no início do experimento e durante o período experimental, quando fosse necessário, mediante o resultado do exame de contagens de ovos por grama de fezes (OPG), de acordo com a técnica descrita por Gordon & Whitlock (1939).

Dietas e tratamentos

A dieta dos animais foi formulada conforme recomendação do NRC (2007). E a composição bromatológica da TMR fornecida durante o período experimental está predisposta na Tabela 1. Diariamente a oferta de alimento era pesada em balança digital e fornecida no cocho, sendo ajustada durante o período experimental conforme o peso e o consumo dos animais. Estes, permaneceram em regime de confinamento por 60 dias, divididos em 3 ciclos, havendo sete dias de adaptação no início de cada ciclo experimental,

iniciando-se por uma oferta de dieta em uma relação de 60% concentrado e 40% volumoso (ração comercial, farelo de soja e silagem de milho); em seguida foi ofertado uma dieta com proporções de 50% concentrado e 50% volumoso (ração comercial, farelo de soja e silagem de milho), por 15 dias, e, a partir desta etapa, os animais passaram a receber os tratamentos de maneira *on top* no cocho, junto à oferta de dieta. Nos últimos cinco dias de experimento, ao entrarem no desafio, foi ofertado no cocho uma dieta com 100% concentrado (ração comercial e farelo de soja). O período de desafio nutricional foi proposto a fim de testar os efeitos dos tratamentos em animais desafiados nutricionalmente e que ficassem pré-dispostos ao quadro clínico de SARA. O intervalo entre os ciclos foi de sete dias, onde os animais foram racionados com a dieta formulada e não recebiam a adição dos tamponantes.

A dieta durante o período experimental apresentou média de 28,3% de amido no período pré-desafio e durante o desafio média de 32,46% de amido na composição total. A oferta de alimento era realizada em dois momentos, às 08:30h e às 16:30h, sendo ofertada 50% da dieta diária pela manhã e 50% a tarde. A água foi disponibilizada *ad libitum*.

Tabela 1. Composição bromatológica da TMR ofertada aos animais durante o período experimental.

Proporção Volumoso:Concentrado	% MS ¹	MM ² %MS	PB ³ %MS	EE ⁴ %MS	FDN ⁵ %MS	FDA ⁶ %MS	CNF ⁷ %MS
Período pré-desafio							
60:40	45,72	7,15	12,79	1,73	35,16	22,70	45,32
50:50	53,78	7,45	14,34	1,69	35,57	23,43	43,38
Período de desafio							
100%C	89,54	7,72	16,00	1,87	24,80	17,05	48,12

¹MS- Matéria Seca; ²MM- Matéria Mineral; ³PB- Proteína Bruta; ⁴EE- Extrato Etéreo; ⁵FDN- Fibra em Detergente Neutro; ⁶FDA- Fibra em Detergente Ácido; ⁷CNF- Carboidratos não Fibrosos.

Coletas e Análises

Durante o período experimental, foram coletadas amostras de sangue e realizado controle zootécnico de todos os animais nos dias pré-desafio (D0 – D7 e D14) fornecendo uma dieta contendo 50V:50C e durante os dias de desafio (D16 – D18 – D19), momento em que os animais recebiam a dieta com 100% concentrado.

As coletas sanguíneas foram realizadas sempre no período da manhã, após o fornecimento da alimentação, via punção da veia jugular com auxílio de tubos BD Vacutainer®, um com fluoreto de sódio, para dosagem de glicose e outro com ativador de coágulo para análises bioquímicas de albumina, proteínas plasmáticas totais (PPT), uréia, cálcio (Ca), magnésio (Mg), paraoxonase (PON), ácidos graxos não esterificados (AGNE) e β-hidroxibutirato (BHB). Logo após a coleta do sangue, o mesmo foi centrifugado por 20 minutos, a 4000 rpm, com auxílio de uma centrífuga (80-2B Analógica - Daiki®), para a separação e extração de soro e plasma. Após a centrifugação, o sobrenadante foi separado e acomodados em tubos Eppendorf com tampa, congelados a -20°C para posterior realização das análises. As análises sorológicas e plasmáticas foram realizadas no equipamento Labmax Plenno (Analisador bioquímico labmax plenno – Labtest Diagnóstica SA, Brasil®), e a análise de PON sérica foi por espectrofotometria com o auxílio do espectrofotômetro FEMTO 600 plus (Alfakit®), com auxílio dos respectivos reagentes para cada leitura, no laboratório de metabolismo do NUPEEC. Outra amostra sanguínea foi coletada em seringa heparinizada (Seringa balanceada com Cálcio e sem agulha, com tampa slip – BD®), resfriada rapidamente e já transportada para o laboratório de patologia clínica, do hospital de clínicas veterinárias da UFPEI, para realização da análise de hemogasometria. Através dessa análise foi possível visualizar as concentrações de gases

sanguíneos (pO_2 e pCO_2), além do potencial hidrogênico (pH) plasmático, bicarbonato ($CHCO^3$) e excesso de base (BE).

Delineamento Experimental e Tratamentos

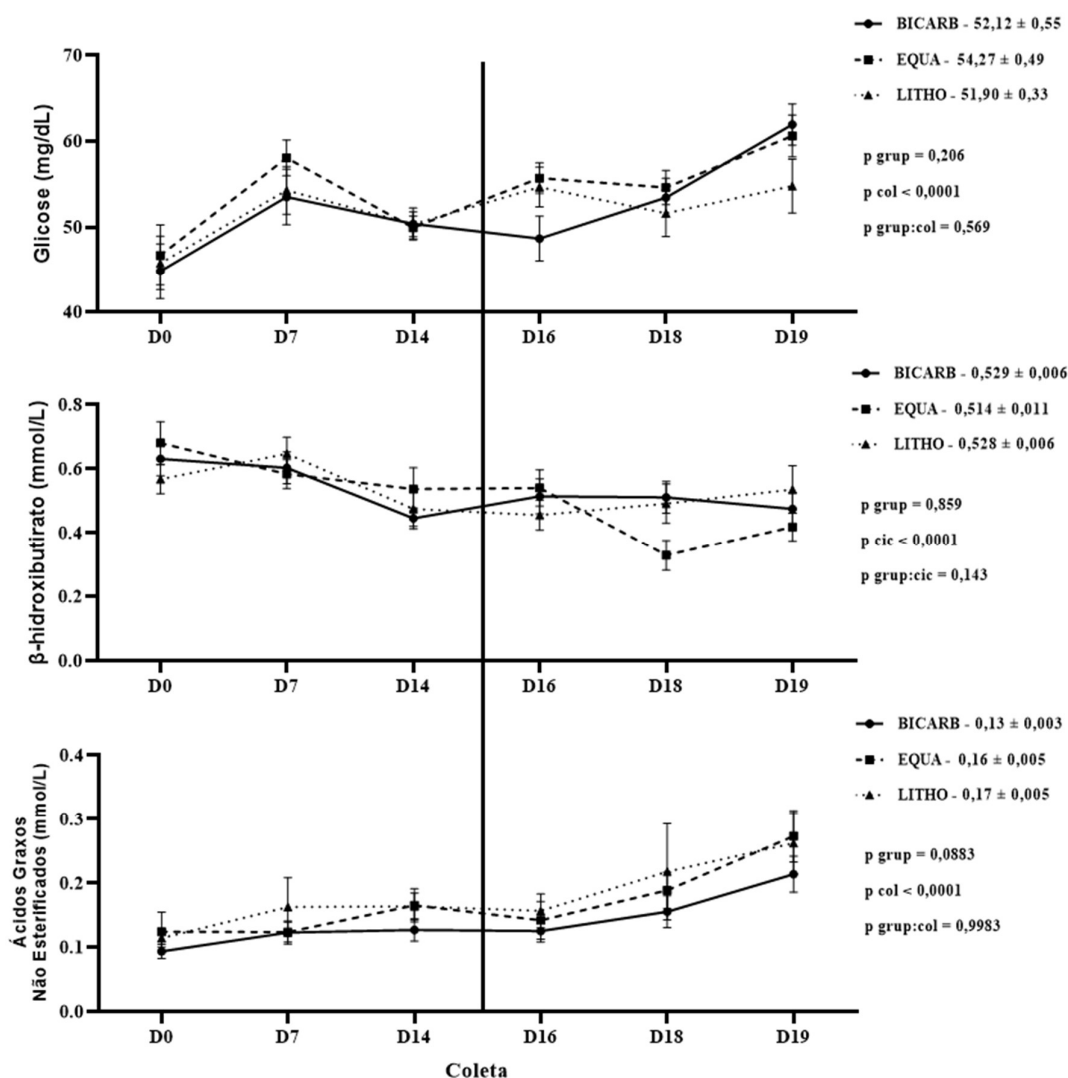
Durante o período experimental foi adotada a metodologia de delineamento em quadrado latino, sendo três ciclos e três tratamentos. Os animais foram atribuídos aleatoriamente entre os tratamentos, pertencendo 6 animais por tratamento em cada ciclo, a fim de identificar diferenças significativas entre os efeitos dos tratamentos. E minimizando os efeitos de clima e efeito animal. Cada grupo passou pelos três tratamentos em períodos diferentes, ou seja, o experimento rodou com 20 dias em cada ciclo, totalizando 60 dias experimentais e cada grupo experimental totalizou com 18 animais.

A análise estatística foi realizada utilizando os valores de média $\pm$ erro padrão. Para a comparação dos parâmetros sanguíneos entre os tratamentos (BICARB, EQUA, LITHO) e os ciclos e coletas, utilizou-se análise de variância seguida de teste Tukey-Kramer. O valor de $p < 0,05$ foi utilizado como critério de significância estatística mínima. O modelo incluiu os efeitos fixos de tratamento, período e tempo, como também os efeitos aleatórios dos animais e suas interações. As análises estatísticas e foram realizadas através do *software* RStudio utilizando os pacotes *dplyr*, *multcompView*, respectivamente. Já a confecção dos gráficos ocorreu com a utilização do *software* GraphPad Prism v9.0.

Resultados e discussão

As médias das análises nas coletas D0-7-14 (pré-desafio, quando os animais recebiam volumoso e concentrado na TMR) e durante o período de desafio, coletas D16-18-19 (quando os animais passaram a receber um TMR contendo apenas concentrado) para os grupos em função das coletas realizadas, assim como o valor do erro padrão da média para cada metabólito, além dos valores de p para o grupo tratamento, p para coleta e p interação grupo:coleta nas tabelas e figuras abaixo.

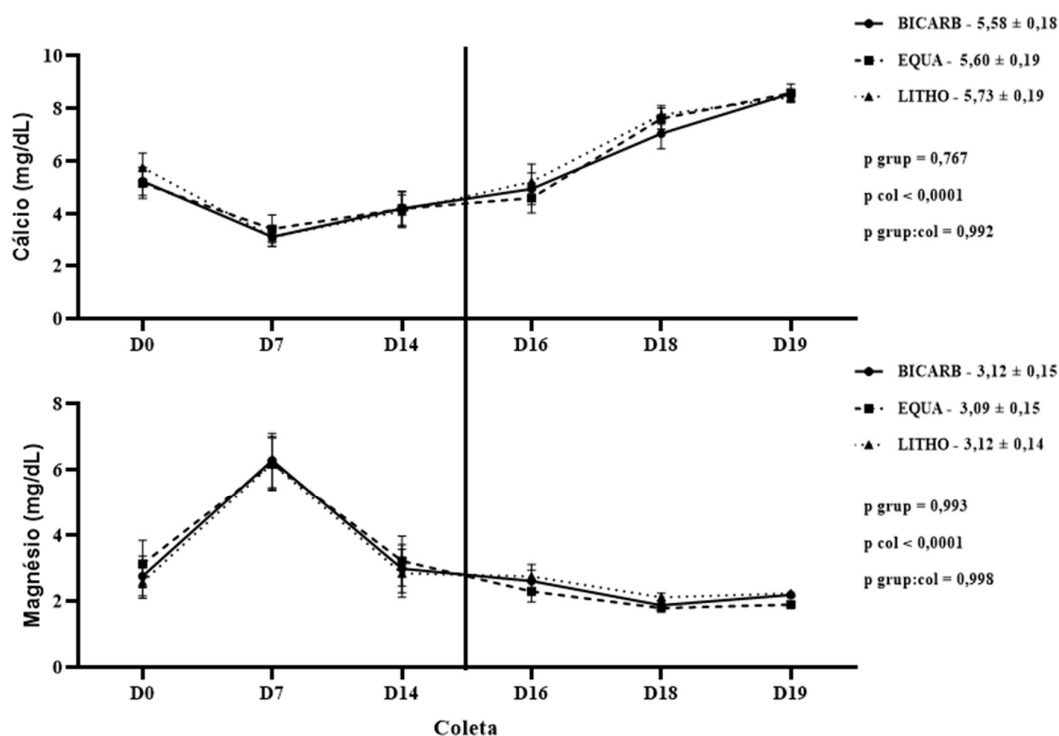
Na figura 1, estão expressos os valores encontrados para os metabólitos que representam o perfil energético. Como era esperado, todos os metabólitos avaliados apresentaram uma variação ($p < 0,0001$) ao longo dos dias, o que demonstra que a modificação no padrão da dieta proposta pelo estudo foi capaz de fornecer mais energia aos ovinos e, até certo ponto reduzir a utilização de suas reservas. Os níveis glicêmicos no período de desafio aumentaram, em relação ao período pré-desafio para todos os três tratamentos. Para Goularte et al., (2011), quanto maior for a presença de concentrado na dieta, maior será a massa microbiana ruminal de produtores de propionato, elevando, consequentemente maior concentração de glicose no sangue. Ainda, durante o período pré-desafio e durante o desafio mantiveram-se dentro dos parâmetros fisiológicos. Ainda, não houve interação ($p > 0,05$) entre os tratamentos e os dias ao longo do experimento, demonstrando que o metabolismo energético, embora os animais recebendo uma modificação drástica na composição dietética, não foi capaz de alterar em um pequeno espaço de tempo de acordo com os três tratamentos recebidos. No mesmo sentido, os três tamponantes utilizados foram capazes de não ultrapassar os parâmetros fisiológicos aceitáveis para o perfil energético. Apenas uma tendência ($p = 0,08$) de maior mobilização de AGNE foi observada no período de desafio mais direcionada aumentos nos grupos LITHO e EQUA. Porém, esta mobilização pode estar mais relacionada propriamente a fatores externos de estresse, do que propriamente apenas das dietas e o uso dos tamponantes.



*abreviaturas: BICARB: Grupo tratamento Bicarbonato; EQUA: Grupo tratamento Equalizer®; LITHO: Grupo tratamento LithoNutri®.

Figura 1: Concentração média do perfil energético sanguíneo em cada tratamento durante o período pré-desafio e no período de desafio da dieta dos ovinos.

Na figura 2, encontramos os valores expressos das médias para o perfil mineral. Não houve alteração estatística no perfil mineral durante ambas as fases do estudo. Os valores encontrados apresentam-se dentro dos níveis fisiológicos aceitáveis, preconizados por Kaneko et. al., (2008).



*abreviaturas: BICARB: Grupo tratamento Bicarbonato; EQUA: Grupo tratamento Equalizer®; LITHO: Grupo tratamento LithoNutri®.

Figura 2: Concentração média do perfil mineral em cada tratamento durante o pré-desafio e no período de desafio da dieta dos ovinos.

Já na tabela 2, a atividade da enzima paraoxanase-1 que não apresentou diminuição nas concentrações séricas.

Tabela 2: Concentração média do perfil de marcadores inflamatórios em cada tratamento durante o pré-desafio e no período de desafio da dieta dos ovinos.

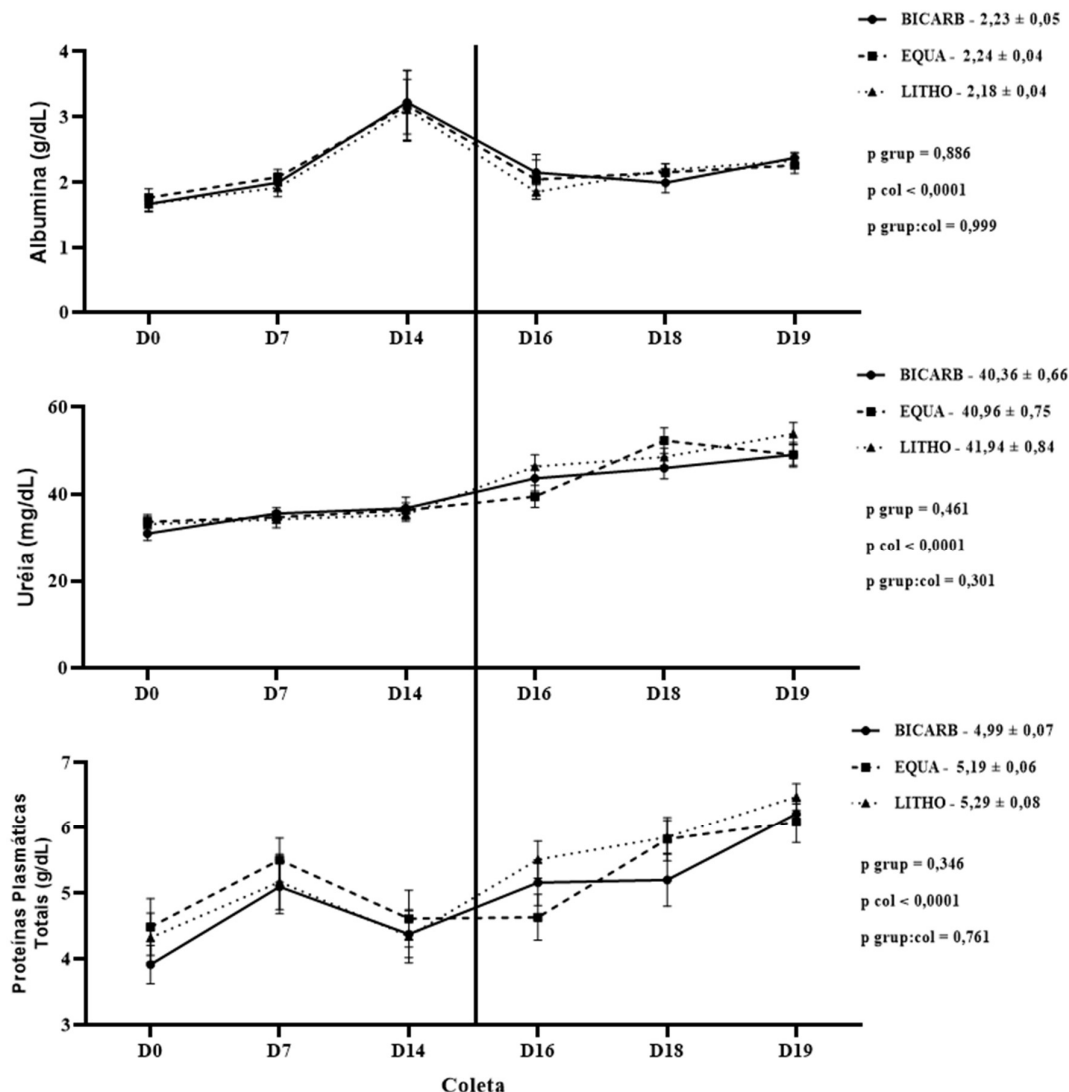
PERÍODO	GRUPO	METABÓLITO
		atividade de PON1 (U/mL)
PERÍODO PRÉ-DESAFIO	BICARB	180,04 ± 1,7
PERÍODO DESAFIO	BICARB	166,67 ± 1,7
PERÍODO PRÉ-DESAFIO	EQUA	159,45 ± 1,2
PERÍODO DESAFIO	EQUA	156,48 ± 1,2
PERÍODO PRÉ-DESAFIO	LITHO	160,28 ± 1,5
PERÍODO DESAFIO	LITHO	165,84 ± 1,5
valor de p	grupo	0,180
valor de p	coleta	0,005
valor de p	interação	0,998

*abreviaturas: PON1 (paraoxanase).

*legenda: Média das coletas nos períodos experimentais, ao lado do erro para cada tratamento.

Abaixo, na figura 3, observa-se que a inclusão dos tamponantes não afetou os níveis de PPT, albumina e ureia ($p < 0,05$). As médias para PPT e albumina corroboram com Marques (2007) que obteve média de 2,78g/dL para albumina, em borregos castrados e

confinados e média para PPT abaixo dos padrões. Para o metabólito uréia, neste experimento foram constatadas que para os três tratamentos, nos dois períodos avaliados, os valores estiveram dentro do intervalo considerado normal, que segundo Kaneko et al. (2008) variam entre 32-60mg/dL. Como a amônia de origem alimentar foi provavelmente baixa, este aumento nas concentrações metabólicas da ureia, tanto no pré-desafio quanto no desafio, pode ser explicado pela mobilização de aminoácidos para geração de energia no animal e, também, pela degradação de proteínas microbianas, o que também foi evidenciado por Rule et al (1985). Estes parâmetros representam um indicativo do metabolismo proteico dos animais, e apesar deste resultado, quando comparado a literatura, os animais de todos os tratamentos apresentaram níveis séricos adequados para os padrões da espécie.



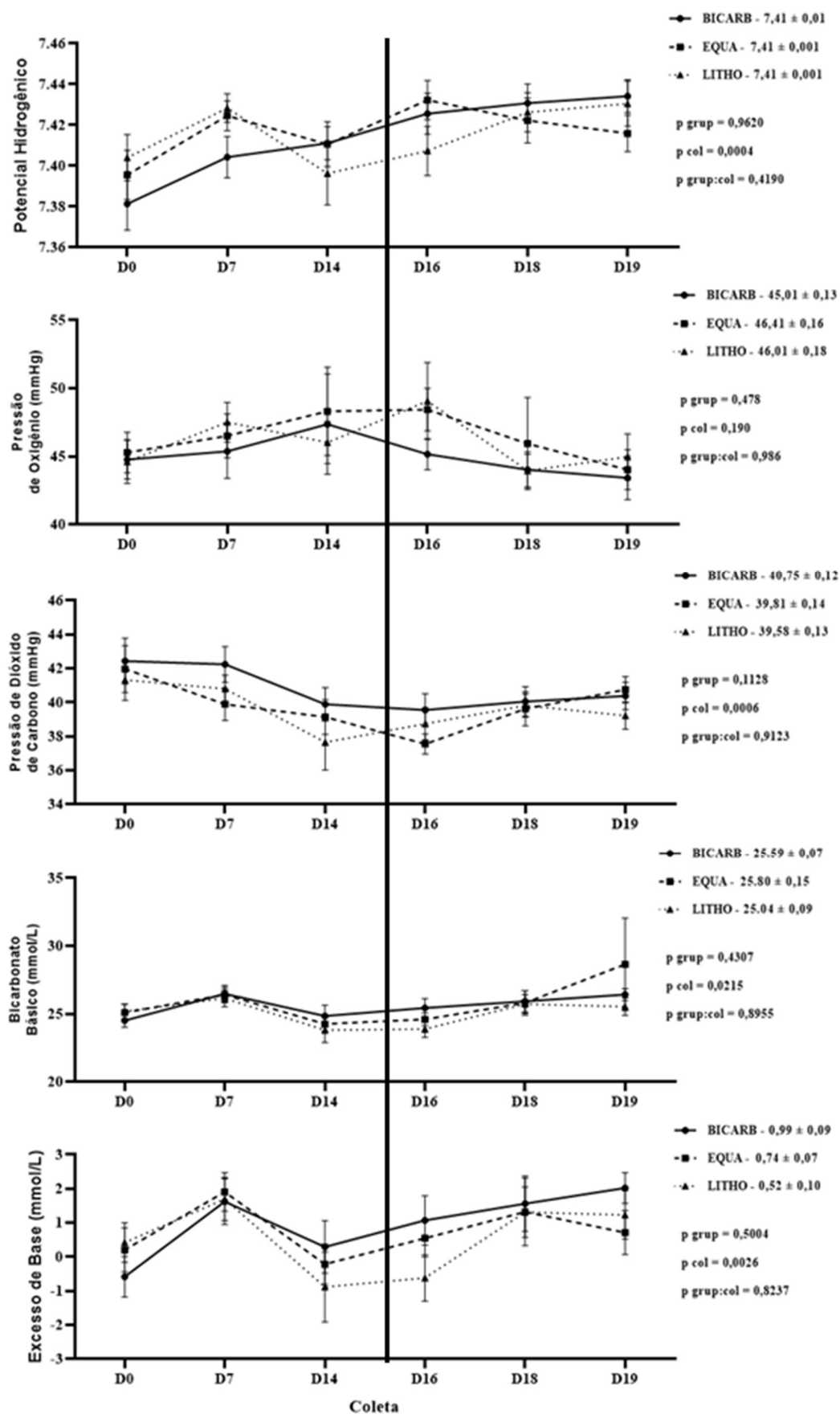
*abreviaturas: BICARB: Grupo tratamento Bicarbonato; EQUA: Grupo tratamento Equalizer®; LITHO: Grupo tratamento LithoNutri®.

Figura 3: Concentração média do perfil proteico em cada tratamento durante o pré-desafio e no período de desafio da dieta dos ovinos.

Ao avaliar os resultados obtidos através da hemogasometria (Figura 4), os valores médios de pH sanguíneo dos ovinos apresentaram pouca variação sempre girando ao redor de 7,4. Houve novamente efeito ($p < 0,001$) de período, demonstrando que quando houve a modificação na dieta, de certa forma também houve alteração no equilíbrio

acidobásico sanguíneo. Contudo, com relação aos tratamentos, não houve maiores diferenças. O pH do sangue é altamente tamponado e mantido dentro das variações muito estreitas pelos rins, função respiratória e sistemas tampão (BLOCK, 1990). Como exemplo em ruminantes, em novilhos, o pH sanguíneo se encontra na faixa de 7,31 a 7,53, mantidos pelos mecanismos homeostáticos do corpo. Já em ovinos, essa variação pode ser 7,28 e 7,42 segundo Kaneko et al. (2008).

A mesma situação se repete quanto as concentrações de PO_2 , uma vez que os valores encontrados para os tratamentos não diferem estatisticamente, o tratamento EQUA demonstrou média maior antes do período de desafio, destoando dos outros tratamentos, mas ainda, todos os tratamentos apresentaram valores abaixo dos considerados normais segundo Kaneko et al. (2008). O HCO_3 é o tamponante mais abundante no plasma sanguíneo e é um indicador da capacidade de tamponagem do sangue, é o componente metabólico do equilíbrio acidobásico, neste estudo apresentou valores dentro dos padrões. O BE refere-se à concentração de bases que podem ser tituladas excluindo a concentração de ácidos que podem também ser titulados no fluido intracelular. Neste caso, todos os tratamentos apresentaram valores dentro da média prescrita como normal. Por fim, a análise da hegasométrica do sangue é também um método com relevância de diagnóstico nestes casos e que acaba por ser menos invasivo que a análise do pH ruminal. Uma vez que existe um acumular de ácido no rúmen, também é de esperar que este desequilíbrio ácido-base exista a nível sanguíneo. O pressuposto é que existe uma ligeira diminuição do pH do sangue, junto com uma diminuição do bicarbonato e um excesso de base durante casos de acidose subaguda (Abdela 2016).



*abreviaturas: BICARB: Grupo tratamento Bicarbonato; EQUA: Grupo tratamento Equalizer®; LITHO: Grupo tratamento LithoNutri®.

Figura 4: Concentração média do equilíbrio acidobásico em cada tratamento durante o pré-desafio e no período de desafio da dieta dos ovinos.

Por isso, importante saber monitorar o controle metabólico e conhecer tanto as causas que levam ao surgimento dos problemas, como também as formas de prevenção e de identificação de sinais clínicos apresentados pelos ruminantes. Nos ruminantes, a manutenção da concentração de glicose plasmática se relaciona a estabilidade glicêmica, visto que os carboidratos da dieta são quase totalmente utilizados no rúmen (Gressler et al., 2015).

É bem conhecido que o regime de alimentação pode melhorar a eficiência alimentar em ruminantes; no entanto, há chances de ocorrência de alguns distúrbios ruminais (Alhidary *et al.*, 2016). No passado, alguns estudos relataram o impacto positivo da suplementação de tamponantes no desempenho animal e no ambiente ruminal em ruminantes (Cruywagen *et al.*, 2015 ; Wu *et al.*, 2015); no entanto, os efeitos comparativos de diferentes tampões em pequenos ruminantes não foram totalmente investigados até então.

Conclusão

Com este estudo, foi possível notar que o uso de diferentes tamponantes, a nível de prevenção de distúrbios metabólicos relacionados ao equilíbrio acidobásico e consequências no metabolismo geral dos animais foram eficientes e não apresentaram anormalidades nos valores de referência para as análises sanguíneas. Ainda, nota-se que não houve evidências para determinar qual o melhor produto comercial a ser utilizado, pois, depende muito da dieta fornecida e de tantos outros fatores intrínsecos a serem observados.

Aprovação ética

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética de Experimentação Animal (CEEAA) da Universidade Federal de Pelotas (nº 009653/2021-45).

Referências

- A. Bach, I. Guasch, G. Elcoso, J. Duclos, H. Khelil-Arfa.; Modulation of rumen pH by sodium bicarbonate and a blend of different sources of magnesium oxide in lactating dairy cows submitted to a concentrate challenge. *J. Dairy Sci.*, 101 (2018), pp. 9777-9788, 10.3168/jds.2017-14353.
- Abdela, Nejash. 2016. "Sub-Acute Ruminant Acidosis (SARA) and Its Consequence in Dairy Cattle: A Review of Past and Recent Research at Global Prospective." *Achievements in the Life Sciences* 10(2):187–96.
- Alhidary, et al. 2016^a | Alhidary , MM Abdelrahman , AH Alyemni , RU Khan , AH Al-Mubarak , HH Albaadani. Características do rúmen de cordeiros Naemi: características morfológicas em resposta ao regime alimentar alterado *Acta Histochemica* , 118 (2016) , pp . 331-337.
- Bedoya, O.; Arenas, F.; Rosero, R.; Posada, S. Efecto de la suplementacion de ensilajes sobre perfiles metabolicos en cabras lactantes, *Journal of Agriculture and Animal Science*, California, v. 1, n. 1, p. 26 – 37, 2013.

Block, E. The response to the balance of major minerals by dairy cow. Dairy Science Abstracts, v.52, p. 12, 1990.

Campos A.G.S. Estudo hematológico e proteinograma sanguíneo e do colostro de ovelhas suplementadas com propilenoglicol e com cobalto associado à vitamina b12 e de suas respectivas crias [tese]. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco; 2014.

Chavatte, P.M.; Pepys, M.B.; Roberts, B.; Ousey, J.C.; Mcgladdery, A.J.; Rosedale, P.D. Measurement of serum amyloid A protein as an aid to differential diagnosis of infection in newborn foals. Equine Infectious Diseases VI. p.33-38, 1992.

Cruywagen, C.W.; S.Taylor.; M.M.Beya.; T.Calitz. The effect of buffering dairy cow diets with limestone, calcareous marine algae, or sodium bicarbonate on ruminal pH profiles, production responses, and rumen fermentation. Journal of Dairy Science Volume 98, Issue 8, August 2015, Pages 5506-5514.

Cruywagen, C. W. et al. The effect of buffering dairy cow diets with limestone, calcareous marine algae, or sodium bicarbonate on ruminal pH profiles, production responses, and rumen fermentation. Journal of dairy science, v. 98, n. 8, p. 5506- 5514, 2015.

Dias, G.T.M. Granulados bioclásticos: algas calcárias. Brazilian Journal of Geophysics, São Paulo, v.18, n.3, p.1-19, p. 307-318, 2000.

Dilorenzo, N. 2004. Effects of feeding polyclonal antibody preparations against rumen starch and lactic-fermenting bacteria on target bacteria populations and steer performance. Saint Paul, Minnesota, USA: University of Minnesota, 34 2004, 101p. Master thesis submitted to the faculty of the graduate school of the University of Minnesota.

Galyean, M.L.; Rivera, J.D. Nutritionally related disorders affecting feedlot cattle. Can. J. Anim. Sci. 83:13-20. 2003.

González, F. H. D.; Silva, S. C. Introdução à bioquímica clínica veterinária. 2 ed. Porto Alegre, Editora da UFRGS, 364p., 2006.

González, F. H. D.; Scheffer, J. F. S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica metabólica e nutricional. Avaliação metabólica nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais (sangue, leite e urina). In: Congresso Nacional de Medicina Veterinária, 29., 2002, Gramado-RS, Brasil. Anais... Gramado-RS: SBMV e SOVERGS, 2002. P.5-17.

González, F. H. D. Doze leituras em bioquímica clínica veterinária. 2018.

Goularte SR, Ítavo LCV, Santos GT, Ítavo CCBF, Oliveira LCS, Favaro SP, Dias AM, Torres Junior RAA, Bittar CMM. Ácidos graxos voláteis no rúmen de vacas alimentadas com diferentes teores de concentrado na dieta. Arq Bras Med Vet Zootec. 2011; 63 (6): 1479-1486.

Gordon H.M. & Whitlock H.V. 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. J. Counc. Sci. Ind. Res., Australia, 12:50-52.

Herd, T.H. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. Vet Clin North Am Food Anim Pract. v.16, n.2, p.215-30, 2000.

Humer, E.; Petri, R.M.; Aschenbach, J.R.; Bradford, B.J.; Penner, G.B.; Tafaj, M.; Sudekum, K.H.; Zebeli, Q. Invited review: Practical feeding management recommendations to mitigate the risk of subacute ruminal acidosis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v.101, n.2, p.872-888, 2018.

Jackson, J. A., Hopkins, D. M., Xin, Z. Influence of cation-anion balance on feed intake, body weight gain, and humoral response of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, v. 75, p. 1281, 1992.

Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical biochemistry of domestic animals. 6th ed. San Diego: Academic Press; 2008.

Lima, E. H. F., Mendonça, C. L., Cajueiro, J. F. P., Carvalho, C. C. D., Soares, P. C., Souto, R. J. C., Drummond, A. R. F., & Afonso, J. A. B. (2016). Efeito da monensina sódica sobre o perfil metabólico de ovelhas antes e após o parto. *Ciência Animal Brasileira*, 17(1):105-118.

Mangueira, J. M. Perfil metabólico de ovinos Santa Inês submetidos a dietas contendo diferentes níveis de feno de Jurema Preta (*Mimosa tenuiflora* Wild.) e Faveleira (*Cnidioscolus phyllacanthus* Pax e K. Hoffm.) no semiárido paraibano. Monografia (graduação) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos, 2008.

Marques, K. S. 2007. Perfil metabólico de cordeiros em pastejo submetidos a diferentes ambientes e suplementações alimentares no semi-árido paraibano. Patos: Universidade Federal de Campina Grande. 44f. Dissertação Mestrado. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/9124>.

Martinelli, N.; Consoli, L.; Girelli, D.; Grison, E.; Corrocher, R.; Olivieri, O. Paraoxonases: ancient substrate hunters and their evolving role in ischemic heart disease. *Advances in Clinical Chemistry*, v.59, p.65-100, 2013.

Melo, T.V.; Moura, A.M.A. Utilização da farinha de algas calcáreas na alimentação animal. *Archivos de Zootecnia*, v.58, p.99-107, 2009. DIAS, G.T.M. Granulados bioclásticos: algas calcárias. *Brazilian Journal of Geophysics*, São Paulo, v.18, n.3, p.1-19, 2000.

Neville; E.W.; A.G.Fahey.; V.P.Gath.; B.P.Molloy.; S.J.Taylor.; F.J.Mulligan.; The effect of calcareous marine algae, with or without marine magnesium oxide, and sodium bicarbonate on rumen pH and milk production in mid-lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science* Volume 102, Issue 9, September 2019, Pages 8027-8039.

Ortolani E.L. 2003. Diagnóstico e tratamento de alterações ácido-básicas em ruminantes. *Anais 1º Simpósio de Patologia Clínica Veterinária do Rio Grande do Sul*, Porto Alegre, p.15-29.

Owens, F.N.; Secrist, D.S.; Hill, W.J. et al. Acidosis in cattle: A review. *J. Anim. Sci.* 76:275-286, 1998.

Payne, J.M.; Payne, S. The metabolic profile. 1ed. Oxford: Oxford University Press. 1987. 179p.

Peixoto, L. A. O.; Osório, M. T. M. Perfil metabólico proteico e energético na avaliação do desempenho produtivo em ruminantes. *Revista Brasileira Agrociência*, Pelotas, v.13, n.3, p. 299-304, jul-set, 2007.

Rabassa, V. R.; Tabeleão, V. C.; Schneider, A. et al. Avaliação metabólica de ovelhas de cria mantidas em campo Nativo durante o período de outono/inverno. *Revista Brasileira Agrociência*, Pelotas, v.15, n.1-4, p.125-128, 2009.

Riccó, D. Indicadores sangüíneos e corporais de avaliação metabólico-nutricional em ruminantes. In: Seminário apresentado na disciplina bioquímica do tecido animal do Programa de Pós- Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2004.

Rossi, G.; Giordano, A.; Pezzia, F.; Kjølgaard-Hansen, M.; Paltrinieri, S. Serum paraoxonase 1 activity in dogs: preanalytical and analytical factors and correlation with C-reactive protein and alpha-2-globulin. *Vet Clin Pathol*, v. 42, p. 329–341, 2013.

Ruggerone, B.; Bonelli, F.; Giordano, A.; Nocera, I.; Paltrinieri, S.; Sgorbini, M. Validation of a Paraoxon-based method for measurement of Paraoxonase (PON-1) Activity and establishment of RI in horses. *International Journal of Health & Animal Science Food Safety, Veterinary Clinical Pathology*, v. 47, p. 69-77, 2018.

Rule DC, Beitz DC, Boer G, Lyle RR, Trenkle AH, Young JW. Changes in hormone metabolite concentrations in plasma of steers during a prolonged fast. *Journal of Animal Science*. 1985; 61 (4): 868-875.

Schlegel P.; Gutzwiller A. Effect of dietary calcium level and source on mineral utilisation by piglets fed diets containing exogenous phytase. *Journal of Animal Physiology and animal nutrition*, vol 101, issue 5, page e165-e174, 2017.

Schrader, C.; Rimbach, G. Determinants of paraoxonase 1 status: genes, drugs and nutrition. *Current Medicinal Chemistry*, v.18, p.5624-5643, 2011.

Schlumbohm, C.; Harmeyer, J. Twin-pregnancy increases susceptibility of ewes to hypoglycaemic stress and pregnancy toxaemia. *Res.Vet. Sci.* v.84, p. 286-299, 2008.

Taddei. S. R. A. et al. Effect of Lithothamnium sp and calcium supplements in strain- and infection-induced bone resorption. *The Angle Orthodontist*: novembro de 2014, vol. 84, n ° 6, pp. 980-988.

Valadares Filho, S. C.; Pina, D. S. Fermentação Ruminal. IN: *Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal: Funep, 583p.2006.

Wu, Z, Jk Bernard , SJ Taylor. Efeito da alimentação de algas marinhas calcárias para vacas holandesas pré-parto ou pós-parto sobre metabólitos séricos e desempenho, *Journal of Dairy Science* , 98 (2015) , pp . 4629-4639.

6 CONCLUSÕES

A utilização de aditivos tamponantes na dieta de ruminantes é uma prática que otimiza o desempenho, controlando ou modificando o ambiente ruminal. Os aditivos tamponantes apresentados neste estudo, foram eficazes no controle do pH ruminal, diminuindo os efeitos negativos do consumo de dietas com alto amido, assim como também não apresentaram modificações nos parâmetros sanguíneos.

Conclui-se então que as novas tecnologias visando maior e melhor produtividade dos animais, com a utilização de aditivos à dieta tem ganhado destaque incorporando e melhorando a produção dos animais. Assim, apesar dos tratamentos não apresentarem valores estatísticos significativos, o manejo alimentar de ovinos confinados exige uma certa atenção e o uso de aditivos tamponantes ainda deve ser estudado. Isso requer mais pesquisas para esclarecer os níveis eficazes da inclusão de tamponantes sobre dietas desafiadoras.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo permitiu concluir que os parâmetros bioquímicos sanguíneos, com o incremento do uso de aditivos tamponantes não foram diretamente afetados, ainda que o estudo tenha induzido uma acidose nos animais. Sendo assim, comprovou-se a eficiência de ambos os tratamentos testados. As doenças decorrentes do inadequado manejo nutricional, como é o caso da acidose, causam grande impacto econômico dentro dos rebanhos. As análises sanguíneas são relativamente fáceis de realizar, porém a forma de coleta bem como a forma e tempo de armazenamento da amostra influenciam diretamente no resultado, assim como a utilização de aditivos, que podem alterar os parâmetros.

8 REFERÊNCIAS

A. Bach, I. Guasch, G. Elcoso, J. Duclos, H. Khelil-Arfa.; Modulation of rumen pH by sodium bicarbonate and a blend of different sources of magnesium oxide in lactating dairy cows submitted to a concentrate challenge. *J. Dairy Sci.*, 101 (2018), pp. 9777-9788, 10.3168/jds.2017-14353.

Bedoya, O.; Arenas, F.; Rosero, R.; Posada, S. Efecto De La Suplementacion de ensilajes sobre perfiles metabolicos en cabras lactantes, *Journal of Agriculture and Animal Science, California*, v. 1, n. 1, p. 26 – 37, 2013.

Campos A.G.S. Estudo hematológico e proteinograma sanguíneo e do colostro de ovelhas suplementadas com propilenoglicol e com cobalto associado à vitamina b12 e de suas respectivas crias [tese]. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco; 2014.

Chavatte, P.M.; Pepys, M.B.; Roberts, B.; Ousey, J.C.; Mcgladdery, A.J.; Rossdale, P.D. Measurement of serum amyloid A protein as an aid to differential diagnosis of infection in newborn foals. *Equine Infectious Diseases VI*. p.33-38, 1992.

Costa, L. G. et al. Modulation of paraoxonase (PON1) activity. *Biochemical Pharmacology*. 69 541–550, 2005.

Cruywagen, C.W.; S.Taylor.; M.M.Beya.; T.Calitz. The effect of buffering dairy cow diets with limestone, calcareous marine algae, or sodium bicarbonate on ruminal pH profiles, production responses, and rumen fermentation. *Journal of Dairy Science* Volume 98, Issue 8, August 2015, Pages 5506-5514.

Den Hartog, L. A., Schamp, T. A. G., Mors, R. A. B. The effect of dietary electrolyte balance on blood parameters and the performance of veal calves. *Livestock Production Science*, v. 21, p. 213, 1989.

Dias, G.T.M. Granulados bioclásticos: algas calcárias. *Brazilian Journal of Geophysics*, São Paulo, v.18, n.3, p.1-19, p. 307-318, 2000.

Dilorenzo, N. 2004. Effects of feeding polyclonal antibody preparations against rumen starch and lactic-fermenting bacteria on target bacteria populations and steer performance. Saint Paul, Minnesota, USA: University of Minnesota, 34 2004, 101p. Master thesis submitted to the faculty of the graduate school of the University of Minnesota.

González, F. H. D.; Silva, S. C. Introdução à bioquímica clínica veterinária. 2 ed. Porto Alegre, Editora da UFRGS, 364p., 2006.

Galyean, M.L.; Rivera, J.D. Nutritionally related disorders affecting feedlot cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 83:13-20. 2003.

González, F. H. D.; Scheffer, J. F. S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica metabólica e nutricional. Avaliação metabólica nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais (sangue, leite e urina). In: Congresso Nacional de Medicina Veterinária, 29., 2002, Gramado-RS, Brasil. Anais... Gramado-RS: SBMV e SOVERGS, 2002. P.5-17.

González, F. H. D. Doze leituras em bioquímica clínica veterinária. 2018.

Gordon H.M. & Whitlock H.V. 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *J. Coun. Sci. Ind. Res.*, Australia, 12:50-52

Herd, T.H. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* v.16, n.2, p.215-30, 2000

Humer, E.; Petri, R.M.; Aschenbach, J.R.; Bradford, B.J.; Penner, G.B.; Tafaj, M.; Sudekum, K.H.; Zebeli, Q. Invited review: Practical feeding management recommendations to mitigate the risk of subacute ruminal acidosis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v.101, n.2, p.872-888, 2018

Jackson, J. A., Hopkins, D. M., Xin, Z. Influence of cation-anion balance on feed intake, body weight gain, and humoral response of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, v. 75, p. 1281, 1992.

Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical biochemistry of domestic animals. 6th ed. San Diego: Academic Press; 2008.

Leal, M.L.R.; Mori.; Ortolani, E.L. Estudo da capacidade alcalinizante de tampões metabolizáveis em bovinos sadios. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.59, n.4, p.965-970, 2007.

Lima, E. H. F., Mendonça, C. L., Cajueiro, J. F. P., Carvalho, C. C. D., Soares, P. C., Souto, R. J. C., Drummond, A. R. F., & Afonso, J. A. B. (2016). Efeito da monensina sódica sobre o perfil metabólico de ovelhas antes e após o parto. *Ciência Animal Brasileira*, 17(1):105-118.

Mangueira, J. M. Perfil metabólico de ovinos Santa Inês submetidos a dietas contendo diferentes níveis de feno de Jurema Preta (*Mimosa tenuiflora* Wild.) e Faveleira (*Cnidocolus phyllacanthus* Pax e K. Hoffm.) no semiárido paraibano. Monografia (graduação) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos, 2008.

Martinelli, N.; Consoli, L.; Girelli, D.; Grison, E.; Corrocher, R.; Olivieri, O. Paraoxonases: ancient substrate hunters and their evolving role in ischemic heart disease. *Advances in Clinical Chemistry*, v.59, p.65-100, 2013

Melo, T.V.; Moura, A.M.A. Utilização da farinha de algas calcáreas na alimentação animal. *Archivos de Zootecnia*, v.58, p.99-107, 2009. DIAS, G.T.M. Granulados bioclásticos: algas calcárias. *Brazilian Journal of Geophysics*, São Paulo, v.18, n.3, p.1-19, 2000.

Neville; E.W.; A.G.Fahey.; V.P.Gath.; B.P.Molloy.; S.J.Taylor.; F.J.Mulligan.; The effect of calcareous marine algae, with or without marine magnesium oxide, and sodium bicarbonate on rumen pH and milk production in mid-lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science* Volume 102, Issue 9, September 2019, Pages 8027-8039.

Ortolani E.L. 2003. Diagnóstico e tratamento de alterações ácido-básicas em ruminantes. *Anais 1º Simpósio de Patologia Clínica Veterinária do Rio Grande do Sul*, Porto Alegre, p.15-29.

Owens, F.N.; Secrist, D.S.; Hill, W.J. et al. Acidosis in cattle: A review. *J. Anim. Sci.* 76:275-286, 1998.

Payne, J.M.; Payne, S. *The metabolic profile*. 1ed. Oxford: Oxford University Press. 1987. 179p.

Peixoto, L. A. O.; Osório, M. T. M. Perfil metabólico proteico e energético na avaliação do desempenho produtivo em ruminantes. *Revista Brasileira Agrociência*, Pelotas, v.13, n.3, p. 299-304, jul-set, 2007.

Riccó, D. Indicadores sanguíneos e corporais de avaliação metabólico-nutricional em ruminantes. In: *Seminário apresentado na disciplina bioquímica do tecido animal do Programa de Pós- Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul*, 2004.

Rossi, G.; Giordano, A.; Pezzia, F.; Kjelgaard-Hansen, M.; Paltrinieri, S. Serum paraoxonase 1 activity in dogs: preanalytical and analytical factors and correlation with C-reactive protein and alpha-2-globulin. *Vet Clin Pathol*, v. 42, p. 329–341, 2013.

Ruggerone, B.; Bonelli, F.; Giordano, A.; Nocera, I.; Paltrinieri, S.; Sgorbini, M. Validation of a Paraoxon-based method for measurement of Paraoxonase (PON-1) Activity and establishment of RI in horses. *International Journal of Health & Animal Science Food Safety, Veterinary Clinical Pathology*, v. 47, p. 69-77, 2018.

Rabassa, V. R.; Tabeleão, V. C.; Schneider, A. et al. Avaliação metabólica de ovelhas de cria mantidas em campo Nativo durante o período de outono/inverno. *Revista Brasileira Agrociência*, Pelotas, v.15, n.1-4, p.125-128, 2009.

Schlegel P.; Gutzwiller A. Effect of dietary calcium level and source on mineral utilisation by piglets fed diets containing exogenous phytase. *Journal of Animal Physiology and animal nutrition*, vol 101, issue 5, page e165-e174, 2017.

Schlumbohm, C.; Harmeyer, J. Twin-pregnancy increases susceptibility of ewes to hypoglycaemic stress and pregnancy toxemia. *Res.Vet. Sci.* v.84, p. 286-299, 2008.

Schrader, C.; Rimbach, G. Determinants of paraoxonase 1 status: genes, drugs and nutrition. *Current Medicinal Chemistry*, v.18, p.5624-5643, 2011.

Taddei, S. R. A. et al. Effect of Lithothamnium sp and calcium supplements in strain- and infection-induced bone resorption. *The Angle Orthodontist*: novembro de 2014, vol. 84, n ° 6, pp. 980-988.

Valadares Filho, S. C.; Pina, D. S. Fermentação Ruminal. IN: *Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal: Funep, 583p.2006

Wu, Z, Jk Bernard , Sj Taylor. Efeito da alimentação de algas marinhas calcárias para vacas holandesas pré-parto ou pós-parto sobre metabólitos séricos e desempenho, *Journal of Dairy Science* , 98 (2015) , pp . 4629-4639.