

JOÃO MIGUEL ANTUNES VIEIRA

ACIDOSE RUMINAL

**PREVALÊNCIA E PRINCIPAIS CAUSAS EM SISTEMAS DE
ENGORDA INTENSIVA DE BOVINOS**

Orientador: Professora Doutora Sofia Van Harten

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2017

JOÃO MIGUEL ANTUNES VIEIRA

ACIDOSE RUMINAL

**PREVALÊNCIA E PRINCIPAIS CAUSAS EM SISTEMAS DE
ENGORDA INTENSIVA DE BOVINOS**

Dissertação defendida em prova pública na Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias no dia 19 de junho de 2017, perante o júri, nomeado por despacho nº 184/2017, de 16 de junho de 2017, com a seguinte composição:

Presidente: Prof^a Doutora Laurentina Pedroso
Arguente: Prof. Doutor João Cannas da Silva
Orientador: Prof^a Doutora Sofia van Harten
Vogal: Prof^a Doutora Raquel Matos

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2017

Epígrafe

A diferença entre o possível e o impossível está no grau da nossa determinação.

Tommy Lasorda

Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar à minha esposa Ana Lúcia Nobre e ao meu filho Daniel por sempre me apoiarem no meu percurso académico e profissional e por servirem como fonte de inspiração e motivação para que eu me esforce sempre um pouco mais.

Um enorme agradecimento vai também para o meu pai Álvaro Vieira por me ter ajudado a crescer a nível pessoal e profissional, à minha mãe Goretti Vieira e à minha irmã Rita Vieira por sempre me terem apoiado.

Aos meus colegas de faculdade em especial à Lúcia Serras e ao Hélio Correia com quem mais trabalhei durante os anos de faculdade, mas também ao Parrinha, ao Guigas, ao Luís Henriques, ao João Catarino ao Mário Nóbrega e a todos os colegas que trilharam este caminho comigo.

Ao Dr. Pedro Lima e toda a equipa da Serbuvet por tornarem o estágio curricular uma experiência profissional bastante enriquecedora.

À Professora Doutora Sofia Van Harten por me orientar nesta dissertação e à professora Raquel Matos por me ajudar com o tratamento estatístico dos dados.

A todo o pessoal que me ajudou nas visitas aos matadouros, em especial a engenheira Nélia Ferreira do matadouro Santacarnes, ao Dr. Eurico Esteves e ao Sr. Manuel Lucas do matadouro regional de Mafra e ao Sr. Vítor do Matadouro Stec.

À empresa D.I.N. e ao engenheiro José Silvestre por recolherem e procederem à análise das amostras de ração das várias explorações.

Um grande agradecimento vai também para os proprietários das explorações onde foi conduzido este estudo, por me terem facultado todos os dados que permitiram a sua realização.

Obrigado

Resumo

A acidose ruminal é uma doença do foro digestivo bastante frequente em sistemas de engorda intensiva (*feedlot*) de bovinos, levando a grandes quebras na performance dos animais. Trata-se de uma excessiva acumulação de ácido no rúmen que resulta de um desequilíbrio entre a sua produção, utilização e absorção. A gravidade desta doença está relacionada com a quantidade, frequência e duração da administração de dietas ricas em grão e pobres em fibra, podendo tratar-se de acidose aguda se houver acumulação de ácido láctico ou subaguda se houver acumulação de ácidos gordos voláteis.

O objetivo deste estudo foi identificar a prevalência de lesões ruminais causadas por acidose ruminal em 6 explorações de engorda intensiva e relacioná-las com as principais causas (alimentação e manejo). De maneira a atingir este objetivo foram analisados macroscopicamente em matadouro 218 rúmenes. A avaliação do manejo praticado nas várias explorações foi feita através de um inquérito e cada alimento foi analisado em laboratório para a quantificação dos teores de matéria seca, amido, proteína bruta, gordura bruta, celulose bruta, fibra neutro detergente e fibra ácido detergente.

No geral, foi encontrada uma elevada prevalência desta doença (65,6%), sendo que em termos de lesões ruminais, 47,41% dos animais analisados apresentavam lesões compatíveis com a forma subaguda da doença e 17,83% com a forma aguda. Foram também encontradas diferenças significativas nos resultados das várias explorações, o que poderá ser justificado pelas discrepâncias encontradas nas avaliações de manejo e alimentação.

Desta forma demonstrou-se que o problema das acidoses ruminais é uma realidade em explorações de engorda de bovinos. Identificou-se também o fato de existirem marcadas diferenças entre explorações e que estas se devem aos fatores alimentação e manejo.

Palavras-chave: Acidose ruminal; *Feedlot*, lesões ruminais.

Abstract

Ruminal acidosis is a common gastrointestinal disease in feedlot cattle, which can lead to poor performances. It is caused by an excessive accumulation of rumen acid resulting from an imbalance between its production, use and absorption. Its severity is related to the quantity, frequency and duration of administration of rich grain, poor in fibre diets and it may occur as an acute form, with accumulation of lactic acid or a subacute form with the accumulation of volatile fatty acids.

The objective of this study was to identify the prevalence of ruminal lesions caused by ruminal acidosis in 6 feedlot farms and relate them to the main causes, feeding and management. To achieve this objective 218 rumens were macroscopically evaluated in the slaughterhouse. An evaluation of the farms management was made through an inquire and feed was analysed regarding the contents of dry matter, starch, crude protein, crude fat, crude cellulose, neutral detergent fibre and acid detergent fibre.

Overall, a high prevalence of this disease was found (65,6%). Of all the animals analysed, 47.41% presented lesions compatible with the subacute form of the disease and 17.83% with the acute form.

Significant differences were also found in the results of the various farms, which may be justified by the discrepancies found in the management and feeding evaluations.

This way, it was demonstrated that the ruminal acidosis problem in feedlot cattle is a reality. It was also identified the fact that its prevalence may vary from farm to farm and that these variations depend on the factors feeding and management.

Keywords: Ruminal acidosis; *Feedlot*, Rumen lesions.

Lista de abreviaturas

ADF	Fibra ácido detergente
ADP	Adenosina difosfato
AGV	Ácidos gordos voláteis
ATP	Adenosina trifosfato
BVD	Diarreia viral bovina
CNF	Hidratos de carbono não fibrosos
CB	Cinza bruta
FDN	Fibra neutro detergente
FEDNA	Fundación española para el desarrollo de la nutrición animal
GMD	Ganho médio diário
IC	Índice de conversão
MG	Matéria gorda
mOm	Miliosmol
MS	Matéria seca
mV	Milivolt
NAD	Dinucleótido nicotamina e adenina
NADH	Dinucleótido nicotamina adenina e hidrogénio
NIR	Near infrared-spectroscopy
PKa	Constante de dissociação de um ácido
PB	Proteína bruta
RAGFAR	Reference advisory group on fermentative acidosis of ruminants
SARA	Acidose ruminal subaguda (Sub acute ruminal acidosis)
TMR	Mistura <i>unifeed</i> (Total mixed ration)

Índice geral

Agradecimentos	3
Resumo	4
Abstract	5
Capítulo I - Estágio curricular	11
1.1. Relatório de estágio	12
Capítulo II - Enquadramento teórico-concetual	15
2.1. Contextualização	16
2.2. Anatomia dos pré-estômagos	17
2.3. Fisiologia da digestão fermentativa em bovinos	17
2.3.1. Ecossistema microbiano	18
2.3.2. Formação de ácidos gordos voláteis	20
2.3.3. Motilidade reticulo-ruminal	21
2.3.4. Absorção de ácidos gordos voláteis	23
2.4. Acidose ruminal	24
2.4.1. Acidose ruminal sub-aguda	25
2.4.2. Acidose ruminal aguda	31
2.5. Fundamentos teóricos das técnicas utilizadas	37
2.6. Objetivos	38
Capítulo III – Materiais e métodos	39
3.1. Materiais	40
3.1.1. Caracterização das explorações	40
3.1.2. Amostragem	41
3.2. Métodos	41
3.2.1. Avaliação de órgãos em matadouro	41
3.2.2. Caracterização de manejo	42
3.2.3. Características da alimentação	43
3.2.4. Tratamento estatístico de dados	43
Capítulo IV - Resultados	44
4.1. Avaliação de órgãos em matadouro	45
4.1.1. Avaliação geral de órgãos	45
4.2. Avaliação de órgãos por exploração	45
4.3. Outros	49
4.4. Diferenças entre explorações	50
4.5. Resultados da avaliação da alimentação	52
4.6. Resultados da avaliação de manejo	53

Capítulo V - Discussão e conclusão	55
5.1. Discussão.....	56
5.1.1. Discussão de resultados gerais	56
5.1.2- Discussão de resultados por exploração	56
Conclusão	58
Bibliografia	59
Anexos	63

Índice de tabelas

Tabela 1 - Descrição das várias doenças abordadas durante o estágio por sistema e por frequência de ocorrência	13
Tabela 2 - Procedimentos cirúrgicos executados durante o estágio	14
Tabela 3 - Grupos de bactérias ruminais de acordo com o substrato fermentativo	20
Tabela 4 - Principais causas de acidose em <i>feedlot</i>	25
Tabela 5 - Principais diferenças entre acidose ruminal aguda e subaguda	36
Tabela 6 - Animais inspecionados por exploração	41
Tabela 7 - Resultados por exploração expressos em percentagem	45
Tabela 8 - Ranks médios para as 6 explorações calculados através do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis	51
Tabela 9 - Tabela pairwise comparisons identificando as diferenças entre explorações com significância abaixo de 5%	51
Tabela 10 - Resultados da avaliação da alimentação das diversas explorações expressos em (%)	52
Tabela 11 - Resultados da avaliação de alimentação com inclusão de palha expressos (%)	53
Tabela 12 - Resultados da avaliação de alimentação com inclusão de palha e ajustados a valores de matéria seca (%)	53
Tabela 13 - Resultados da avaliação de manejo das diversas explorações	53

Índice de figuras

Figura 1 - Proporção de ácidos gordos voláteis produzidos no rúmen em dietas ricas em fibra e amido	21
Figura 2 - Quadro clínico de acidose ruminal	28
Figura 3 - Fezes com bolhas (sinal clínico de acidose)	29
Figura 4 - Cascata de eventos que estão na origem da acidose ruminal	32
Figura 5 - Proporções de ácidos produzidos no rúmen quando o pH < 7	33
Figura 6 - Comparação de três classificações de papilas ruminais	42
Figura 7 - Representação gráfica de resultados da avaliação de rúmenes em matadouro ..	45
Figura 8 - Rúmen classificado como estadio 2, mucosa ruminal de cor escura com papilas mais pequenas que o normal e porções onde é visível a ausência de papilas	46
Figura 9 - Rúmen classificado como estadio 2, aglomerados de papilas ruminais de cor escura, com pequenas porções a exhibir sinais de inflamação	46
Figura 10 - Cicatriz ruminal em forma de estrela	47
Figura 11 - Foto de cicatrizes ruminais com comprometimento de toda a parede ruminal incluindo a serosa	47
Figura 12 - Diferença entre dois rúmenes classificados como estadio 3	47
Figura 13 - Comparação de dois rúmenes de dois animais provenientes da exploração D .	48
Figura 14 - Úlcera ruminal encontrada no rúmen proveniente da exploração E	48
Figura 15 - Exemplos de rúmenes de animais classificados como estadio 3 provenientes da exploração F	49
Figura 16 - Fezes líquidas com presença de bolhas, sinal compatível com acidose ruminal	49
Figura 17 - Porção de rúmen resultante de necropsia efetuada na exploração C	50

Capítulo I

Estágio curricular

1.1. Relatório de estágio

O estágio curricular decorreu durante seis meses e consistiu em acompanhar o Dr. José Pedro Lima, no exercício das suas funções como médico veterinário que integra a equipa da Serbuvet.

A Serbuvet é uma empresa que presta serviços de especialidade veterinária na área dos bovinos de aptidão leiteira e de carne. Possui uma vasta equipa de profissionais que dá apoio a explorações em variadas especialidades, tais como manejo reprodutivo, clínica e cirurgia, sanidade, qualidade do leite e nutrição.

Durante o estágio, em sistema de ambulatório, foram visitadas 27 explorações das quais 8 eram de aptidão carne e 19 de aptidão leiteira. A discriminação dos casos que foram acompanhados ao longo do estágio pode ser encontrada na tabela 1.

A área em que mais se atuou foi o manejo reprodutivo em vacas de leite. Os diagnósticos de gestação, rotina nas explorações de leite, foram feitos entre os 30 e os 45 dias pós inseminação em vacas e novilhas e antes da secagem das vacas, aos 45 a 60 dias antes do parto.

Simultaneamente foram também feitos exames ao sistema reprodutivo das vacas que se encontravam entre os 30 e 45 dias pós-parto, verificando-se o estado da involução uterina e a presença de metrites ou aderências uterinas. Nesta altura foram também diagnosticadas diversas patologias, metrites, quistos ováricos, fetos mumificados, urovagina e agenesia unilateral de corno uterino.

Na área de clínica médica foram diagnosticadas e tratadas várias doenças em diversos sistemas. Em termos de sistema locomotor foram efetuados vários recortes funcionais de cascos sendo, simultaneamente, diagnosticados vários problemas envolvendo as extremidades podais, tais como úlceras da sola, doença da linha branca, dermatite interdigital, tilomas e com menor frequência uma artrite séptica e uma luxação coxofemoral.

O segundo sistema onde ocorreram mais casos foi o respiratório, com predominância das pneumonias. Em vacas adultas e vitelas foram diagnosticadas e tratadas na totalidade 14 pneumonias.

Na parte gastrointestinal foram diagnosticados e tratados 4 casos de diarreias neonatais (doença mais prevalente). Foram também verificadas diarreias em vacas adultas com os diagnósticos diferenciais de salmonelose e paratuberculose. Para a prevenção de cetose foi também administrado um bolo ruminal de kexxtone®.

Em termos de glândula mamária, foram diagnosticados e tratados dois casos de mastite e um caso de laceração do teto. Foi feita uma avaliação exaustiva sobre a etiologia de mamites numa exploração.

Houve também oportunidade de executar a vacinação e desparasitação de todo o efetivo, segundo o plano profilático estabelecido, em três explorações.

Tabela 1 - Descrição das várias doenças abordadas durante o estágio, por sistema e por frequência de ocorrência

Sistema	Doenças por frequência de ocorrência
Sistema reprodutor	1. Metrites; 2. Quistos ováricos; 3. Fetos mumificados 4. Urovagina; 5. Agenesia unilateral de corno uterino.
Sistema locomotor	6. Ulceras da sola; 7. Dermatite interdigital; 8. Doença da linha branca; 9. Tilomas; 10. Artrite séptica; 11. Luxação coxofemural.
Sistema respiratório	1. Pneumonias
Sistema gastrointestinal	1. Diarreias neonatais 2. Salmonelose 3. Paratuberculose
Glândula mamária	1. Mastites; 2. Laceração de teto.
Sistema tegumentar	1. Tricofitíase (tinha)
Sangue	1. Anaplasmose 2. Hipocalcemia

Em termos de clínica cirúrgica, as intervenções executadas neste período de estágio encontram-se na tabela 2. Os casos mais frequentes foram a resolução de deslocamento de abomaso e prolapsos uterinos. Casos menos frequentes englobaram fratura tibial, drenagem de abscesso, cesariana, prolapso retal e laceração palpebral.

No campo da obstetrícia houve a necessidade de intervir em 5 partos distócicos.

Tabela 2 - Procedimentos cirúrgicos executados durante o estágio

Cirurgia	Nº de intervenções
Deslocamento de abomaso	8
Prolapso uterino	4
Drenagem de abscessos	2
Prolapso rectal	1
Cesariana	1
Laceração palpebral	1
Fratura tibial	1

Além dos casos já mencionados anteriormente, foi também observado um caso de hipocalcemia, dois de anaplasmosose e um de tricofitíase (tinha). Foram também realizadas durante o estágio duas eutanásias.

Capítulo II

Enquadramento teórico-concetual

2.1. Contextualização

As doenças do foro digestivo são a segunda maior causa de mortalidade e morbidade em sistemas de engorda intensiva, sendo a causa mais comum a acidose (também conhecida como sobrecarga de grão ou envenenamento por grão) (Hernandez *et al.*, 2014; Cockcroft, 2015).

Esta doença é causada pelo sobre consumo de hidratos de carbono rapidamente fermentescíveis, que resulta numa rápida produção e absorção de ácidos orgânicos (Nagaraja *et al.*, 1998). A severidade da acidose induzida nutricionalmente poderá variar de aguda, caracterizada por sinais clínicos evidentes e alterações fisiológicas, a subaguda ou crónica, em que os animais não exibem sinais, mas apresentam uma diminuição da ingestão de comida e uma redução na sua performance produtiva (Goad *et al.*, 1998).

A quebra de performance produtiva é referida por inúmeros autores (Nagaraja *et al.*, 1998; Thompson *et al.*, 2006; Lean *et al.*, 2007; Fernando *et al.*, 2010; Allen *et al.*, 2010; Smith, 2015) e alguns chegam mesmo a quantificar reduções em índices zootécnicos tais como ganhos médios diários (GMD) e índice de conversão (IC). Não obstante as perdas diretas, existem também diversas doenças que poderão advir como sequelas de acidose ruminal, tais como laminite (Lean *et al.*, 2007), ruminite (Thompson *et al.*, 2006), abscessos hepáticos, lesões pulmonares (Thompson *et al.*, 2006), endocardites, pielonefrites (Allen, 2010), necrose cerebrocortical e a própria acidose metabólica decorrente da acidose láctica aguda (Smith, 2015).

Rezac *et al.* (2014), refere num estudo envolvendo mais de 19000 bovinos de carne, reduções no GMD de 0,03Kg/dia no caso de ruminite e de 0,10Kg/dia no caso de abscessos hepáticos como sequela de acidose ruminal.

Em termos económicos, esta doença acaba por provocar direta ou indiretamente um enorme impacto na rentabilidade das explorações, sendo a segunda doença que mais causa quebras na performance dos animais e na eficiência produtiva deste sistema de produção (Hernandez *et al.*, 2014).

O problema da acidose advém de um distúrbio nutricional resultante da tentativa de maximizar as performances dos animais, submetendo-os muito rapidamente a dietas com pouca fibra e grandes quantidades de hidratos de carbono rapidamente fermentescíveis.

Torna-se assim necessário entender e monitorizar esta doença, de forma a encontrar um equilíbrio entre eficiência produtiva e saúde e bem-estar animal.

2.2. Anatomia dos pré-estômagos

O estômago do animal ruminante é constituído por quatro porções, ou seja, retículo, rúmen, omaso e abomaso, ocupando quase toda a metade esquerda e também uma parte significativa da metade direita do abdómen. O rúmen e o retículo estão intimamente relacionados tendo em conta a estrutura e função e por essa razão são denominados como compartimento rumino reticular (Konig *et al.*, 2009).

O retículo é o compartimento mais cranial, posicionando-se entre o diafragma e o rúmen ao nível do sexto espaço intercostal no plano mediano (Radostites *et al.*, 2002). A sua mucosa é aglandular, apresentando um padrão de fava característico formado por cristas (Konig *et al.*, 2009).

O rúmen corresponde à maior das quatro cavidades, estendendo-se desde o diafragma à entrada pélvica, preenchendo a metade esquerda da cavidade abdominal e parte da metade direita (Radostites *et al.*, 2002). A mucosa do rúmen é aglandular e é formada macroscopicamente por papilas cujo tamanho aumenta à medida que o rúmen vai sendo habitado por bactérias (Konig *et al.*, 2009; Frandson, 2010).

O omaso situa-se dentro da parte intratorácica do abdómen à direita do compartimento ruminoreticular sendo o interior do órgão preenchido por uma série de lâminas cobertas por uma mucosa aglandular, a qual forma papilas curtas (Konig *et al.*, 2009).

O abomaso situa-se caudalmente ao retículo e ao omaso e à direita do rúmen (Konig *et al.*, 2009). Possui uma mucosa glandular que produz pepsina e ácido clorídrico (Dehority, 2002).

2.3. Fisiologia da digestão fermentativa em bovinos

A digestão fermentativa ocorre no rúmen, que se apresenta como um compartimento dinâmico onde se dá um processo de fermentação contínua, proporcionando um ambiente ideal ao desenvolvimento de uma enorme variedade de bactérias anaeróbicas, protozoários e fungos (Fernando *et al.*, 2010; Klein, 2013).

De maneira a controlar este ambiente existem numerosos mecanismos de controlo que resultam numa otimização do crescimento microbiano. Alguns destes mecanismos são inerentes aos animais, tais como salivacção, mistura e ruminação, remoção de substâncias por absorção ou difusão, “outflow” pelo orifício reticulo-omasal e eructação; outros estão relacionados com a dieta, tais como a qualidade e equilíbrio dos nutrientes presentes no substrato, solubilidade e tamanho das partículas, presença de substâncias inibitórias, quantidade de nutrientes e taxa de entrada no rúmen (Smith, 2015).

2.3.1. Ecossistema microbiano

O sistema contínuo de cultura presente no rúmen envolve uma constante seleção de microrganismos, que melhor se adaptam a crescer numa variedade de nichos ecológicos que se encontram num estado dinâmico (Smith, 2015).

As bactérias que colonizam o rúmen são na sua maioria anaeróbias obrigatórias, sendo algumas anaeróbias facultativas, apresentando no mínimo 28 espécies funcionalmente importantes, e com uma população que ronda os 10^{10} bactérias por grama de ingesta (Klein, 2013).

A quantidade de protozoários é inferior à de bactérias, 10^5 por grama de ingesta, sendo na sua grande maioria ciliados e pertencendo aos géneros *Entodimium* e *Isotricha* (Klein, 2013).

As capacidades digestivas dos protozoários e das bactérias são semelhantes, no entanto, os protozoários ingerem um grande número de bactérias mantendo esta população sob controlo. Uma função importante dos protozoários é a capacidade de realizar a digestão de substratos rapidamente fermentescíveis através da ingestão, tornando-os assim indisponíveis à ação das bactérias. Desta forma, os protozoários retardam os processos de fermentação, sendo especialmente benéficos para o hospedeiro evitando excessos de fermentação (Klein, 2013).

Entre os vários tipos de bactérias que compõem a microflora ruminal existem as bactérias celulolíticas, que possuem enzimas capazes de quebrar as ligações β 1-4 entre os vários açúcares que constituem a celulose (maioritariamente hexoses tais como a glucose) e hemicelulose (sobretudo pentoses tais como xilose e arabinose). Estas bactérias são anaeróbias estritas e pertencem, na sua maioria aos géneros *Bacteroides*, *Ruminococcus* e *Butyrivibrio* (Reece, 2015).

Outro grupo de bactérias, as amilolíticas, digerem o amido, hidrato de carbono composto por amilose e amilopectina. Neste grupo também se incluem um número de bactérias celulolíticas, como por exemplo *Clostridium lochheadii* e algumas estirpes de *Prevotella* (*Bacteroides*) *Rumminocola*, *Streptococcus bovis*, *Bacteroides amylophilus*, *Succinomonas amilolítica* e *Selenomonas ruminantium* (Hungate, 1966).

Streptococcus bovis (*S. bovis*), uma bactéria gram positiva, coccoide sem motilidade, é capaz de efetuar um crescimento muito rápido quando se dão mudanças de dieta bruscas de feno para grãos de cereal (McAllister *et al.*, 1990). Normalmente quando o pH ruminal baixa, as bactérias podem acumular concentrações tóxicas de alguns aniões tais como acetato; contudo, à medida que o pH extracelular cai, o pH intracelular do *S. bovis* também desce, evitando assim a toxicidade (Russell, 1991).

O maior produto de fermentação do *S. bovis* é o L-lactato, no entanto algumas estirpes também produzem formato e acetato (Stewart *et al.*, 1997; Al Jassim *et al.*, 1999).

As espécies de *Lactobacilos* presentes no rúmen também são importantes fermentadores de açúcares. Entre as várias espécies comensais anaeróbios facultativos podem-se encontrar *Lactobacilos acidophilus*, *Lactobacilos casei*, *Lactobacilos fermentum*, *Lactobacilos plantarum*, *Lactobacilos buchneri*, *Lactobacilos cellobiose*, *Lactobacilos helveticus* e *Lactobacilos salivarius* (Hungate, 1966). Duas espécies anaeróbicas gram positivas, *Lactobacilos ruminus* e *Lactobacilos vitulinus*, foram pela primeira vez isoladas do rúmen e provou-se produzirem predominantemente ácido L-láctico e ácido D-láctico, respetivamente (Stewart *et al.*, 1997; Al Jassim *et al.*, 1999).

As bactérias utilizadoras de ácido láctico também são encontradas no rúmen dos animais submetidos a dietas ricas em grão, onde existe elevada produção de ácido láctico, como por exemplo *Selenomonas ruminantium*, *Veillonella parvula*, *Megasphaera elsdenii* e *Anaerovibrio lipolytica*.

Megasphaera elsdenii, uma bactéria gram negativa, é de longe a mais significativa deste grupo, uma vez que utiliza cerca de 60% a 95% do lactato disponível no rúmen (Counotte *et al.* 1981). Apresenta velocidades de crescimento lentas quando comparada com outras espécies, demorando cerca de cinco a sete dias a estabelecer populações ruminais de $5,5 \cdot 10^{11}$ após a introdução da dieta de grãos. Contudo, se o pH ruminal descer abaixo de 5,5, o seu crescimento é inibido e a produção de lactato excede a sua utilização no rúmen, fazendo com que o pH desça ainda mais (Russel e Allen 1983).

Tabela 3 - Grupos de bactérias ruminais de acordo com o substrato fermentativo. Fonte: (Klein, 2013).

Major Cellulolytic Species <i>Bacteroides succinogenes</i> <i>Ruminococcus flavefaciens</i> <i>Ruminococcus albus</i> <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> Major Hemicellulolytic Species <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Bacteroides ruminicola</i> <i>Ruminococcus species</i> Major Pectinolytic Species <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Bacteroides ruminicola</i> <i>Lachnospira multiparus</i> <i>Succinivibrio dextrinosolvens</i> <i>Treponema bryantii</i> <i>Streptococcus bovis</i> Major Amylolytic Species <i>Bacteroides amylophilus</i> <i>Streptococcus bovis</i> <i>Succinimonas amylolytica</i> <i>Bacteroides ruminicola</i> Major Ureolytic Species <i>Succinivibrio dextrinosolvens</i> <i>Selenomonas species</i> <i>Bacteroides ruminicola</i> <i>Ruminococcus bromii</i> <i>Butyrivibrio species</i> <i>Treponema species</i>	Major Methane-Producing Species <i>Methanobrevibacter ruminantium</i> <i>Methanobacterium formicicum</i> <i>Methanomicrobium mobile</i> Major Sugar-Utilizing Species <i>Treponema bryantii</i> <i>Lactobacillus vitulinus</i> <i>Lactobacillus ruminis</i> Major Acid-Utilizing Species <i>Megasphaera elsdenii</i> <i>Selenomonas ruminantium</i> Major Proteolytic Species <i>Bacteroides amylophilus</i> <i>Bacteroides ruminicola</i> <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Streptococcus bovis</i> Major Ammonia-Producing Species <i>Bacteroides ruminicola</i> <i>Megasphaera elsdenii</i> <i>Selenomonas ruminantium</i> Major Lipid-Utilizing Species <i>Anaerovibrio lipolytica</i> <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Treponema bryantii</i> <i>Eubacterium species</i> <i>Fusocillus species</i> <i>Micrococcus species</i>
--	--

2.3.2. Formação de ácidos gordos voláteis

No rúmen, os hidratos de carbono são hidrolisados por enzimas microbianas. Esta ação enzimática liberta glucose e alguns monossacáridos e polissacáridos de cadeia curta para a fase líquida, que posteriormente são absorvidos pelas várias células microbianas. A degradação da molécula de glicose leva à libertação de duas moléculas de piruvato. Durante esta operação também se convertem duas moléculas de dinucleótido de nicotamina e adenina (NAD) em Dinucleótido de nicotinamida e adenina e hidrogénio(NADH) e duas moléculas de adenosina difosfato(ADP) em duas moléculas de adenosina trifosfato(ATP), produtos estes que irão estar disponíveis para o crescimento bacteriano (Klein, 2013).

Sendo a digestão fermentativa anaeróbia, a oxidação de NADH ocorre através da utilização de outro composto como recetor de eletrões, nomeadamente o piruvato. Este promove a regeneração de NAD removendo o excesso de eletrões com a criação adicional de ATP. Neste processo o dióxido de carbono também pode ser reduzido a metano aceitando eletrões na regeneração de NAD.

Todas estas reações levam à formação do produto final da digestão fermentativa dos hidratos de carbono, ou seja, os ácidos gordos voláteis (AGV). Estes beneficiam o hospedeiro pela disponibilidade de energia química que proporcionam, e tornam-se na principal fonte de energia utilizada pelos ruminantes (Frandsen, 2010).

Os AGV primários são o ácido acético, o butírico e o propiônico e os secundários e metabolicamente menos importantes o ácido valérico, o isovalérico, o isobutírico e o ácido metilbutírico (Klein, 2013).

O metano e dióxido de carbono também são produtos da digestão fermentativa e acumulam-se na forma de uma camada gasosa acima da ingesta do rúmen e do retículo (Frandsen, 2010).

Normalmente a proporção dos AGV no rúmen em dietas ricas em forragem é de 70% ácido acético, 20% ácido propiônico e 10% ácido butírico. Em dietas ricas em concentrado a proporção é de 60% ácido acético, 30% ácido propiônico e 10% ácido butírico (Figura 1) (Klein, 2013).

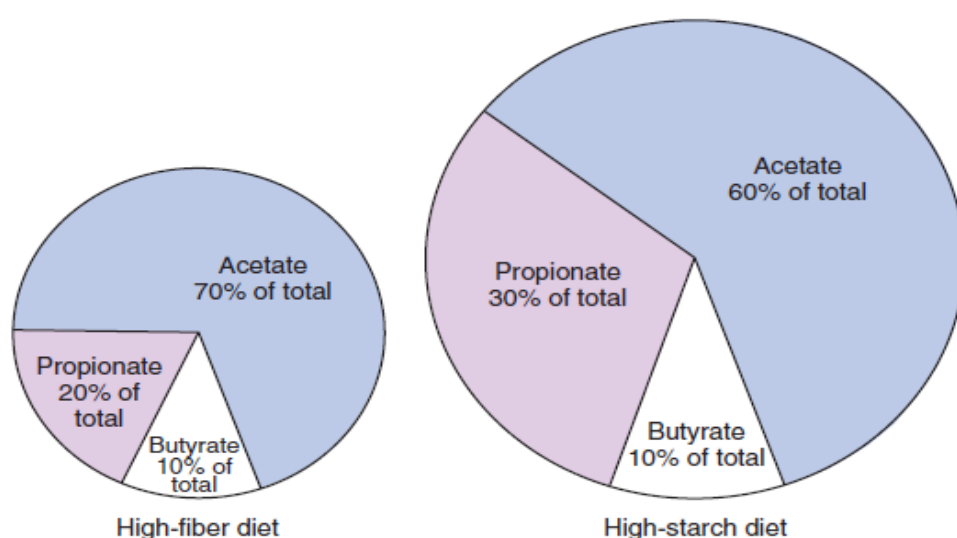


Figura 1 - Proporção de AGV produzidos no rúmen em dietas ricas em fibra e amido. Fonte: (Klein, 2013)

2.3.3. Motilidade reticulo-ruminal

O rúmen e o retículo exercem três tipos de contrações, que servem três diferentes propósitos: mistura da digesta com as bactérias ruminais, remoção de gases produzidos durante a fermentação e regurgitação de conteúdos ruminais (Reece, 2015).

No padrão de mistura, o rúmen contrai assim que o bólus de comida entra no saco ventral e é seguido por uma contração bifásica do retículo. A seguir ocorre uma contração no sentido caudal do saco dorsal e outra no sentido cranial, provocando uma homogeneização do conteúdo ruminal, que irá ter tendência a permanecer no saco dorsal devido à sua fluabilidade. Posteriormente, após a ação microbiana, a ingesta irá partir-se em pedaços

mais pequenos perdendo a sua flutuabilidade e afundando-se no rúmen. Nesta altura, o material ingerido já percorreu todo o rúmen e encontra-se de novo no retículo, sendo que, quando este contrai no início do primeiro ciclo, faz com que o orifício retículo omasal relaxe e o material mais denso seja forçado a passar para o omaso (Klein, 2013).

As contrações de eructação ocorrem na sequência das contrações de mistura, em geral no final de cada dois ou três ciclos de contrações de mistura. O reflexo de eructação é iniciado pelos ramos sensitivos do nervo vagal aferente que percecionam a distensão da porção dorsal do rúmen por acumulação de gases. As contrações começam no rúmen caudal, movendo-se desde o saco cego caudo-dorsal até ao saco dorsal e ao mesmo tempo o saco ventral do rúmen encontra-se relaxado. Este relaxamento tem a função de baixar o nível de fluido junto da região do cárdia para que os gases possam fluir livremente.

Os ciclos de contrações ocorrem entre uma a três vezes por minuto, acontecendo mais frequentemente durante a ingestão de alimento e desaparecendo quase por completo durante o sono profundo. São dependentes da dieta, sendo a presença de material fibroso o maior estímulo para estas contrações (Reece, 2015).

A ruminação é o ato de remastigação da ingesta ruminal, através da regurgitação, ação que ocorre antes do primeiro ciclo de contrações ruminais. Quando ocorre a regurgitação, dá-se uma contração extra do retículo que antecede a contração bifásica do ciclo primário. O cárdia relaxa e o bolo alimentar move-se pelo esófago com a ajuda de um movimento inspiratório que ocorre com a glote fechada, provocando uma pressão negativa no tórax, que em conjunto com um peristaltismo reverso puxa a ingesta no sentido da boca (Frandsen, 2010). Este reflexo permite ao ruminante trazer os alimentos de maiores dimensões do rúmen para a boca para que possa ser novamente mastigado, a fim de lhes reduzir o tamanho das partículas, aumentando assim a área de contato disponível para as bactérias. Outra função da ruminação não menos importante é a estimulação da secreção de saliva que serve como uma importante solução de tampão ruminal, pois contém bicarbonato que irá ajudar no controlo do pH ruminal (Reece, 2015).

O controlo da motilidade retículo ruminal é feito através do ramo dorsal do nervo vago (Frandsen, 2010), sendo cada tipo de contração controlado como um programa reflexo distinto dentro da medula em resposta a uma informação sensorial percecionada pelos ramos aferentes (Reece, 2015). Esta inervação recebe vários estímulos provenientes do lúmen do órgão, tais como, distensão do órgão, consistência da ingesta, pH, concentração de AGV e força iónica.

O volume do rúmen e a sua distensão são monitorizados por recetores de pressão situados nas paredes e nos pilares, enquanto o pH, concentração de AGV e força iónica são

monitorizados por quimiorreceptores localizados não só nas paredes do rúmen, mas também no retículo.

Os valores fisiológicos de pH do rúmen situam-se entre 5,5 e 6,8 dependendo do tipo de dieta, e quando este valor cai abaixo de 5, a motilidade é gravemente afetada, diminuindo consideravelmente. Este mecanismo tem um efeito protetor uma vez que a motilidade tende a aumentar a velocidade de fermentação, e ao ser suprimida permite que a velocidade de absorção dos AGV seja superior à velocidade de produção restabelecendo o equilíbrio (Klein, 2013).

2.3.4. Absorção de ácidos gordos voláteis

A superfície dos pré-estômagos é composta por um epitélio escamoso estratificado, que consiste em várias camadas de células que variam consoante a sua maturidade. A camada mais profunda é denominada por *stratum basale* e é composta por células que se dividem e migram para o *stratum spinosum*. No *stratum spinosum* as células começam o seu processo de queratinização e passam pelo *stratum granulosum* terminando no *stratum corneum*, que é a camada mais externa e mais queratinizada de todas (Klein, 2013).

Os AGV produzidos no rúmen são ácidos fracos que existem nas formas dissociada e não dissociada. Na forma não dissociada são solúveis tanto em água como em lípidos e não possuem carga iónica, podendo atravessar facilmente a dupla camada lipídica das membranas celulares (Reece, 2015).

A absorção dos AGV no rúmen ocorre inicialmente através do *stratum corneum*. Os ácidos juntamente com a água e eletrólitos passam de célula em célula através de comunicações intercelulares, atravessando o *stratum spinosum* e *stratum basale*, antes de chegarem aos espaços intercelulares onde posteriormente são absorvidos pelos capilares sanguíneos.

Diferenças de pH poderão influenciar a absorção de AGV devido às mudanças que criam no seu estado de dissociação. A constante de dissociação P_{ka} dos AGV é de aproximadamente 4,8, abaixo do pH normal do rúmen, levando a que a maior parte dos AGV que existem no rúmen estejam na forma dissociada. Contudo, os iões sódio e hidrogénio libertados pelas trocas celulares, poderão baixar o pH junto à superfície absorptiva. Esta queda de pH poderá mudar o estado dos AGV da forma iónica para a forma de ácido livre. As membranas celulares são permeáveis a AGV no estado livre e a absorção ocorre por causa do gradiente de concentração entre as células e lúmen. A elevada tensão de dióxido de carbono (CO_2) que existe no rúmen causada pelos processos de fermentação também pode acelerar a conversão dos AGV para o estado de ácido livre.

Quando uma molécula de AGV é absorvida, uma molécula de bicarbonato é gerada no lúmen, havendo assim um duplo efeito tampão (remoção do ácido e formação de uma base) (Klein, 2013)

O epitélio do rúmen é composto por papilas, projeções que têm como objetivo aumentar a área de absorção. Estas papilas são bastante dinâmicas tanto em tamanho como em forma, sendo que o seu crescimento papilar estimulado pela concentração de AGV, em especial o propionato e butirato. Assim sendo, dietas altamente digestíveis estimulam a produção de AGV promovendo a formação de papilas mais longas e mais grossas, com epitélios e camadas de queratina mais pequenas (Bannink *et al.*, 2008; Klein, 2013).

É importante promover a adaptação gradual de dietas de baixa para alta digestibilidade, de modo a permitir a adaptação das papilas ruminais para que estas tenham capacidade de remover os AGV que são criados (Klein, 2013).

Resumindo, para que a digestão fermentativa ocorra dentro dos padrões fisiológicos, são necessárias as seguintes premissas:

- Fornecimento de substrato adequado;
- Temperatura de 37°;
- Osmolaridade perto de 300 mOms;
- Potencial de oxidação-redução negativo mantido entre 250 e 450 mV;
- O material indigestível deverá ser removido;
- A velocidade de remoção dos microrganismos deverá ser compatível com a regeneração dos mesmos;
- Os produtos ácidos da digestão fermentativa devem ser removidos ou tamponizados.

2.4. Acidose ruminal

Acidose é uma condição patológica associada à acumulação de ácido ou depleção de reservas alcalinas no sangue e tecidos corporais e caracteriza-se pelo aumento das concentrações de iões de hidrogénio (Blood & Studdert, 1988).

No caso de acidose ruminal, o termo refere-se a uma série de condições que refletem um decréscimo nos valores de pH no rúmen. A produção de grandes quantidades de AGV e ácido láctico faz com que o pH ruminal desça até valores não fisiológicos (<5,5) enfraquecendo, simultaneamente, a capacidade de tampão do rúmen, reduzindo a eficiência da flora ruminal e sua fermentação (Lean *et al.*, 2007).

2.4.1. Acidose ruminal sub-aguda

2.4.1.1. Etiologia

A acidose ruminal é considerada sub-aguda (SARA) quando a diminuição do pH ruminal é causado pela acumulação de AGV sem a persistência de acumulação de ácido láctico, e também quando o pH ruminal é restaurado para valores normais apenas pelas respostas fisiológicas do próprio animal (Allen, 2010).

A SARA resulta de alimentações com quantidades excessivas de concentrado, acompanhadas de baixos níveis de forragem durante períodos de tempo prolongados. Animais de aptidão cárnica em regime de *feedlot* poderão estar cronicamente expostos a um pH ruminal entre 5 e 5,5 desde o início da engorda até chegarem ao matadouro (Smith, 2015).

Hernandez *et al.* (2014) enumeraram as principais causas de acidose em *feedlot*, as quais se encontram contempladas na Tabela 4:

Tabela 4 - Principais causas de acidose em *feedlot*. Adaptado de Hernandez et al. (2014).

Consumo de grandes quantidades de hidratos de carbono	• Dietas que contêm elevadas quantidades de grão; • Processamento do grão (partículas muito pequenas) • Combinação de cereais inadequada, em tipo e quantidade.
Capacidade tampão ruminal inadequada	• Aumento da quantidade de ácidos gordos voláteis; • Perda da capacidade de salivação; • Pouca quantidade de proteína bruta na dieta; • Pouca quantidade de fibra neutro detergente (NDF) na dieta.
Mau manejo de estábulo	• Interrupções nos padrões normais de alimentação • Nutrição inadequada (inclui mudanças bruscas na dieta). • Stress.

Neste estado de acidose, a população microbiana ruminal adapta-se à ração rica em grão, sendo encontrado no fluido ruminal grandes quantidades de microrganismos produtores e utilizadores de lactato (Smith, 2015). Isto só é possível quando a adaptação é gradual permitindo o crescimento destes microrganismos (Reece, 2015). Estas bactérias convertem lactato em AGV, que são mais facilmente protonados e absorvidos. No entanto, o tempo de *turnover* dos utilizadores de lactato é muito mais lento do que o dos sintetizadores de lactato, e assim este mecanismo pode não ser invocado a tempo de estabilizar o pH ruminal (Allen, 2010).

Outro efeito da adaptação a este tipo de dietas é um decréscimo na proporção de bactérias celulolíticas, e em simultâneo, uma sobre proliferação das bactérias fermentadoras de glucose e amido. O efeito geral da adaptação é gerar uma população que rapidamente fermente o material ingerido. As crescentes taxas de fermentação geram grandes quantidades de AGV que resultam num ambiente moderadamente ácido com valores de pH entre os 5 e 5,5. O tamponamento ruminal da crescente carga ácida é prejudicado devido à menor mastigação induzida pelas pequenas partículas das rações de elevada energia e consequentemente à menor produção de saliva (Smith, 2015).

O baixo pH ruminal que se verifica durante a acidose subaguda também reduz o número de espécies de bactérias no rúmen, apesar da atividade metabólica das bactérias restantes ser bastante elevada. As populações de protozoários são particularmente afetadas pela acidose, diminuindo bastante o número destes microrganismos. A ausência de protozoários ciliados é muitas vezes verificada durante episódios de acidose ruminal subaguda. A redução das espécies de bactérias e protozoários leva a uma instabilidade da flora ruminal ficando esta incapaz de manter um pH normal durante períodos de súbitas mudanças de dieta (Allen, 2010).

A absorção de AGV aumenta à medida que o pH ruminal desce. Estes ácidos são absorvidos apenas no seu estado protonado. Por terem um pK_a de cerca de 4,8, a proporção destes ácidos protonados aumenta dramaticamente à medida que o pH vai descendo abaixo de 5,5 (Allen, 2010).

A capacidade do rúmen em absorver rapidamente ácidos orgânicos contribui grandemente para a estabilidade do pH ruminal. O fato das papilas ruminais aumentarem em tamanho quando os animais são alimentados com dietas ricas em grão, presumivelmente tem a função de proteger o animal da acumulação de ácido ruminal (Bannink *et al*, 2008).

Em conjunto com as elevadas concentrações de AGV e baixo pH, ocorre uma mudança das proporções de AGV no fluido ruminal. As proporções de ácido butírico e propiônico aumentam e o acético diminui. Os ácidos butírico e propiônico estimulam o desenvolvimento das papilas ruminais e quando este processo é exagerado pode progredir para paraqueratose. Neste caso, as papilas desenvolvem um epitélio excessivamente queratinizado amontoando-se umas sobre as outras. As alterações paraqueratóticas estão associadas com o decréscimo de absorção dos AGV e do aumento da suscetibilidade de trauma e inflamação (Smith, 2015).

Se a capacidade de absorção do epitélio ruminal estiver comprometida (ex. ruminite crónica com fibrose) torna-se mais difícil para o animal manter um pH estável na sequência de uma refeição, tornando-o cada vez mais exposto ao risco de sofrer de acidose ruminal (Hernandez, *et al* 2014).

2.4.1.2. Patogénese

Tratando-se de uma doença subaguda, os efeitos da SARA no animal são crónicos e insidiosos. Relativamente às lesões, estas poderão ser inúmeras e variadas, tendo origem na paraqueratose das papilas ruminais, que posteriormente evoluem para ruminite com a formação de microabcessos, potenciando assim a entrada em circulação de bactérias ruminais (Allen, 2010; Hernandez *et al*, 2014; Smith, 2015).

A principal sequela da SARA é a formação de abcessos hepáticos (Nagaraja, 1998), que ocorrem devido à entrada em circulação de bactérias pela veia porta, nomeadamente, *Fusobacterium necrophorum* e *Trueperella pyogenes*. Estas alojam-se no parênquima hepático formando os abcessos. Estes podem atingir grandes dimensões, levando a situações de peritonite e de resposta inflamatória crónica (Smith, 2015). Como consequência desta situação, muitas outras doenças poderão ocorrer (Figura 2). Se houver saída das bactérias do fígado e estas forem libertadas na circulação poderão invadir pulmões, valvas cardíacas, rins e articulações, levando a pneumonias, endocardites e pielonefrites (Allen, 2010).

A libertação de histamina e endotoxinas de origem bacteriana em circulação provenientes do rúmen, provocam uma vasoconstrição periférica que poderá causar laminites por inadequado suprimento sanguíneo às lâminas do casco (Allen, 2010; Hernandez *et al.*, 2014; Smith, 2015).

Hernandez *et al.* (2014) e Smith (2015) referem a ocorrência de necrose cérebro cortical provavelmente por deficiência em vitamina B1. Isto pelo facto de os ruminantes estarem dependentes das bactérias ruminais para a produção desta vitamina.

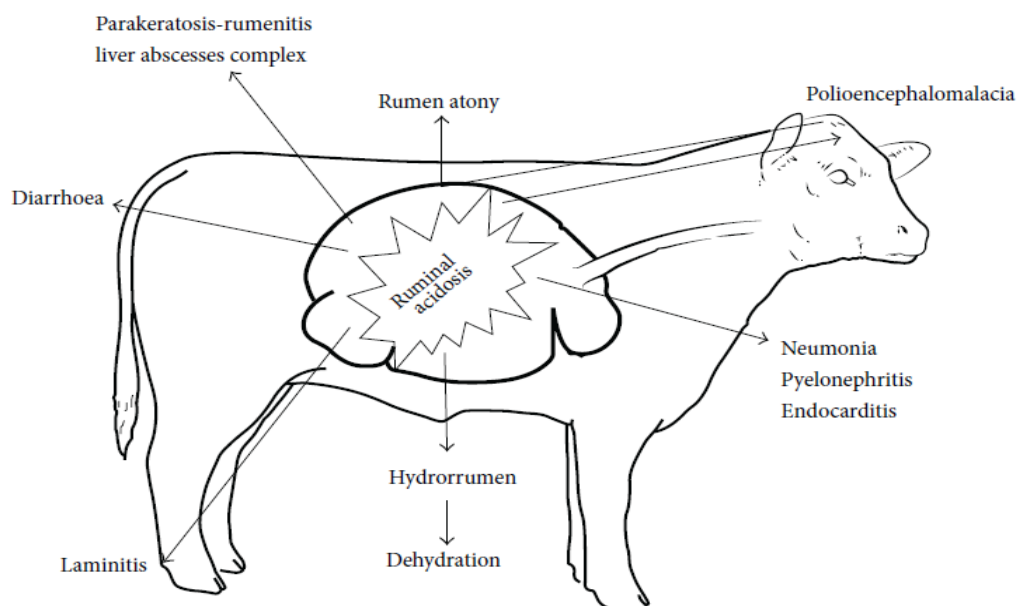


Figura 2 - Quadro clínico de acidose ruminal. Fonte: Hernandez et al, (2014)

2.4.1.3. Diagnóstico

SARA normalmente é diagnosticada em grupo e não ao nível do indivíduo. O método de diagnóstico mais utilizado é a medição de pH no fluido ruminal, não sendo este, no entanto, um método muito sensível ou específico quando usado isoladamente (Bramley *et al.*, 2007).

Reece (2015) afirma que a ausência de protozoários avaliada através da recolha de fluido ruminal poderá ser diagnóstico de SARA, sendo o maior problema deste método a sensibilidade muito baixa, uma vez que não permite detetar casos ligeiros ou um problema em desenvolvimento.

Explorações com uma grande percentagem de animais com fezes macias e malformadas, com diarreia ou com a zona perineal suja (fezes líquidas) poderão indicar um problema de acidose ruminal ao nível do efetivo. Tipicamente, as fezes de um efetivo acidótico são mais líquidas, contêm fibra indigestível, têm uma cor mais clara e poderão conter bolhas de gás.

Avaliação da ração, avaliação de práticas de manejo e identificação de outros problemas de saúde relacionados com SARA, são ferramentas que segundo Allen (2010) ajudam a dar suporte ao diagnóstico.

O acesso às características químicas e físicas da dieta também constituem uma importante ferramenta auxiliar de diagnóstico quando se trata de problemas nutricionais na exploração. A análise química do alimento (% de matéria seca, digestibilidade, energia, hidratos de carbono não estruturais- NSC, proteína bruta- CP, NDF e fibra ácido detergente- ADF) fornece uma visão geral da qualidade da alimentação. Esta informação, quando

combinada com a qualidade das propriedades físicas, incluindo tamanho das partículas, rácio entre folhas e caules das forragens, irá indicar a possibilidade de uma função ruminal sub-ótima e acidose (Lean *et al*, 2007).

A Reference advisory group on fermentative acidoses of ruminantes (RAGFAR) sugere a utilização dos seguintes indicadores indiretos para auxílio do diagnóstico de acidose ruminal sub-aguda em bovinos em sistema de *feedlot*:

- Declínio do consumo de alimento > 10% por mais de dois dias consecutivos;
- Uma incidência de fezes com bolhas > 3% em qualquer inspeção de estábulo;
- Evidência de laminite em qualquer *Bos taurus* ou > 3% em *Bos indicus*.



Figura 3 - Fezes com bolhas (sinal clínico de acidose). Fonte – RAGFAR (2007)

Mesmo assim é consensual a necessidade de se desenvolver melhores métodos de diagnóstico, que tenham como suporte os sinais clínicos.

2.4.1.4. Prevenção

A medida de prevenção mais reconhecida passa pela redução da quantidade de hidratos de carbono e aumento da fibra efetiva na dieta (Lean *et al*, 2007; Allen, 2010). É certo que esta medida tem um carácter generalista, uma vez que poderão ser feitas alterações à dieta que permitem manter a quantidade de hidratos de carbono e de fibra efetiva.

Em termos de concentrado, várias alterações poderão ser efetuadas através da escolha de diferentes matérias-primas e por um adequado processamento das mesmas, isto porque, a velocidade de fermentação do amido depende do tipo de amido que está a ser degradado e da sua forma física (Waldo 1973).

Em termos de fibra, De Campeneere *et al.* (2002) referem uma necessidade mínima de NDF de 41% para dietas com palha e 31,5% para dietas de silagem de milho.

O tamanho da fibra também é de extrema importância. Lean *et al.* (2007), referem que o tamanho médio das partículas deve ser de 5 cm, de forma a estimular corretamente a produção de saliva através da ruminação. Estes autores referem que a utilização correta de tampões ruminais também pode ser uma alternativa útil para controlar os níveis de pH ruminal, nomeadamente, bicarbonato de sódio, óxido de magnésio, bentonite de sódio e carbonato de cálcio.

As leveduras também apresentam efeitos benéficos na prevenção de acidose ruminal. O efeito modelador que estes microrganismos têm sobre a população ruminal, traz melhorias na eficiência digestiva e redução da formação de ácido láctico.

Todas estas medidas requerem uma boa formulação da dieta com um bom equilíbrio entre a quantidade de fibra e hidratos de carbono não fibrosos juntamente com um adequado manejo de manjedoura. Animais que consumam dietas bem formuladas permanecem em alto risco de desenvolvimento de acidose ruminal, aquando da ingestão de grandes refeições por excessiva competição por espaço de manjedoura ou por serem privados de comida durante largos períodos de tempo (Allen, 2010).

Segundo a RAFGAR, devem ser seguidas as seguintes indicações na prevenção de acidose ruminal subaguda em gado de *feedlot* (Lean *et al.*, 2007):

- Os animais devem ter acesso a feno na chegada do *feedlot* antes da indução;
- A ração de iniciação não deve conter mais do que 50% de grão;
- Os animais devem ser adaptados à dieta final lentamente (nunca menos do que 10 - 14 dias na dieta de iniciação, poderão ser usados 21 dias).
- Modificações na alimentação devem ser implementadas gradualmente (modificações nas rações e no grão).
- Evitar flutuações na administração de comida:
 1. O comedouro não deve estar vazio durante os períodos de maior consumo (nascer do sol/por do sol);
 2. Assegurar espaço suficiente de comedouro (25-30 cm/animal, 30-38 cm/animal e 38-46 cm/animal para vitelos, bovinos entre 15 meses-2 anos e touros respetivamente).
 3. Não sobre-popular estábulos;
 4. Reforçar a alimentação durante períodos de tempo frio ou ventoso, e quando a pressão barométrica baixa dramaticamente;
 5. Não aumentar a distribuição de comida mais do que 10% por dia assim que o nível de ingestão tenha atingido o seu plateau.
- Assegurar que mistura das rações é consistentemente homogénea;

- Monitorizar o nível de finos na ração e assegurar que os objetivos de processamento do grão são cumpridos;
- Assegurar partículas de forragem com comprimento suficiente (em média 5-10 cm comprimento).

2.4.2. Acidose ruminal aguda.

2.4.2.1. Etiologia

Acidose ruminal aguda é a forma mais dramática dos desequilíbrios fermentativos, e em alguns casos pode ser letal em menos de 24 horas.

Tal como a SARA, resulta do consumo excessivo de hidratos de carbono rapidamente fermentescíveis. Nesta forma aguda, as diferenças etiológicas relativamente à SARA, poderão estar na excessiva quantidade de grãos, falta de adaptação prévia ou períodos de restrição seguidos de períodos de comida *ad libitum* (Smith, 2015).

Com excessivas quantidades de hidratos de carbono disponíveis, aumenta a proliferação de *Streptococcus bovis*, que irá produzir ácido láctico (um ácido 10 vezes mais forte do que o acético, propiónico ou butírico), cuja acumulação acaba por exceder a capacidade tampão do fluido ruminal e provocar uma mudança para a produção de lactato em detrimento dos AGV (Russell e Hino 1985) (figura 4). A contínua produção de lactato reduz o pH do fluido ruminal para valores entre 5 e 5,5, provocando consequentemente um aumento na sua osmolaridade. Ambos fatores inibem ou matam os protozoários ruminais, que normalmente utilizam amido e outros açúcares mais simples para limitarem os níveis crescentes de ácido láctico (Lean *et al.* 2007).

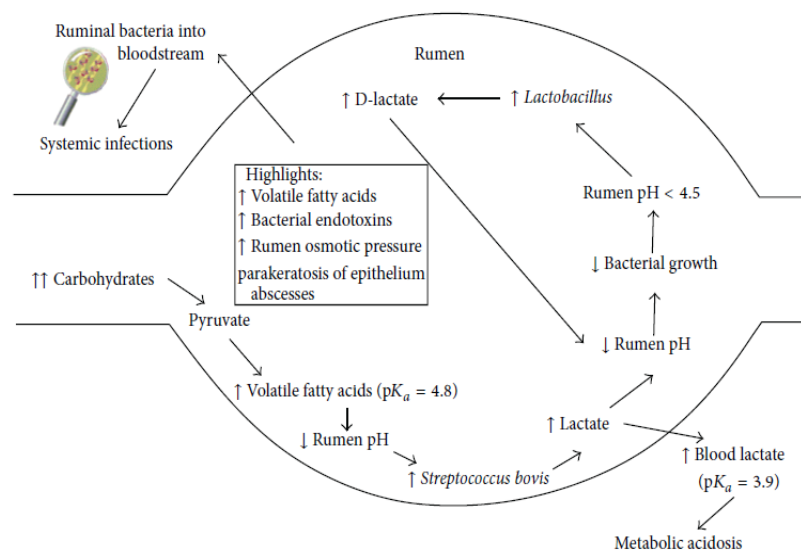


Figura 4 - Cascata de eventos que estão na origem da acidose ruminal Fonte: Hernandez et al., (2014)

As bactérias utilizadoras de lactato são eliminadas quando as mudanças de dieta são abruptas e existe uma produção excessiva de ácido (Nocek, 1997); assim a utilização de lactato por parte destas bactérias diminui quando o ácido é gerado depressa demais. Períodos de pH ruminal muito alto, como é o caso de períodos de privação de comida, também poderão inibir o crescimento das populações utilizadoras de lactato (por serem sensíveis a pH's ruminais elevados) e deixar os animais mais suscetíveis a sofrer de acidose ruminal aguda (Allen, 2010).

Os *Lactobacilos* são o maior grupo produtor de ácido láctico no rúmen. A acidez crescente do fluido promove o crescimento destes organismos. As bactérias utilizadoras de lactato normalmente morrem antes de os *Lactobacilos* crescerem e os diversos produtos do seu metabolismo não chegam a estar disponíveis para outras bactérias. Os *Lactobacilos* são deixados como organismos predominantes no uso de hidratos de carbono. Até o *S. bovis* que inicia a produção de lactato é posteriormente inibido a pH abaixo de 4,5, deixando os *Lactobacilos* como a espécie mais ácido resistente capaz de ainda gerar mais ácido.

A acidificação do meio aquoso promove a produção de ácido láctico através da alteração do metabolismo microbiano (Figura 4). A perda do tampão bicarbonato no fluido e a crescente disponibilidade de íons hidrogénio bloqueiam a conversão de lactato em propionato mesmo antes da morte dos utilizadores de lactato.

Quando o pH ruminal se encontra acima de 5, mas em sentido descendente, a atividade da amilase do fluido ruminal aumenta e liberta mais glucose do amido. Contudo o uso de glucose é reduzido acumulando-se no rúmen.

Aparentemente as bactérias utilizadoras de lactato tais como *S. ruminantium* transformam menos lactato em acetato na presença de altas concentrações de glucose. Assim não só a população microbiana muda, mas também as características do fluido aceleram a produção de ácido láctico (Smith, 2015) (Figura 5).

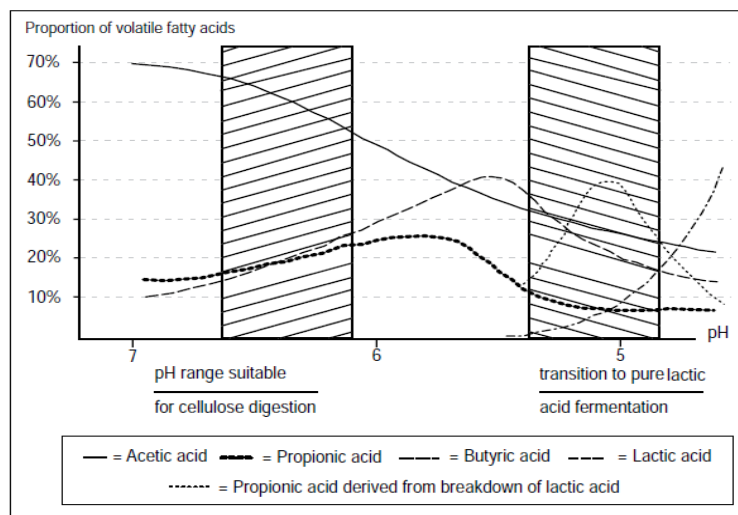


Figura 5- Proporções de ácidos produzidos no rúmen quando o pH < 7 (Lean et al., 2007)

2.4.2.2. Patogénese

A gravidade da acidose ruminal e os seus respetivos sinais de doença variam consideravelmente, dependendo da quantidade e tipo de hidrato de carbono que é consumido e também do grau de adaptação prévio à própria dieta.

A doença pode variar desde uma ligeira forma de indigestão, até uma exuberante toxémia que poderá ser difícil de distinguir de outras toxicidades agudas, ou de várias doenças que provocam endotoxémia. Os efeitos no animal provenientes das mudanças no fluido ruminal são imensos e deletérios.

Os AGV são ácidos muito mais fracos que o ácido láctico, e apesar de o pH baixar eles aceitam hidrogénio proveniente do ácido láctico servindo como tampões no fluido, para que uma grande proporção de AGV passe a estar na forma não dissociada. Esta forma é muito mais rapidamente absorvível pela parede ruminal do que os iões livres. Durante a absorção alguns AGV são metabolizados pelo epitélio da parede ruminal, resultando na libertação de lactato e corpos cetónicos para a circulação. Uma absorção excessiva de AGV leva a uma acidose sistémica, através da circulação de lactato e de AGV que poderão ter consequências danosas mais diretamente no tecido hepático.

As elevadas concentrações de AGV não dissociados no epitélio ruminal provocam um forte efeito inibitório na motilidade retículo-ruminal e levam à estase ruminal. Este

mecanismo serve de proteção para o animal pois reduz a absorção de produtos de fermentação prejudiciais através da parede ruminal.

A pressão osmótica no fluido ruminal aumenta à medida que se desenvolve o ácido láctico. Num animal normal, a osmolaridade ruminal permanece relativamente constante aproximadamente em valores de 280 mOsm/L, mas este valor poderá ascender ao dobro em alguns casos de acidose aguda. O ácido láctico é o maior responsável por este aumento, mas também existem outros componentes que não estão identificados. A crescente osmolaridade inibe e mata alguma da microflora e atrai fluidos para dentro do rúmen, maioritariamente do compartimento extracelular. Por esta razão os animais apresentam sinais como distensão ruminal por excesso de fluidos e severa desidratação.

A perda do volume circulatório leva à falência circulatória, decréscimo da perfusão renal e filtração glomerular, e em alguns casos provoca anúria. Fraca perfusão periférica resulta num metabolismo hipóxico e contribui para uma acidose sistémica (Smith, 2015).

Apesar de já se ter assumido que a acidose sistémica que se desenvolve com esta doença ser proveniente do ácido láctico do rúmen (Bolton & Pass, 1988), esta absorção parece não ocorrer imediatamente (Smith, 2015). O lactato é absorvido do rúmen a uma velocidade muito mais baixa do que os AGV porque está altamente ionizado a um pH normalmente fisiológico, o que tende a inibir a absorção. Quando o pH do rúmen é baixo este torna-se estático, de forma a inibir a absorção. A hipertonicidade do fluido ruminal limita a absorção de lactato e de outras substâncias. Pensa-se que o pico de absorção de lactato para a circulação ocorra em fases mais iniciais da doença. Algum lactato também pode ser absorvido do trato intestinal através de fluido proveniente do rúmen antes de este entrar em completa estase. Mesmo assim, os elementos que são atribuídos à fatalidade desta doença estão mais ligados à insuficiência circulatória do que à absorção de ácido láctico.

O lactato pode ser eliminado por oxidação, gluconeogénese e excreção renal. O estado de hidratação do animal, metabolismo muscular e hepático, e função renal determinam a velocidade com que o animal elimina o excesso de lactato.

Animais que sobrevivem à acidose ruminal muitas vezes sofrem de alcalose metabólica após a fase acidótica, como consequência do metabolismo do lactato e produção de bicarbonato.

O ácido láctico é um agente corrosivo forte que consegue destruir o epitélio ruminal, dando origem à ruminite tóxica. A elevada osmolaridade do fluido ruminal também causa danos no epitélio pela entrada de água que ocorre através deste em resposta à pressão osmótica, e ainda com a agravante de proporcionar desequilíbrios no transporte de sódio. Os efeitos da destruição do epitélio podem-se tornar crónicos, pois os danos persistem após a resolução da acidose aguda. Alguns fungos e leveduras que são resistentes à elevada acidez,

rapidamente colonizam os pontos lesionados, invadem a vasculatura, e causam trombose ou espalham-se para o fígado e outros órgãos. A acidose ruminal é considerada uma das causas primárias de ruminite e de omasite micótica, apesar de existirem outras causas predisponentes.

A ruminite bacteriana também poderá resultar de danos químicos e poderá levar à formação de abscessos, celulite difusa, ou até perfuração e peritonite (Smith, 2015). As papilas do rúmen são danificadas e podem ser destacadas da parede ruminal (Ahrens, 1967; Lee *et al.* 1982). Mesmo que o animal sobreviva à acidose aguda, poderá sucumbir aos danos ruminais secundários. Em alternativa, o rúmen poderá sarar, deixando cicatrizes na parede ruminal, mas as bactérias que anteriormente tiveram acesso à circulação através destas lesões químicas poderão resultar em abscessos hepáticos.

Em adição ao ácido láctico, vários fatores tóxicos estão implicados na acidose ruminal aguda. As alterações do metabolismo da microflora microbiana produzem quantidades consideráveis de histamina, etanol, metanol, tiramina e triptamina. Estes poderão desempenhar um papel importante na patogénese da doença, mas não existem ainda evidências conclusivas que o suportem (Smith, 2015).

A destruição de grandes quantidades de bactérias gram negativas no rúmen faz com que se libertem grandes quantidades de endotoxinas que poderão estar disponíveis para absorção através dos locais onde a mucosa ruminal se encontra lesionada. As endotoxinas circulantes contribuem para a maioria dos sinais presentes na doença, tais como estase ruminal, fraca perfusão tecidual com deterioração cardiovascular, fraqueza e depressão. Elevadas concentrações de endotoxinas no sangue e no rúmen, bem como altas concentrações de ácido araquidónico no sangue foram encontrados em animais com acidose ruminal aguda induzida, mas a importância destes fatores na doença ainda não está esclarecida (Smith, 2015).

Através de tabela 5 pode-se identificar as principais diferenças entre as duas formas de acidose ruminal.

Tabela 5 – Principais diferenças entre acidose ruminal aguda e subaguda. Adaptado de Hernandez et al, (2014)

Acidose ruminal		
	Aguda	Subaguda
Presença de sinais clínicos	Sim	Por vezes
Mortalidade	Sim	Não
pH ruminal	< 5,0	Entre 5,0 e 5,4
Ácido láctico	Aumentado	Normal
Ácidos gordos voláteis	Diminuídos	Aumentados
Bactérias gram negativas	Diminuídos	Normal
Bactérias gram positivas	Aumentados	Normal
<i>Streptococcus bovis</i>	Aumentados	Normal
<i>Lactobacillus spp.</i>	Aumentados	Normal
Produtores de ácido láctico	Aumentados	Aumentados
Consumidores de ácido láctico	Diminuídos	Aumentados
pH sanguíneo	Baixo	No limiar
Bicarbonato sanguíneo	Baixo	No limiar
Lactato sanguíneo	Aumentado	Normal

2.4.2.3. Sinais clínicos

Animais que sofrem de acidose clínica ligeira apresentam-se com anorexia, depressão generalizada e atonia ruminal (Underwood, 1992). A forma mais grave da doença poderá progredir para acidose metabólica, desidratação e toxémia (Bolton & Pass, 1988). Os sinais clínicos desenvolvem-se dentro de oito horas e precedem o início da acidose metabólica clínica que atinge o seu pico por volta das 36 horas (Underwood, 1992). A diarreia começa após 18 horas, apresenta uma consistência pastosa a aquosa e uma cor amarela. Muitas vezes ocorrem também descargas nasais. Os animais afetados apresentam relutância em se movimentar, olhos afundados e ligeira distensão abdominal. No exame físico também é possível encontrar hipotermia, taquicardia e taquipneia. Alguns animais poderão ficar estáticos e aparentarão estar cegos (Thomson, 1967). A acidose aguda poderá evoluir para um estado de coma e morte entre oito a dez horas (Underwood 1992).

2.4.2.4. Tratamento

O tratamento de acidose clínica pode ser difícil e as hipóteses de sucesso dependem da gravidade do caso. Quando se trata de casos graves com níveis de desidratação superiores a 8%, em colapso e com temperatura subnormal, com o rúmen estático e com evidência de diarreia, o tratamento poderá não ser eficaz.

O tratamento dos casos ligeiros de acidose inclui retirada da alimentação composta e alimentar com feno para estimular a produção de saliva. Poderá fazer-se terapia adicional que inclui antiácidos orais tais como hidróxido de magnésio, óxido de magnésio e bicarbonato de sódio até 1g/kg peso corporal, inicialmente para alcalinizar o rúmen, e soluções orais de eletrólitos, preferencialmente as que contêm bicarbonato de sódio para tratar a acidose metabólica.

Casos graves devem ser tratados com a retirada da alimentação composta, dando fluidos intravenosos (salino hipertónico) e acesso a água ou soluções de eletrólitos que não contenham ácido láctico. Pode existir um nível considerável de desidratação dos animais afetados, uma vez que os fluidos são sequestrados no rúmen como consequência de um aumento da osmolaridade ruminal.

Os antiácidos orais, como descritos acima, podem ser utilizados, contudo lavagem do rúmen com um tubo em combinação com uma transfaunação de um animal saudável é preferível.

Podem ser administrados antibióticos tais como penicilinas, tilosina, sulfamidas potenciadas e tetraciclina para tentar reduzir o risco de abscessos hepáticos.

Outros tratamentos de suporte incluem flunixin-meglumina (1mg/kg) para controlar a endotoxemia, anti-histamínicos para controlar a produção de histamina, e soluções de cálcio e magnésio por via endovenosa ou subcutânea para contrariar a hipocálcemia e hipomagnesiemia secundária. Tiamina (10mg/kg) cada 24 a 48 horas até três doses pode ser útil na prevenção de poliencefalomalacia (Lean *et al.*, 2007).

2.5. Fundamentos teóricos das técnicas utilizadas

Vários autores referem a utilidade da avaliação *post mortem*, quer em matadouro quer por necropsia na exploração (Allen, 2010; Thompson *et al.*, 2006; Rezac *et al.*, 2014; Bodas *et al.*, 2014).

A pesquisa de lesões macroscópicas na mucosa ruminal em matadouro pode ser uma valiosa ferramenta de diagnóstico para problemas nutricionais (Thompson *et al.*, 2006). Segundo Smith (2015) e Allen (2010) paraqueratose ruminal é uma alteração morfológica que

resulta da exposição crónica a elevadas concentrações de AGV. Na presença de paraqueratose as papilas apresentam-se de cor escura, espessadas, aumentadas de tamanho e muito juntas umas às outras. As alterações histológicas das células epiteliais incluem espessamento, camada cornificada com anormal retenção de núcleo nas células cornificadas. Thompson *et al.* (2006) referem num estudo envolvendo 1290 animais, que as lesões da mucosa ruminal encontradas em matadouro são extremamente comuns e que surgem como resultado de acidoses subclínicas. Estas lesões incluem atrofia papilar, cicatrizes em forma de estrela que resultam de insultos focais, áreas difusas de ruminite crónica ou aguda e perfurações que resultam em lesões da serosa.

Rezac *et al.* (2014) fizeram a avaliação de 19229 animais, onde classificaram rúmenes e fígados de acordo com lesões macroscópicas associadas a acidose ruminal.

De acordo com Thomson (1967) e Rezac *et al.* (2014) e Allen (2010) a maioria das lesões de ruminite encontradas situam-se na parte ventral do saco ventral do rúmen.

Bodas *et al.* (2014), num ensaio com 14 novilhos, relaciona as lesões de mucosa ruminal encontradas em matadouro, com níveis de pH e temperatura ruminal medidos através de um dispositivo intraruminal.

Como diagnóstico diferencial, Smith (2015) sublinha que a inflamação reticulo-ruminal também poderá resultar de infeções generalizadas tais como diarreia viral bovina (BVD), febre aftosa, febre catarral maligna e rinderpest, mas que nestes casos são encontradas outras manifestações clínicas evidentes para além dos problemas dos pré-estômagos.

2.6. Objetivos

Neste trabalho foi pesquisado, num conjunto de explorações de engorda intensiva (*feedlot*) com diferentes tipos de manejo e alimentação, a presença de lesões ruminais compatíveis com sequelas de acidose ruminal, com o intuito de atingir os seguintes objetivos:

- 1) Quantificar e qualificar a prevalência de lesões causadas por acidose ruminal.
- 2) Determinar quais os fatores que mais contribuíram para o desenvolvimento da acidose ruminal.

Capítulo III

Materiais e métodos

3.1. Materiais

Para concretização deste estudo foram monitorizadas seis explorações situadas nos distritos de Lisboa e Leiria, que no total englobam um efetivo de 1960 bovinos. O principal objetivo destas explorações é a produção de carne bovina, cujos animais (machos e fêmeas de várias raças e cruzamentos de aptidão carne) são adquiridos entre os seis e os nove meses de idade e mantidos estabulados mais seis a nove meses sendo posteriormente enviados para abate.

3.1.1. Caracterização das explorações

De forma a garantir a confidencialidade dos resultados, omitiu-se a identidade das explorações bem como a sua localização precisa, referindo-se às mesmas por explorações A, B, C, D, E, F.

Exploração A – Trata-se de uma exploração de média dimensão, com um efetivo médio de 350 animais em 12 parques (8 cobertos, 2 semi-cobertos e 2 sem qualquer tipo de cobertura). A alimentação é constituída por alimento composto e palha *ad libitum*, distribuídos separadamente.

Exploração B – Das explorações estudadas, esta é a que possui o maior efetivo, 700 animais estabulados em 10 parques. Três parques semicobertos com grandes dimensões e sete parques cobertos menores e, portanto, com maior densidade populacional. A alimentação é constituída por alimento composto e palha *ad libitum* distribuídos separadamente.

Exploração C – A mais pequena das explorações estudadas com um efetivo médio de 70 animais distribuídos por 4 parques semicobertos, sendo um deles de grande dimensão e com uma densidade animal baixa, ao contrário dos restantes 3 parques (pequenos e densidade animal mais elevada). A alimentação é constituída por alimento composto e palha *ad libitum* fornecidos separadamente.

Exploração D – Exploração de pequena dimensão com um efetivo de 90 animais distribuídos por 4 parques cobertos e 1 parque sem cobertura, mas de grandes dimensões. A alimentação é constituída por alimento composto e palha *ad libitum* sendo o primeiro fornecido em quantidades limitadas nos primeiros 6 meses passando a ser distribuído *ad libitum* nos últimos 3. A palha é sempre distribuída *ad libitum*.

Exploração E – Exploração de média dimensão, com um efetivo médio de 380 animais estabulados em 10 parques cobertos e 2 sem qualquer cobertura. É uma exploração mais recente e é provavelmente a que possui melhores condições de alojamento para os animais. É a única exploração das estudadas que utiliza o sistema *unifeed*.

Exploração F – Exploração de média dimensão com um efetivo de 370 animais, constituída por 8 parques cobertos e 2 parques sem qualquer cobertura. O manejo alimentar é constituído por alimento composto e palha *ad libitum*, tendo sido adotado ultimamente um sistema de alimentação sem palha onde os animais constantes deste estudo estiveram submetidos durante um mês.

3.1.2. Amostragem

A recolha das amostras foi efetuada em três matadouros (matadouro regional de Mafra, matadouro Santacarnes em Santarém e o matadouro STEC no Montijo) num total de 19 visitas. Estas visitas decorreram durante os meses de Fevereiro e Março de 2017, tendo todas as amostras sido recolhidas de animais provenientes das explorações constantes deste estudo (Tabela 6).

Tabela 6 - Animais inspecionados por exploração

Exploração	Nº de animais
A	54
B	63
C	18
D	10
E	32
F	41
Total	218

3.2. Métodos

3.2.1. Avaliação de órgãos em matadouro

De maneira a quantificar e qualificar as lesões causadas por acidoses ruminais, foi utilizada uma avaliação *post-mortem* de rúmenes em matadouro após a sua abertura e

lavagem (Thompson *et al.*, 2014; Rezac *et al.*, 2014 e Bodas *et al.*, 2014). Classificaram-se as lesões em três estádios, consoante a gravidade das mesmas (Rezac *et al.*, 2014) (Figura 6):

Estadio 1: Epitélio saudável, com papilas exuberantes, sem sinais de inflamação, ulceração ou outras lesões;

Estadio 2: Porções consolidadas da mucosa ruminal, com papilas mais pequenas que o normal e partes com ausência total de papilas;

Estadio 3: Lesões de ruminite ativa, presença de ulcerações focais ou multifocais, cicatrizes em forma de estrela, desprovido de papilas.



Figura 6 – Comparação de três classificações de papilas ruminais. Fonte: (Roquet, 2016)

3.2.2. Caracterização de manejo

A qualidade do manejo dos animais das explorações foi avaliada com recurso a folhas de campo (anexo I) utilizadas durante as visitas. A avaliação foi feita relativamente aos vários parques em que foram ponderados os seguintes 4 fatores:

- **Densidade animal:** a avaliação foi feita segundo o número de animais por m^2 : classificação de **bom** - densidade inferior a 1 animal por cada 3 m^2 ; **aceitável** - 3 e 5 animais 3/ m^2 e **mau** - superior a 5 animais 3/ m^2 .
- **Uniformidade de animais:** avaliação da constituição dos parques (idade, tamanho e sexo)
- **Espaço de manjedoura:** para avaliação foi contabilizado o espaço de manjedoura disponível para cada animal; **mau** - inferior a 15 cm; **aceitável** - entre 15 cm e 25 cm e **bom** - superior a 25 cm.
- **Distribuição de alimento:** A avaliação deste parâmetro foi feita mediante a disponibilidade de alimento nas manjedouras e a sua distribuição.

3.2.3. Características da alimentação

Para avaliação da qualidade da alimentação foram recolhidas amostras nas várias explorações, diretamente das manjedouras, que posteriormente foram enviadas para um laboratório independente (D.I.N.), onde foram submetidas a análises de qualidade.

Os parâmetros que foram analisados na ração foram humidade, proteína bruta (PB) matéria gorda (MG), celulose bruta (CB), cinza total e amido pelo método N.I.R. (*Near infrared-spectroscopy*), ADF pela norma EN ISO 13906:2008 e NDF pela norma NP EN ISO 16472:2013.

Neste estudo foram consideradas as seguintes variáveis relativamente à avaliação do alimento (De Campeneere *et al.*, 2002, Lean *et al.*, 2007 e Ferret *et al.*, 2008):

- Amido;
- Hidratos de carbono não fibrosos (CNF);
- NDF;
- Sistema de alimentação Total Mixed Ration (TMR) vs Ração vs Ração e palha)

3.2.3.1. Hidratos de carbono não fibrosos

Os hidratos de carbono não fibrosos (CNF) contemplam a fração dos alimentos com elevada capacidade de produção de energia, destacando-se o amido, os açúcares e a pectina (Detmann *et al.*, 2010). Desta forma, trata-se de um parâmetro essencial a considerar na avaliação de arraçoamentos que constituam risco de acidose ruminal (Ferret *et al.*, 2008)

Para o cálculo de CNF foi utilizada a seguinte fórmula (Ferret *et al.*, 2008):

$$\text{CNF} = \text{MS\%} - (\text{PB\%} + \text{NDF\%} + \text{GB\%} + \text{Cinzas\%})$$

3.2.4. Tratamento estatístico de dados

Os dados recolhidos foram armazenados e organizados em folhas de cálculo, recorrendo-se para isso ao *software* Microsoft Excel 2010, o tratamento estatístico foi feito com recurso ao *software* SPSS v20.

De forma a verificar se existiam diferenças entre nos resultados encontrados nas 6 explorações estudadas, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, de seguida foi realizado o teste *Post-Hoc* de Dunn com a aplicação da correção de Bonferroni para comparações múltiplas utilizando-se um nível de significância de 5%. Finalmente foi utilizada uma tabela pairwise comparisons para verificar quais as comparações que exibiam um nível de significância inferior a 5%.

Capítulo IV

Resultados

4.1. Avaliação de órgãos em matadouro

4.1.1. Avaliação geral de órgãos

Após avaliação dos rúmenes de 218 animais relativamente às lesões que apresentavam, foram obtidos os seguintes resultados que podem ser observados na figura 7. A maior parte das lesões verificadas foram classificadas como pertencentes ao estadio 2 (47,41%), havendo um menor número de rúmenes com lesões correspondentes ao estadio 3 (17,83%). As restantes amostras foram classificadas como sendo normais (34,40%).

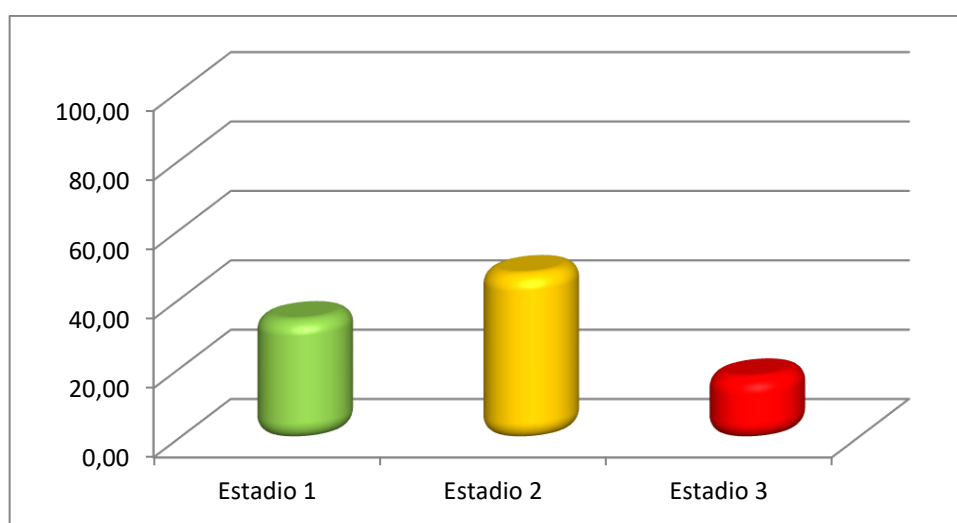


Figura 7 – Representação gráfica de resultados da avaliação de rúmenes em matadouro

4.2. Avaliação de órgãos por exploração

Os resultados da avaliação de órgãos por exploração encontram-se expressos na tabela 7, onde é possível verificar a percentagem de órgãos que foram classificados em cada estadio por exploração.

Tabela 7 - Resultados por exploração expressos em percentagem (%)

Exploração	Estadio 1(%)	Estadio 2 (%)	Estadio 3 (%)
A	38,9	57,4	3,7
B	36,5	38,0	25,4
C	33,0	27,7	38,0
D	80,0	20,0	0,0
E	40,6	53,1	6,3
F	9,8	61,0	29,3

Exploração A – A avaliação de rúmenes em matadouro revelou uma elevada prevalência de lesões classificadas como estadio 2 (57,4%). Os órgãos classificados nesta categoria apresentavam uma mucosa de cor negra, com papilas mais pequenas que o normal, por vezes evidenciando sinais de inflamação e com papilas aglomeradas sugerindo uma paraqueratose do epitélio (Figura 8 e 9). Em algumas porções da parede ruminal era visível uma ausência total de papilas.

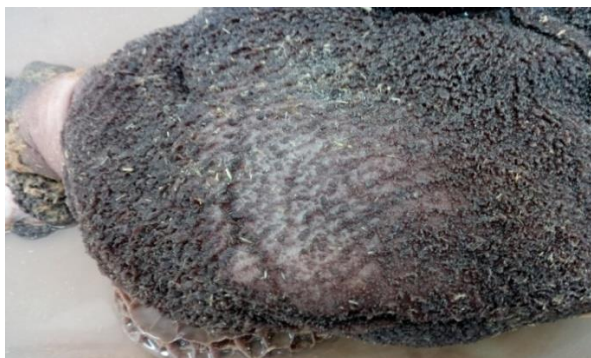


Figura 8 – Rúmen classificado como estadio 2, mucosa ruminal de cor escura com papilas mais pequenas que o normal e porções onde é visível a ausência de papilas (Foto do autor)



Figura 9 – Rúmen classificado como estadio 2, aglomerados de papilas ruminais de cor escura, com pequenas porções a exibir sinais de inflamação. (Foto do autor)

As lesões de estágio 3 apenas foram encontradas em 3,7% dos animais desta exploração, sugerindo uma baixa prevalência de acidoses agudas.

Exploração B – Os resultados da avaliação de órgãos pertencentes a animais desta exploração apresentam uma prevalência de lesões de estadio 2 de 38% e de estadio 3 de 25%.



Figura 10 -Cicatriz ruminal em forma de estrela, (Foto do autor)

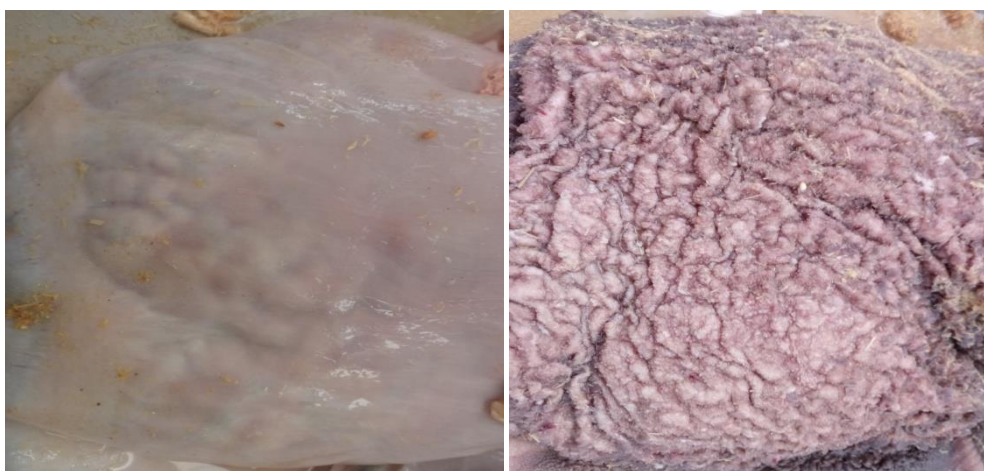


Figura 11 - Fotos de cicatrizes ruminais com comprometimento de toda a parede ruminal incluindo a serosa. (Foto do autor)

Uma característica das lesões classificadas como estadio 3 em animais desta exploração é o facto de muitas delas apresentarem um carácter hiper-agudo, uma vez que todo o rúmen se encontra normal exceto pela presença de uma única lesão focal (Figura 10, 11 e 12).



Figura 12 -Diferença entre dois rúmenes classificados como estadio 3. (Foto do autor).

Exploração C – Esta exploração é a única onde o número de rúmenes classificados como estadio 3 (38%) excede o número de rúmenes classificados como estadio 2 (27,7%).

Exploração D – Por ser a exploração mais pequena neste estudo só foi possível avaliar os rúmenes de dez animais, dos quais 80% foram classificados como estadio 1 e 20% como estadio 2 (Figura 13).



Figura 13 - Comparação de dois rúmenes provenientes da exploração D (Foto do autor).

Exploração E – Nesta exploração foi encontrada um baixo número de animais com lesões de estadio 3 (6,25%) (Figura 14), mas uma elevada prevalência de lesões de estadio 2 (53,3%).



Figura 14 - Úlcera ruminal encontrada num rúmen proveniente da exploração E (foto do autor).

Exploração F – Esta exploração foi a que apresentou uma menor proporção de rúmenes em estadio 1 (9,75%) (Tabela 6). Os rúmenes classificados como estadio 3 (29,27%), evidenciavam enormes alterações de carácter subagudo que posteriormente se transformaram em lesões focais de carácter agudo (Figura 15).

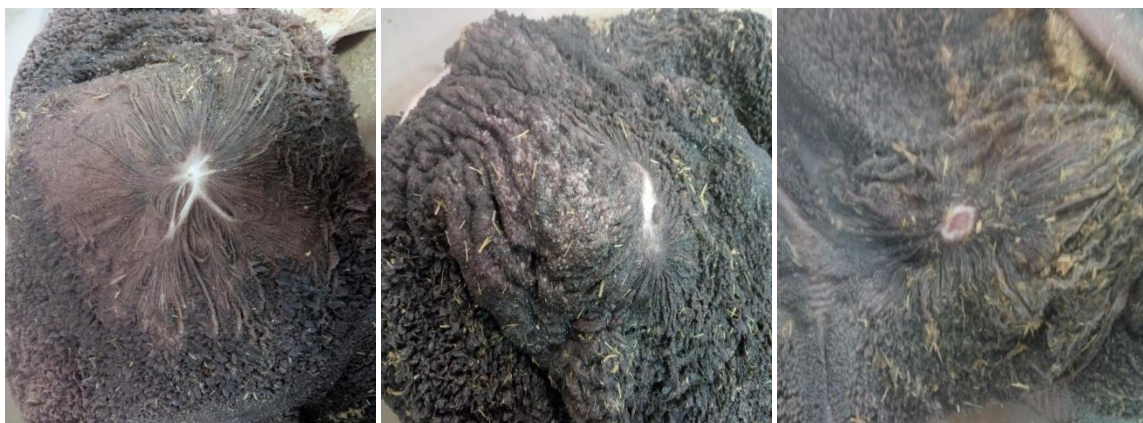


Figura 15 - Exemplos de rúmenes de animais classificados como estadio 3 provenientes da exploração F (foto do autor).

4.3. Outros

Na exploração A foram também encontradas fezes que sugerem a ocorrência de casos esporádicos de acidose ruminal (líquidas com presença de bolhas) (Figura 16), que embora não ultrapassem os 3% e segundo Lean *et al* (2007) não representa um problema ao nível do grupo, poderá servir como sinal de alerta para um problema em desenvolvimento.



Figura 16 - Fezes líquidas com presença de bolhas, sinal compatível com acidose ruminal. (Foto do autor)

Foi também executada uma necropsia num animal da exploração C cujos resultados sugerem que a morte tenha sido devido a uma situação de acidose ruminal aguda. O animal de 15 meses encontrava-se num parque com mais 17 da mesma idade. Sendo o mais pequeno da manada encontrava-se frequentemente na extremidade do parque tendo assim um acesso mais difícil ao alimento. No dia da morte o animal apresentava-se prostrado,

permanentemente em decúbito ventral, com diarreia bastante líquida e amarela, morrendo passadas algumas horas após o início do aparecimento dos sintomas tendo a necropsia sido efetuada logo em seguida. Foram encontradas alterações somente nos órgãos do sistema digestivo. O rúmen encontrava-se distendido com conteúdo bastante aquoso com muita palha e alguma ração. A mucosa apresentava-se de cor negra com várias partes desprovidas de papilas e com alguns sinais de ligeira inflamação (Figura 17). No abomaso foi encontrado uma grande quantidade de líquido amarelado que continuava presente em todos os segmentos intestinais, mas em menor quantidade.

Os sinais apresentados pelo animal *ante-mortem*, os resultados *post-mortem* e a avaliação dos rúmenes dos restantes animais do mesmo parque sugeriram que este animal tenha morrido de acidose ruminal aguda.



Figura 17 - Porção de rúmen resultante de necropsia efetuada na exploração C. (Foto do autor).

4.4. Diferenças entre explorações

Através da realização do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis foi determinado que havia diferenças estatisticamente significativas entre as várias explorações (Tabela 8). Na Tabela 9 pode ser observado quais as explorações que diferiam entre si ($P < 0,05$).

Tabela 8 - Ranks médios para as 6 explorações calculados através do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

Exploração	N	Rank médio
A	54	95,34
B	63	112,98
C	18	125,47
D	10	55,90
E	32	95,61
F	41	139,70
Total	218	

Tabela 9 - Tabela pairwise comparisons identificando as diferenças entre explorações com significância abaixo de 5%

Amostra 1- Amostra 2	Estatística de teste	Valor de P
D-A	39,443	0,722
D-E	-39,709	0,881
D-B	57,084	0,057
D-C	69,572	0,035
D-F	-83,795	0,001
A-E	-0,267	1,000
A-B	-17,642	1,000
A-C	-30,130	0,843
A-F	-44,353	0,003
E-B	17,375	1,000
E-C	29,863	1,000
E-F	-44,086	0,019
B-C	-12,488	1,000
B-F	-26,711	0,325
C-F	-14,223	1,000

As diferenças que atingiram relevância estatística apresentando um valor de $P < 0,05$ encontram-se entre as explorações D e C ($P=0,035$), D e F ($P=0,001$), A e F ($P=0,003$) e E e F ($P=0,019$).

4.5. Resultados da avaliação da alimentação

Os valores apresentados na tabela 10 revelam o resultado das amostras de alimento colhidas nas várias explorações e enviadas para o laboratório.

Tabela 10 - Resultados da avaliação da alimentação das diversas explorações (%)

Ensaio	Exploração					
	A	B	C	D	E	F
Humidade%	12,2	13,5	13,5	13,4	25,5	10,9
PB%	15,1	15,5	15,5	14,5	11,8	12,7
MG%	5,2	5,0	5,0	5,1	4,9	4,7
CB%	3,5	4,9	4,9	5,1	7,1	8,2
Cinza total%	6,6	6,3	6,3	6,2	5,0	7,1
Amido%	39,6	36,5	36,5	37,4	26,7	37,0
ADF%	9,2	7,4	7,4	7,6	9,6	11,3
NDF%	22,6	23,3	23,3	21,1	20,3	25,0

PB – Proteína Bruta; MG – Matéria Gorda; CB – Celulose bruta; ADF - fibra ácido detergente; NDF - Fibra neutro detergente

Os resultados da análise ao alimento das explorações E e F, referem-se à dieta completa consumida pelos animais (sistema TMR) em que na exploração E o alimento composto é administrado em conjunto com a forragem e na exploração F não é administrada qualquer tipo de forragem, sendo a dieta constituída unicamente pelo alimento composto.

As explorações A, B, C e D utilizam um sistema onde a ração é administrada separadamente da palha, permitindo aos animais constante acesso a ambos os alimentos. Neste caso, a tabela 10 apenas reflete os resultados das análises à ração e não demonstra integralmente as características da dieta ingerida pelos animais.

Para que os resultados se tornem o mais homogéneo possível entre as várias explorações, introduzimos os valores de referência para a palha indicados pela FEDNA (Fundación española para el desarrollo de la nutrición animal):

- Humidade – 8,3%
- Proteína bruta – 3,7%
- Matéria gorda – 1,6%
- Celulose bruta – 36,0%
- Cinza total – 7,2%
- Amido - 0,7%
- ADF – 46%
- NDF – 72,0%

Para o cálculo destes valores admitiu-se que os animais ingeriram 10% de palha (Ferret *et al.*, 2008) e 90% de concentrado (Tabela 11).

Tabela 11 - Resultados da avaliação de alimentação com inclusão de palha (%)

Ensaio	Exploração					
	A	B	C	D	E	F
Humidade %	11,8	13,0	13,0	12,8	25,5	10,9
PB %	14,0	14,3	14,3	13,4	11,8	12,7
MG %	4,8	4,6	4,6	4,8	4,9	4,7
CB %	6,8	8,0	8,0	8,2	7,1	8,2
Cinza total %	6,6	6,3	6,3	6,3	5	7,1
Amido %	35,7	32,9	32,9	33,7	26,7	37
ADF %	12,8	11,3	11,3	11,4	9,6	11,3
NDF%	27,5	28,2	28,2	26,1	20,3	25
CNF %	35,3	33,6	33,6	36,6	32,5	39,6

PB – Proteína Bruta; MG – Matéria Gorda; CB – Celulose bruta; ADF - fibra ácido detergente; NDF - Fibra neutro detergente; CNF - Hidratos de carbono não fibrosos

De forma a melhorar a comparação entre explorações fez-se o ajuste dos vários valores retirando a humidade e calculando os mesmos consoante a matéria seca (MS), os quais figuram na tabela 12.

Tabela 12 - Resultados da avaliação de alimentação com inclusão de palha e ajustados a valores de matéria seca (%)

Ensaio	Exploração					
	A	B	C	D	E	F
PB (%)	15,9	16,5	16,5	15,5	15,8	14,3
MG (%)	5,5	5,4	5,4	5,5	6,6	5,3
CB (%)	7,7	9,2	9,2	9,5	9,5	9,2
Cinza total (%)	7,6	7,3	7,3	7,2	6,7	8,0
Amido (%)	40,5	37,9	37,9	38,7	35,8	41,5
ADF %	14,6	13,0	13,0	13,1	12,9	12,7
NDF %	31,3	32,4	32,4	30,1	27,2	28,1
CNF %	40,0	38,6	38,6	42,0	43,6	46,2

PB – Proteína Bruta; MG – Matéria Gorda; CB – Celulose bruta; ADF - fibra ácido detergente; NDF - Fibra neutro detergente; CNF - Hidratos de carbono não fibrosos

4.6. Resultados da avaliação de manejo

A avaliação de manejo que foi feita nas várias explorações encontra-se descrita na tabela 13.

Tabela 13 - Resultados da avaliação do manejo nas diversas explorações

Exploração A	Mau	Aceitável	Bom
Densidade animal		✓	
Uniformidade de animais			✓
Espaço de manjedoura			✓
Distribuição de alimento			✓
Total			✓

Exploração B	Mau	Aceitável	Bom
Densidade animal		✓	
Uniformidade de animais			✓
Espaço de manjedoura		✓	
Distribuição de alimento		✓	
Total		✓	

Exploração C	Mau	Aceitável	Bom
Densidade animal		✓	
Uniformidade de animais			✓
Espaço de manjedoura		✓	
Distribuição de alimento	✓		
Total		✓	

Exploração D	Mau	Aceitável	Bom
Densidade animal			✓
Uniformidade de animais			✓
Espaço de manjedoura		✓	
Distribuição de alimento			✓
Total			✓

Exploração E	Mau	Aceitável	Bom
Densidade animal			✓
Uniformidade de animais			✓
Espaço de manjedoura		✓	
Distribuição de alimento			✓
Total			✓

Exploração F	Mau	Aceitável	Bom
Densidade animal			✓
Uniformidade de animais		✓	
Espaço de manjedoura			✓
Distribuição de alimento			✓
Total			✓

A avaliação de manejo revelou que as explorações A, D, E, e F praticavam um bom manejo e que nas explorações B e C o manejo era aceitável.

Capítulo V

Discussão e conclusão

5.1. Discussão

5.1.1. Discussão de resultados gerais

Através da bibliografia consultada previamente, era expectável uma prevalência elevada desta doença. Os resultados encontrados revelaram que 65,6% dos animais apresentavam lesões compatíveis com pelo menos uma das formas da doença, sendo que 47,41% apresentavam lesões compatíveis com SARA e 17,83% apresentavam ruminites sugerindo que os animais estiveram envolvidos em situações de acidose aguda.

Estes resultados apresentam taxas de prevalência superiores às relatadas por Rezac *et al.* (2014), que apresentaram uma prevalência de 31,95% de lesões ruminais (18,03% como ligeiras e 13,92% como graves). Já Thompson *et al.* (2006) divulgaram taxas bastante superiores aos encontrados neste estudo e revelam no seu estudo que 56,1% dos animais apresentam lesões ainda ativas e 50,9% dos animais apresentam lesões já cicatrizadas. Estes resultados vão também ao encontro dos apresentados por Bodas *et al.* (2014) que utilizam uma classificação mais subjetiva avaliando apenas a cor da mucosa ruminal, mas ainda assim reportam que 85,5% dos animais apresentam uma mucosa ruminal de coloração escura.

De Campeenere *et al.* (2002) classificam as alterações da mucosa ruminal numa escala de 0 a 8 com base em alterações visuais e histológicas, e reportam uma pontuação de 4,21 na média de animais estudados.

5.1.2- Discussão de resultados por exploração

As diferenças encontradas entre as várias explorações podem ser essencialmente atribuídas aos dois fatores enumerados: manejo e alimentação.

No caso da exploração F o manejo dos animais é um dos melhores entre as explorações estudadas, mas o facto do arraçoamento incluir uma percentagem de amido (41,5%) e de CNF (39,6%) na MS superior às restantes explorações, um baixo valor de NDF (28,1%) comparado com as restantes explorações e não incluir nenhum tipo de forragem na alimentação pode explicar a maior prevalência desta doença relativamente às outras explorações.

A exploração A pratica um manejo semelhante ao da exploração F, apresentando uma prevalência de lesões subagudas (57,4%) muito semelhante ao da exploração F (60,98%). A diferença estatística que se observa entre as duas explorações deve-se à diferença entre a percentagem de lesões de grau 3, A (3,7%) e F (29,27%) que podem ser justificadas pelas diferenças entre a alimentação dos animais.

A exploração D apresenta diferenças entre a exploração C, que podem ser atribuídas na sua grande parte a uma diferença considerável de manejo. O arraçoamento utilizado pela exploração D à partida acarreta mais riscos de desenvolvimento de doença, uma vez que apresenta teores de amido e CNF mais elevados um conteúdo de NDF inferior, mas o facto de praticar um manejo de excelente qualidade faz com que esta exploração obtenha melhores resultados que a exploração C.

A exploração E apresenta resultados muito similares aos da exploração A, com 53,3% de lesões compatíveis com SARA e 6,7% de lesões de ruminite aguda. O manejo desta exploração também atinge níveis muito satisfatórios, mas em termos de alimentação utiliza o sistema TMR o que lhe permite trabalhar com uma percentagem de NDF um pouco abaixo dos níveis das restantes explorações (De Campeenere *et al.*, 2002).

A exploração B possui exatamente o mesmo arraçoamento que a exploração C, apresentando também resultados muito similares, mas com prevalências mais baixas, o que se pode dever a uma melhoria na qualidade do manejo.

Após esta análise é ainda possível constatar que nas explorações estudadas os arraçoamentos que acarretam maior risco dão origem a um maior número de lesões subagudas sugestivas de SARA em cerca de 55% dos animais, que poderão evoluir para lesões de carácter agudo (explorações A, E e F).

Erros de manejo são mais sugestivos de casos de acidose aguda, em que o animal apresenta um rúmen normal, mas desenvolve uma única lesão focal como é o caso das explorações B e C onde estas lesões ocorrem em cerca de 30% dos animais.

Conclusão

Com este trabalho pretendeu-se demonstrar qual a verdadeira dimensão do problema das acidoses ruminais na realidade das explorações de bovinos de carne de engorda portuguesas. Através de um método prático, a avaliação de lesões ruminais em matadouro, foi possível avaliar um número considerável de animais (n=218) de seis explorações e ilustrar a verdadeira dimensão desta doença nos efetivos, constatando que 65,6% dos animais se encontravam afetados.

Verificou-se também que existem grandes diferenças entre os resultados das várias explorações que integraram o estudo, identificando-se como os principais fatores predisponentes a alimentação e o manejo. Após a avaliação destas duas variáveis em cada exploração, constatou-se que ambas contribuíam de alguma forma para as assimetrias nos resultados encontrados.

Os objetivos deste trabalho foram assim atingidos evidenciando a dimensão de uma doença, muitas vezes negligenciada nestes sistemas de produção.

Foi também identificado uma ferramenta útil e prática no diagnóstico desta doença, tanto ao nível do indivíduo como ao nível do efetivo. A avaliação de lesões no rúmen em matadouro pode ser utilizada como um importante meio auxiliar de diagnóstico da doença pelo veterinário assistente da exploração.

Qual o verdadeiro impacto desta doença na produção e na rentabilidade das explorações portuguesas é uma questão que fica ainda por responder, sugerindo-se a realização de futuros estudos que consigam demonstrar a relação entre a presença de lesões ruminais e os resultados zootécnicos.

Bibliografia

Al Jassim, R. A. M., & Rowe, J. B. (1999). Better understanding of acidosis and its control. *Recent Advances in Animal Nutrition in Australia*, 12, 91-97.

Ahrens, F. A. (1967). Histamine, lactic acid, and hypertonicity as factors in the development of rumenitis in cattle. *American journal of veterinary research*, 28, 1335-1342.

Allen D. G., Constable P. D. & Davies P. R. (2010). The Merck veterinary manual, tenth edition, Whitehouse Station, N. J., USA, Merck & CO., INC;

Bannink, A., France, J., Lopez, S., Gerrits, W. J. J., Kebreab, E., Tamminga, S., & Dijkstra, J. (2008). Modelling the implications of feeding strategy on rumen fermentation and functioning of the rumen wall. *Animal Feed Science and Technology*, 143(1), 3-26.

Bolton, J. R. and D. A. Pass (1988). The alimentary tract. Clinicopathologic principles for veterinary medicine. W. F. Robinson and C. R. R. Huxtable. Cambridge, Cambridge University Press: 99-121.

Cockcroft, Peter D. (2015). Bovine Medicine, (3th Ed., pp. 547), Ames, Iowa, Willey Blackwell.

Counotte, G. H. M., Prins, R. A., & Janssen, R. H. A. M. (1981). Role of *Megasphaera elsdenii* in the fermentation of DL-[2-13C] lactate in the rumen of dairy cattle. *Applied and Environmental Microbiology*, 42(4), 649-655.

Klein, B. G. (2013). *Cunningham's textbook of veterinary physiology*. Fifth edition, St Louis Missouri, Elsevier Health Sciences.

Campeneere, S. D., Fiems, L. O., Bosschere, H. D., Boever, J. D., & Ducatelle, R. (2002). The effect of physical structure in maize silage-based diets for beef bulls. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 86(5-6), 174-184.

Dehority, B. A. (2002). Gastrointestinal tracts of herbivores, particularly the ruminant: anatomy, physiology and microbial digestion of plants. *Journal of applied animal research*, 21(2), 145-160.

Detmann, E., & Valadares Filho, S. C. (2010). On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62(4), 980-984.

Ferret, A., Calsamiglia, S., Bach, A., Devant, M., Fernández, C., & García-Rebollar, P. (2008). NECESIDADES NUTRICIONALES PARA RUMIANTES DE CEBO NORMAS FEDNA. Spanish.) http://www.fundacionfedna.org/sites/default/files/NORMAS_RUMIANTES_2008.pdf. (Accessed February 2017.).

Fernando, S. C., Purvis, H. T., Najjar, F. Z., Sukharnikov, L. O., Krehbiel, C. R., Nagaraja, T. G., ... & DeSilva, U. (2010). Rumen microbial population dynamics during adaptation to a high-grain diet. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(22), 7482-7490.

Frandsen, R. D., Wilke, W. L., & Fails, A. D. (2009). *Anatomy and physiology of farm animals*. 7th edition, Colorado, Wiley-Blackwell, John Wiley & Sons.

Goad, D. W., C. L., & Nagaraja, T. G. (1998). Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. *Journal of Animal Science*, 76(1), 234-241.

Hernández, J., Benedito, J. L., Abuelo, A., & Castillo, C. (2014). Ruminal acidosis in feedlot: from aetiology to prevention. *The Scientific World Journal*, 2014.

Hungate, R. E. (1966). The rumen and its microbes. New York, Academic Press.

König, H. E., & Liebich, H. G. (2009). *Anatomia dos Animais Domésticos: Texto e Atlas Colorado*. 4ª ed., Artmed Editora.

Lean, I. J., Annison, F., Bramley, E., Browning, G., Cusack, P., Farquharson, B., Little, S. & Nandapi, D. (2007). Ruminal acidosis—understandings, prevention and treatment. *Australia. Australian Veterinary Association*.

Lee, G. J., McManus, W. R., & Robinson, V. N. E. (1982). Changes in rumen fluid composition and in the rumen epithelium when wheat is introduced to the diet of sheep: the influence of wheat and hay consumption. *Crop and Pasture Science*, 33(2), 321-333.

McAllister, T. A., Cheng, K. J., Rode, L. M., & Forsberg, C. W. (1990). Digestion of barley, maize, and wheat by selected species of ruminal bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 56(10), 3146-3153.

Nagaraja, T. G., & Chengappa, M. M. (1998). Liver abscesses in feedlot cattle: a review. *Journal of animal science*, 76(1), 287-298.

Nocek, J. E. (1997). Bovine acidosis: Implications on laminitis. *Journal of dairy science*, 80(5), 1005-1028.

Radostites O. M., Mayhew I. G., Houston D. M. (2002). Exame clínico e diagnóstico em veterinária, Rio de Janeiro, Guanabarra Koogan.

Reece, W. O. (2015). Dukes Physiology of Domestic Animals, (13th Ed., pp. 522-528), cornell, Iowa, Willey Blackwell.

Rezac, D. J., Thomson, D. U., Bartle, S. J., Osterstock, J. B., Prouty, F. L., & Reinhardt, C. D. (2014). Prevalence, severity, and relationships of lung lesions, liver abnormalities, and rumen health scores measured at slaughter in beef cattle. *Journal of animal science*, 92(6), 2595-2602.

Roquet, J. (2016) otimização de dietas específicas para raças de carne, 1º encontro técnico-científico nutrição bovinos Utad, Vila Real.

Russell, J. B. (1991). Intracellular pH of acid-tolerant ruminal bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 57(11), 3383-3384.

Russell, J.B., Allen, M.S. (1983). Physiological basis for interaction among rumen bacteria: *Streptococcus bovis* and *Megasphaera elsdenii* as a model. In: Klug, M.J., Reddy, C.A. (Eds.), Current Perspectives in Microbial Ecology. American Society of Microbiology, Washington, DC, pp. 239–247.

Russell, J. B., & Hino, T. (1985). Regulation of lactate production in *Streptococcus bovis*: a spiraling effect that contributes to rumen acidosis. *Journal of Dairy Science*, 68(7), 1712-1721.

Smith, B. P. (2015). *Large animal internal medicine*. St. Louis Missouri, Elsevier Health Sciences.

Stewart, C. S., Flint, H. J., & Bryant, M. P. (1997). The rumen bacteria. In *The rumen microbial ecosystem* (pp. 10-72). Springer Netherlands.

Thompson, P., Hentzel, A., Shulteiss, W. (2006). Effect of Rumen Lesions Caused by Subclinical Acidosis on Growth in Feedlot Calves, 11th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics, 2006.

Thomson, R. G. (1967). Rumenitis in cattle. *The Canadian Veterinary Journal*, 8(8), 189.

Underwood, WJ (1992). Rumen lactic acidosis. Part II. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, 14: 1265-1270.

Waldo, D. R. (1973). Extent and partition of cereal grain starch digestion in ruminants. *Journal of Animal Science*, 37(4), 1062-1074.

Anexo I

Folha de campo

Registo da qualidade de manejo de bovinos em sistema de engorda intensiva

Data ____/____/____

Exploração: _____

Código de exploração: _____

Parque 1	Mau	Aceitável	Bom
Densidade animal			
Uniformidade de animais			
Espaço de manjedoura			
Distribuição de alimento			
Total			

Parque 2	Mau	Aceitável	Bom
Densidade animal			
Uniformidade de animais			
Espaço de manjedoura			
Distribuição de alimento			
Total			

Parque 3	Mau	Aceitável	Bom
Densidade animal			
Uniformidade de animais			
Espaço de manjedoura			
Distribuição de alimento			
Total			

Avaliação final	Mau	Aceitável	Bom

Parâmetros:

Densidade animal: **Bom:** < a 1 animal por m^2 ; **Aceitável:** entre 2 a $4m^2$ por animal; **Mau:** > superior a 1 animal por $2m^2$.

Uniformidade de animais: **Bom:** animais de tamanhos e idades semelhantes e do mesmo género; **Aceitável:** animais de diferentes tamanhos, da mesma idade e do mesmo género. **Mau:** animais de diferentes idades e tamanhos e género.

Espaço de manjedoura: **Bom:** > a 20 cm por animal e distribuído por vários pontos dentro do estábulo; **Aceitável:** > a 20cm por animal com uma só localização; **Mau:** < a 20 cm por animal.

Distribuição de alimento: **Bom:** Distribuição de alimento eficiente com sistema de *unifed*; **Aceitável:** distribuição de alimento eficiente sem períodos de privação; **Mau:** distribuição de alimento ineficiente com períodos de privação.

Anexo II

Folha de campo

Registo de alterações macroscópicas de órgãos em matadouro

Data ____/____/____

Exploração: _____

Código de exploração: _____

Nº de animais submetidos a inspeção: _____

Nº SIA	Rúmen		
	Estádio 1	Estádio 2	Estádio 3

Legenda:

Estádio 1: Epitélio saudável, com papilas exuberantes, sem sinais de inflamação, ulceração ou outros insultos;
Estádio 2: Porções consolidadas da mucosa ruminal, com papilas mais pequenas que o normal e partes com ausência total de papilas;
Estádio 3: Lesões de ruminite ativa, presença de ulcerações focais ou multifocais, cicatrizes em forma de estrela, desprovido de papilas.