

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



Dissertação

**O impacto nutricional sobre o rúmen, tecido laminar e coxim digital de bovinos  
de corte confinados**

**Nicolas Conter Tavares**

Pelotas, 2018

**Nicolas Conter Tavares**

**O impacto nutricional sobre o rúmen, tecido laminar e coxim digital de bovinos  
de corte confinados**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências, na área de concentração: Produção Animal.

Orientador: Charles Ferreira Martins

Coorientadores: Sandra Mara da Encarnação Fiala Rechsteiner

Rogério Fôlha Bermudes

Pelotas, 2018

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

T231i Tavares, Nicolas Conter

O impacto nutricional sobre o rúmen, tecido laminar e coxim digital de bovinos de corte confinados / Nicolas Conter Tavares ; Charles Ferreira Martins, orientador ; Sandra Mara da Encarnação Fiala Rechsteiner, Rogério Fôlha Bermudes, coorientadores. — Pelotas, 2018.

74 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Confinamento. 2. Acidose. 3. Almofada digital. 4. Morfometria. 5. Bos taurus taurus. I. Martins, Charles Ferreira, orient. II. Rechsteiner, Sandra Mara da Encarnação Fiala, coorient. III. Bermudes, Rogério Fôlha, coorient. IV. Título.

CDD : 636.213

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Nicolas Conter Tavares

O impacto nutricional sobre o rúmen, tecido laminar e coxim digital de bovinos de corte confinados

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

Data da Defesa: 22/03/2018

Banca examinadora:

Prof. Dr. Charles Ferreira Martins (Orientador)

Doutor pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Prof. Dr. Eduardo Schmitt

Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal de Pelotas

Dr. Luis Augusto Xavier Cruz

Doutor em Ciências da Saúde pela Universidade Federal do Rio Grande

Prof<sup>a</sup>. Dra. Rosangela Ferreira Rodrigues

Doutora em Zootecnia pela Universidade Federal de Pelotas

## **Agradecimentos**

A minha avó Alvina Kologeski Conter, aos meus pais Teresinha Francisca Conter Tavares e Adão Alveni Tavares, ao meu irmão Roberto Conter Tavares e a minha namorada Emanoele Figueiredo Serra por saberem entender o cansaço e a distância. Muito obrigado por todo o apoio, amor e carinho que dedicam a mim em todos os momentos.

Ao senhor Adriano Schuch por ceder os animais utilizados durante o experimento e todo grupo de funcionários da fazenda e frigorífico Espinilho pelo apoio no desenvolvimento desse trabalho.

Aos laboratoristas e professores do laboratório de histologia do Departamento de Morfologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas pela colaboração no processamento das amostras.

Ao grupo NUPEEC pelos ensinamentos e troca de experiências.

Ao meu orientador Charles Ferreira Martins e aos coorientadores Sandra Mara da Encarnação Fiala Rechsteiner e Rogério Fôlha Bermudes por toda a consideração e apoio nessa dissertação.

Aos doutores Eduardo Schmitt, Luis Augusto Xavier Cruz e Rosangela Ferreira Rodrigues que aceitaram o convite para fazer parte da banca examinadora.

À Universidade Federal de Pelotas, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia e a Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa e oportunidade de desenvolver esta pesquisa.

E a todas as demais pessoas que ajudaram na realização desse trabalho, e que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal que não foram citadas.

“Muda-se o ser, muda-se a confiança;  
Todo o mundo é composto de mudança,  
Tomando sempre novas qualidades.”

**Luís de Camões**

## Resumo

TAVARES, Nicolas Conter. **O impacto nutricional sobre o rúmen, tecido laminar e coxim digital de bovinos de corte confinados**. 2018. 74f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

A compreensão das associações entre acidose ruminal e claudicação são bastante estudadas particularmente em bovinos leiteiros. Entretanto, poucas intervenções controladas aleatorizadas envolvendo bovinos de corte, em condições comerciais de produção (confinamento) foram conduzidas até então. Portanto, é possível que variações nas proporções de concentrado da dieta em bovinos de corte possam promover danos ruminais, com efeitos nocivos sistêmicos aos tecidos constituintes do dígito. Logo, esse estudo teve como foco, identificar os efeitos macroscópicos e histológicos provocados por dietas altamente energéticas, ao rúmen e as estruturas corium/laminar e coxim digital do casco de bovinos criados em sistema de confinamento. Quarenta novilhas foram divididas em quatro grupos e alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de alimento concentrado. O abate ocorreu após 60 dias de confinamento e os dígitos dos membros torácicos e pélvicos desses animais foram mensurados com paquímetro mecânico e com o auxílio do software ImageJ®. Foram coletadas amostras de rúmen, tecido laminar e coxim digital que, após processamento por técnica histológica convencional, foram avaliadas por morfoquantificação tecidual e análise microestrutural, utilizando-se microscópio óptico e o software Motic Images Plus 2.0. Perda de consistência fecal, reduzida ruminação e depressão geral momentânea, nas primeiras 12 horas após a infusão de sacarose foram registradas na aparência das novilhas. Claudicações não foram observadas clinicamente ( $p>0,05$ ). Os grupos 3 e 4 exibiram menor motilidade ( $p<0,05$ ) e pH ruminal ( $p<0,01$ ) do que o grupo controle. Pôde-se observar, 22,5% ( $n=9$ ) das lesões macroscópicas nos rúmens nos animais submetidos às dietas 3 e 4. A análise histopatológica caracterizou leve degeneração das células do epitélio estratificado pavimentoso queratinizado aglandular, associada a discretos infiltrados linfocitários na lâmina própria e alguns vasos papilares com presença de células inflamatórias, em seu interior. Diferenças histopatológicas nos tecidos digitais ( $p<0,05$ ) foram evidentes, caracterizando uma forma mais suave de agressão ao corium e tecido laminar. A acidez ruminal promovida pelas dietas 3 e 4 não influenciaram o conteúdo lipídico e a composição da gordura da almofada digital ( $p>0,05$ ). Os sinais clínicos apresentados pelas novilhas durante o experimento foram discretos, a ponto das mesmas não perderem desempenho ( $p>0,05$ ). Portanto, as dietas de alto grão promoveram moderada alteração no ambiente ruminal e tecido corium/laminar, sem danos a almofada digital das novilhas de corte.

**Palavras-chave:** confinamento; acidose; almofada digital; morfometria; *Bos taurus taurus*.

## Abstract

TAVARES, Nicolas Conter. **Nutritional impact on the rumen, laminar tissue and digital cushion of confined beef cattle.** 2018. 74f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

The understanding of the associations between ruminal acidosis and claudication are well studied topics particularly in dairy cattle. However, few randomized controlled interventions involving beef cattle under commercial production conditions (confinement) have been conducted so far. Therefore it is possible that variations in dietary starch ratios in beef cattle can promote rumen damage, with systemic deleterious effects to the constituent tissues of the digit, such as the digital cushion and corium / laminar tissues. The objective of this study was to identify macroscopic and histological effects caused by highly energetic diets, rumen and corium / laminar structures and digital cushion of the hull of cattle raised in a feedlot system. Forty heifers were divided into four groups and fed diets containing different levels of concentrated feed. The slaughter occurred after 60 days of feedlot in a certified refrigerator. The digits of the thoracic and pelvic limbs of these animals were measured using a mechanical pachymeter and with the aid of ImageJ® software. Samples of rumen, laminar tissue and digital cushion were collected, which, after processing by conventional histological technique, were evaluated by tissue morpho-quantification and microstructural analysis, using optical microscope and Motic Images Plus 2.0 software. The impact of different diets on the ruminal environment was recorded ( $p < 0.05$ ). Inconsistent feces, reduced rumination and general momentary depression in the first 12 hours after infusion of sucrose were recorded in heifers' appearance. Lameness were not observed clinically ( $p > 0.05$ ). Groups 3 and 4 showed lower motility ( $p < 0.05$ ) and ruminal pH ( $p < 0.01$ ) than the control group. It was possible to observe 22.5% ( $n = 9$ ) of the macroscopic lesions in the ruminants in the animals submitted to diets 3 and 4. The histopathological analysis characterized mild degeneration of aglandular keratinized squamous epithelial cells, associated with discrete lymphocytic infiltrates in the lamina propria and some papillary vessels with the presence of inflammatory cells in the interior. Histopathological differences in digital tissues ( $p < 0.05$ ) were evident, characterizing a milder form of aggression to corium and laminar tissue. The ruminal acidity promoted by diets 3 and 4 did not influence the lipid content and fat composition of the digital cushion ( $p > 0.05$ ). The clinical signs presented by the heifers during the experiment were discrete, to the point that they did not lose performance ( $p > 0.05$ ). Therefore, high grain diets promoted a moderate alteration in the ruminal environment and corium / laminar tissue, without damaging the heifers' digital cushion.

**Keywords:** feedlot; acidosis; digital cushion; morphometry; *Bos taurus taurus*.

## Lista de Figuras

Figura 1	Estrutura física de estação experimental, São Lourenço do Sul - RS .....	33
Figura 2	Grupos experimentais logo após delineamento com as raças Hereford e Angus .....	35
Figura 3	Obtenção de amostras digitais <i>post mortem</i> .....	41
Figura 4	Local das medidas morfométricas .....	42
Figura 5	Fotografia de rúmen para obtenção da porcentagem de lesão macroscópica ruminal .....	43
Figura 6	Morfoquantificação do tecido conjuntivo, adiposo e vascular do coxim digital .....	45
Figura 7	Rúmen de bovino, pilares ruminais e histologia do epitélio ruminal .....	51
Figura 8	Histologia do tecido laminar com derme, lâminas dermais e epidermais .....	53

## Lista de Tabelas

Tabela 1	Caracterização das dietas (kg/MS) fornecidas as novilhas pertencentes as raças Angus e Hereford confinadas .....	36
Tabela 2	Composição bromatológica dos alimentos oferecidos às novilhas das raças Angus e Hereford confinadas .....	36
Tabela 3	Composição bromatológica das dietas experimentais .....	37
Tabela 4	Avaliação do grau de claudicação conforme as alterações clínicas apresentadas .....	39
Tabela 5	Perfil clínico 12 horas pré-abate de bovinos de corte alimentados com distintas dietas de confinamento .....	48
Tabela 6	Presença (%) de fezes inconsistentes em novilhas de corte alimentadas com distintas dietas de confinamento .....	49
Tabela 7	Percentual (%) de ruminite em novilhas de corte alimentadas com distintas dietas de confinamento .....	51
Tabela 8	Morfometria celular nas lâminas epidermais de bovinos de corte confinados e alimentados com distintas dietas .....	53
Tabela 9	Percentual (%) de afunilamento e estiramento no tecido laminar de bovinos de corte confinados e alimentados com distintas dietas .....	55
Tabela 10	Presença de infiltrados inflamatórios no tecido laminar de bovinos de corte alimentados com distintas dietas em confinamento .....	56
Tabela 11	Médias das espessuras do córium solear (EC) e erro padrão (SE) de bovinos de corte confinados alimentados com distintas dietas .....	58
Tabela 12	Percentual (%) de tecido conjuntivo, adiposo e vascular do	59

coxim digital de bovinos de corte alimentados com distintas dietas em confinamento .....

Tabela 13 Dados zootécnicos, avaliando o desempenho produtivo de bovinos de corte alimentados com distintas dietas de confinamento ..... 61

## Lista de Abreviaturas e Siglas

ADM	Dígito anterior direito medial
ADL	Dígito anterior direito lateral
AEM	Dígito anterior esquerdo medial
AEL	Dígito anterior esquerdo lateral
AIE	Anti-inflamatório esteróide
AINE	Anti-inflamatório não esteróide
GMD	Ganho médio diário
H&E	Hematoxilina e Eosina
m	Metro
m <sup>2</sup>	Metro quadrado
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MB	Membrana basal
MR	Motilidade ruminal
PAS	Ácido Periódico de Shiff
PDM	Dígito posterior direito medial
PDL	Dígito posterior direito lateral
PEM	Dígito posterior esquerdo medial
PEL	Dígito posterior esquerdo lateral
SARA	Acidose ruminal subaguda
SIM	Serviço de Inspeção Municipal
TC°	Aferição da temperatura retal

## Sumário

1 Introdução .....	15
2 Objetivos .....	19
2.1 Objetivo geral .....	19
2.2 Objetivos específicos .....	19
3 Hipótese .....	20
4 Revisão bibliográfica .....	21
4.1 Anatomia do casco bovino .....	21
4.2 Histologia do casco bovino .....	22
4.3 Fatores predisponentes às lesões dos cascos.....	23
4.4 Biomecânica .....	24
4.5 Morfometria digital .....	25
4.6 Acidose Ruminal .....	26
4.7 Laminite .....	27
4.8 Efeito nutricional na fisiologia e anatomopatologia do organismo de bovinos .....	28
5 Metodologia .....	33
5.1 Estação experimental .....	33
5.2 Animais e delineamento experimental .....	34
5.3 Tratamentos .....	35
5.4 Manejo e cuidados com os animais .....	38

5.5 Avaliação clínica .....	38
5.6 Avaliações zootécnicas de desempenho .....	39
5.7 Obtenção de amostras <i>post mortem</i> .....	40
5.8 Morfometria .....	41
5.9 Processamento das amostras .....	43
5.10 Morfo quantificação tecidual .....	44
5.11 Análise estatística .....	46
6 Resultados e Discussão .....	47
6.1 Impacto e parâmetros clínicos nas novilhas sob consumo das distintas dietas de confinamento .....	47
6.2 Macroscopia e histologia ruminal .....	49
6.3 Aspecto histológico laminar .....	51
6.3.1 Morfometria celular nas lâminas .....	52
6.3.2 Afunilamento e estiramento das lâminas epidermais secundárias .....	54
6.3.3 Infiltrados inflamatórios no tecido laminar .....	55
6.4 Alinhamento falangeano .....	57
6.5 Aspecto histológico do coxim digital .....	58
6.5.1 Proporção de tecido conjuntivo, adiposo e vascular do coxim digital ....	58
6.5.2 Peso, volume e espessura do coxim digital .....	59
6.6 Desempenho zootécnico (ECC, GMD e rendimento de carcaça) .....	60
7 Conclusões .....	62
Referências bibliográficas .....	64

## **1 Introdução**

A pecuária de corte é uma atividade com grande importância na economia brasileira, destacando o país no cenário mundial por possuir o segundo maior rebanho exportador de carne bovina (ANUALPEC; USDA, 2015). A exploração extensiva é o sistema predominante no país, contudo, a alta competição por áreas entre a pecuária e a agricultura tem gerado a necessidade de intensificação da produção, sendo a criação em confinamento uma alternativa promissora para aumentar a produtividade (LOPES et al., 2007).

No que se refere aos custos variáveis, o sistema intensivo tem despesas consideravelmente maiores, principalmente devido ao investimento com a alimentação dos animais. Todavia, os custos fixos (valores gastos com a propriedade) são muito pequenos quando comparados ao sistema extensivo (SOARES et al., 2015; PACHECO et al., 2016). Ainda que o fornecimento de alimentos concentrados eleve os custos de produção, o aumento da proporção de concentrado da dieta melhora o desempenho animal, ao aumentar o ganho de peso diário e reduzir o tempo de terminação. Assim, o confinamento permite um maior volume de produção no mesmo espaço físico garantindo alta rentabilidade ao sistema (MISSIO et al., 2009).

Rotineiramente, como forma de melhorar a relação custo/benefício do sistema de criação, a determinação do nível de relação volumoso/concentrado do alimento fornecido aos animais varia em função da sazonalidade e do preço desses produtos no mercado durante o momento da compra (SOARES et al., 2015; PACHECO et al., 2016). Dessa forma, a escolha dos ingredientes a serem utilizados na formulação das dietas acaba sendo pautada por questões econômicas com a constante possibilidade de alteração na formulação das dietas (MILLEN et al., 2009).

Todavia, diversos autores sugerem que essa alteração na alimentação dos bovinos pode acarretar consequências indesejáveis como o surgimento de síndromes metabólicas e problemas no sistema locomotor (MULLING

&GREENOUGH, 2006; OESTERTOCK, 2009; SOUZA et al., 2006; VATANDOOST et al., 2009).

O incremento energético na dieta dos bovinos pode promover mudanças na constituição química das estruturas que compõem o casco dos animais, como o tecido córneo (BAGGOTT et al., 1988) e o coxim digital bovino (BAIRD et al., 2010).

A inclusão de alimentos ricos em carboidratos de fácil metabolização na dieta de bovinos pode ocasionar o desenvolvimento de alterações metabólicas como a acidose ruminal subclínica (SARA) (ORTOLANI et al., 2010). Esse distúrbio metabólico além de gerar queda acentuada na motilidade ruminal, ingestão e ruminação também pode afetar, secundariamente, o sistema locomotor (MULLING & GREENOUGH, 2006; GRÜNBERG & CONSTABLE, 2009).

A etiologia precisa e a patogênese de problemas de casco em ruminantes não é totalmente conhecida (BOOSMAN et al., 1991). A dieta pode ser um fator predisponente de distúrbios de locomoção, no entanto, o conhecimento dos mecanismos que levam a esses distúrbios têm sido descritos principalmente de forma empírica e muitas vezes são extrapolados da espécie equina. Porém, existem diferenças anatomofuncionais entre as duas espécies, como ausência de lâminas secundárias da derme e epiderme no bovino, além da região laminar ocupar apenas a metade distal da terceira falange, sendo menor quando comparada aos equinos (GREENOUGH, 2007). Dessa forma, a área de aderência da falange ao estojo córneo, por intermédio da região laminar é bem menor nos bovinos em relação aos equinos (LISCHER et al., 2002). Soma-se a isso, o fato dos equinos serem animais monogástricos e os bovinos poligástricos (ruminantes), o que não permite uma perfeita comparação entre as duas espécies.

Apesar disso, cabe ainda salientar que, enfermidades como a acidose ruminal subclínica(SARA) e as afecções podais, de forma geral, provocam sinais clínicos de inapetência devido à indigestão e dor, tornando-se alguns dos

maiores problemas relacionados ao bem-estar animal em bovinos (FLOWER & WEARY, 2009). Um sistema produtivo deve buscar por meio do manejo sustentável a obtenção dos melhores níveis produtivos e zootécnicos, sem abrir mão do bem-estar dos animais, respeitando seu metabolismo e sua fisiologia.

A nutrição em relação ao risco de claudicação vem sendo criticamente avaliada, particularmente quando associada a grandes quantidades de alimentos concentrados, ou seja, o aumento do risco de claudicação está associado ao consumo de dietas de alto grão (MANSON & LEAVER, 1988a) e elevado consumo de oligofrutose (DANSCHER et al., 2009, 2010; MILINOVICH et al., 2006, 2008; THOEFNER et al., 2004, 2005). Um número elevado de casos clínicos e estudos observacionais fornecem provas de que as dietas ricas em carboidratos rapidamente fermentáveis promovem acidose e que essa, está associada com inflamação do córium (ENEMARK, 2008; RAGFAR, 2007), apesar da compreensão da base causal para essas associações ser limitada. Avanços recentes em meta-genômica estão fornecendo novos conhecimentos sobre as relações entre dietas e microorganismos no rúmen, e espera-se, que estes estudos, proporcionem maior clareza em relação à patogênese dessas condições.

Os registros científicos, até o momento relacionam o impacto da nutrição à região córium/laminar, mas carecem de associação com a saúde da almofada digital, principalmente, quando eventos sistêmicos inflamatórios estão presentes nas lâminas e córium dos dígitos de bovinos submetidos à dietas de alto grão. Essa informação é importante e precisa ser melhor estudada, pois a depleção da almofada digital está associada ao escore de condição corporal, sendo relacionada também à incidência de úlceras de sola e doença da linha branca (BICALHO et al., 2009).

Embora haja abundância de estudos, particularmente em bovinos leiteiros, buscando a compreensão das relações entre as estruturas do casco, coxim digital e associações entre acidose ruminal e claudicação (LEAN et al.,

2013) há, relativamente, poucos estudos controlados aleatorizadas envolvendo bovinos de corte, em confinamento onde normalmente ocorrem episódios de acidose subclínica (PLAIZIER et al., 2009).

Portanto é possível que variações nas proporções de amido da dieta em bovinos de corte possam promover danos ruminais, com efeitos nocivos sistêmicos a outros tecidos inclusive nos constituintes do dígito, como o coxim digital, estando associados aos eventos patológicos ocorridos nos tecidos córium e laminar. Essas mudanças estruturais no casco podem predispor a claudicação e desenvolvimento de lesões podais, gerando perdas econômicas.

Compreender a relação entre as dietas de alto grão com a integridade da parede do casco e a função de suporte oferecido pela almofada digital, através de critérios clínicos e das alterações anatômicas macroscópicas e microscópicas pode ser relevante na manutenção da saúde dos cascos de bovinos de corte em confinamento.

Assim, por todos os motivos já expostos, esse estudo teve como foco, identificar as alterações macroscópicas e microscópicas provocadas por dietas de alto valor energético no ambiente ruminal e no casco de bovinos de corte em confinamento.

## **2 Objetivos**

### **2.1 Objetivo geral**

O objetivo geral deste estudo foi avaliar o impacto de dietas com distintas relações volumoso:concentrado sobre as estruturas macroscópicas e histológicas do tecido ruminal, laminar e coxim digital de bovinos de corte criados em sistema de confinamento.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Avaliar o perfil clínico de bovinos alimentados com diferentes níveis de concentrado na dieta;
- Diferenciar macro e histologicamente o tecido ruminal de bovinos alimentados com diferentes níveis de concentrado na dieta;
- Diferenciar histologicamente o tecido laminar de bovinos alimentados com diferentes níveis de concentrado na dieta;
- Determinar, se as dietas com diferentes níveis de concentrado promoverão alterações no posicionamento da falange distal no estojo córneo de novilhas de corte, sob regime de confinamento;
- Diferenciar, histologicamente, as proporções de tecido conjuntivo, adiposo e vascular do coxim digital de bovinos alimentados com diferentes níveis de concentrado na dieta;
- Quantificar e comparar o volume e peso de tecido lipídico digital entre bovinos alimentados com diferentes níveis de concentrado na dieta;
- Determinar a variação na espessura do espaço de localização do coxim digital dos cascos de novilhas suplementadas com diferentes níveis de concentrado na dieta;
- Caracterizar Escore de Condição Corporal (ECC), ganho médio diário e rendimento de carcaça entre bovinos alimentados com diferentes níveis de concentrado na dieta.

### **3 Hipótese**

Dietas com alta relação de concentrado causam alterações às estruturas macroscópicas e histológicas do tecido ruminal, laminar e coxim digital de bovinos de corte criados em sistema de confinamento.

## **4 Revisão bibliográfica**

### **4.1 Anatomia do casco bovino**

Os bovinos são animais biungulados, ou seja, possuem a porção distal de seu aparelho locomotor (membros torácicos e pélvicos) terminada em dois dígitos. Esses, por sua vez, são recobertos externamente pela unha ou cápsula córnea que envolve e contém em seu interior os ossos, tendões, ligamentos e demais tecidos que compõem a porção distal dos membros (MACLEAN et al., 1971).

No interior da cápsula córnea situam-se a falange distal (terceira falange), a extremidade distal da segunda falange ou falange média, a bolsa podotrocLEAR, o osso sesamóide distal ou navicular, a porção terminal dos tendões extensores e flexores e os ligamentos articulares (TULIO, 2006).

Em relação à morfologia os cascos dos bovinos apresentam regiões distintas denominadas: coroa ou bordo coronário, parede ou muralha do casco, sola ou região palmar, talão e linha branca. As três últimas regiões costumam ser locais comuns para o desenvolvimento de lesões podais secundárias à laminite como úlcera de sola, erosão de talão e doença da linha branca, respectivamente (MARTINS et al., 2008). A linha branca é a região onde se unem o córium solear e córium laminar (KÖNIG E LIEBICH, 2004).

Estruturalmente o casco dos bovinos é composto por diversas estruturas que se relacionam de forma interdependente visando à manutenção do equilíbrio e da saúde dos três tecidos constituintes do casco: a epiderme, a derme e o tecido subcutâneo (TULIO, 2006).

A epiderme é constituída pela cápsula córnea, ou casco, que é a porção externa queratinizada dos dígitos e pode se dividir em estrato basal, estrato germinativo e estrato córneo. O estrato córneo por sua vez é composto pelo estrato externo, estrato médio e estrato interno também chamado de laminar (MENDES et al., 2010).

Já a derme também chamada de córion é um tecido altamente vascularizado que proporciona o aporte sanguíneo necessário para garantir a nutrição das demais estruturas (epiderme e tecido ósseo). A derme é

subdividida em três regiões: o perióplo ou derme coronariana (banda coronária) formada por papilas vascularizadas, a derme tubular ou parietal (localizada abaixo da derme coronariana) e a derme lamelar (porção vascular intimamente ligada à falange distal) (ACUÑA, 2004; BUDRAS et al. 1998).

O tecido subcutâneo compõe o coxim digital bovino ou almofada digital responsável pela absorção e consequente amortecimento dos impactos gerados pelo peso do animal durante seu deslocamento (BAIRD et al., 2014; BORGES et al., 2015).

O coxim digital bovino também chamado de almofada digital ou tórus digital é uma estrutura lipídica, responsável pela amortização dos efeitos que o peso do animal exerce nas estruturas que constituem o casco esteja o animal em movimento ou em estação. Essa estrutura também é responsável por auxiliar o retorno venoso do sangue que irriga e nutre as estruturas internas do casco (BORGES et al. 2015).

Localizado entre a falange distal e a sola, o coxim auxilia na dissipação das forças dentro da cápsula córnea e a prevenir a compressão e o trauma eventual às estruturas adjacentes. Consiste de três porções com formato cilíndrico (axial, média e abaxial) que se estendem paralelamente acompanhando o tendão flexor profundo até o talão (RÄBER et al., 2004).

A almofada digital é formada pelo tecido subcutâneo modificado e composta por tecido conjuntivo fibroelástico, fibras colágenas, tecido adiposo e vasos sanguíneos (LIMA et al., 2014).

## **4.2 Histologia do casco bovino**

A parte externa da cápsula córnea bovina (epiderme) é formada a partir da diferenciação celular dos queratinócitos do estrato basal. A epiderme é formada por quatro camadas celulares: estrato basal (camada mais interna), estrato espinhoso, estrato granuloso e estrato córneo (camada mais externa). Essa diferenciação (queratinização) permite o constante crescimento e renovação celular da cápsula córnea a partir do processo de proliferação,

diferenciação e cornificação (morte programada) dos queratinócitos (TOMLINSON et al., 2004).

Os queratinócitos produzem em seu interior filamentos de queratina, uma proteína estrutural composta por vinte aminoácidos, insolúvel em água que confere principalmente rigidez e impermeabilidade à epiderme. A cisteína é um dos aminoácidos que constituem a queratina e possui um átomo de enxofre em sua molécula (grupamento sulfidríla). Essa característica permite que a cisteína constitua pontes dissulfeto, ligações moleculares muito fortes que garantem a estabilidade da queratina (RAKES & CLARK, 1984). Quanto maior o grau de diferenciação celular, maior o conteúdo de cisteína nas células (GODWIN, 1962). Externamente os queratinócitos se encontram envolvidos por uma substância extracelular, o cemento, produzido na camada espinhosa e constituído por glicoproteínas e lipídeos que conferem aderência às células (TULIO et al., 2006).

A lâmina basal separa a epiderme da derme e é composta por colágeno e glicoproteínas. Sua função, além de manter a aderência entre as estruturas é de orientar o crescimento dos queratinócitos. Dessa forma, danos à membrana basal podem ocasionar a formação de um tecido córneo de má qualidade e mais susceptível à traumas externos (GREENOUGH, 2007; SHEARER et al. 2006) .

A derme, região altamente vascularizada e enervada responsável pelo aporte nutricional das demais estruturas do casco, é constituída principalmente por fibras colágenas e fibras elásticas. Na parte solear a derme apresenta papilas que se projetam na epiderme (junção dermo-epidermal), essas estruturas aumentam a aderência e garantem maior estabilidade ao casco durante movimentos de tração (KÖNIG E LIEBICH, 2004; SHEARER et al. 2006).

### **4.3 Fatores predisponentes às lesões dos cascos**

KNOTT et al. (2007) elencaram os fatores de risco para lesões dos cascos e os classificaram em três categorias: ambiental, anatômico e sistêmico. O risco ambiental se refere a características como a dureza do piso,

a quantidade e composição de matéria orgânica acumulada, superfície desconfortável para deitar (forçando os animais a passarem longos períodos em estação) e trauma físico aos cascos causados por superfícies irregulares. A anatomia dos cascos pode predispor a lesões quando o animal apresenta má conformação de pernas e pés, crescimento exagerado dos cascos e excesso de peso. Já os fatores sistêmicos se referem, por exemplo, aos efeitos tóxicos por distúrbios ruminais (acidose) e alterações hormonais que acompanham os eventos referentes ao parto e à lactação.

#### **4.4 Biomecânica**

Em condições normais os bovinos distribuem 60 % de seu peso corpóreo sobre os membros anteriores e 40 % sobre os membros posteriores. Contudo, o fato de os membros torácicos estarem ligados ao corpo por meio de tendões e ligamentos favorece o amortecimento dos impactos gerados aos dígitos ainda que esses suportem uma maior carga. Já a ligação dos membros pélvicos através da articulação sacro-ilíaca (coxo-femoral) é mais rígida, dessa forma, os impactos de deslocamento e sustentação do peso são absorvidos quase que exclusivamente pelos dígitos (FERREIRA, 2005).

Alterações nessa distribuição natural do peso corporal promovem o desgaste desigual do estojo córneo favorecendo o aparecimento de lesões nos cascos (LIMA, 2011).

O ambiente também é um fator determinante na biomecânica dos cascos. Além disso, em pisos duros como o concreto o desgaste das solas pode ser até 35% superior quando comparado às solas de animais criados a campo (TRANter & MORRIS, 1992). Em terrenos macios, mais semelhantes aos naturais, o apoio do peso corpóreo sustenta-se, em maior parte, na região axial da sola devido ao afundamento no solo da região bulbar e parte da parede do casco (SAGUES, 2002).

Os dígitos posteriores laterais dos bovinos sustentam a maior parte do peso em comparação com os dígitos mediais além de possuírem uma maior área de contato com o solo. Quando em estação a região bulbar do casco

lateral sofre maior pressão e essa força pode ser até duas vezes maior quando o animal está em movimento (VAN DER TOL et al., 2003).

A conformação dos cascos ou morfometria pode influenciar a biomecânica do animal uma vez que a área de contato do dígito com o piso pode ser afetada pelo tamanho ou formato da unha (VAN DER TOL et al., 2003). A presença de lesões dolorosas também pode alterar a distribuição do peso corporal uma vez que o animal procura diminuir o impacto sobre a região afetada (FLOWER et al. 2005).

#### **4.5 Morfometria digital**

Os estudos morfométricos têm como finalidade principal avaliar tanto a qualidade quanto a saúde dos cascos de bovinos visando colaborar para a compreensão da etiopatogenia das enfermidades podais (PINTO et al., 2017). Essa visão aborda o fator individual, ou seja, sugere que exista uma predisposição do animal acometido no surgimento de enfermidades consideradas de causa multifatorial (TULIO, 2006).

Raças com dígitos maiores tendem a apresentar baixos índices de claudicações e problemas relacionados ao sistema locomotor. Assim, as medidas morfométricas, por sua relativa herdabilidade (DISTL et al. 1990), podem ser utilizadas para a seleção de animais mais resistentes às enfermidades podais.

Embora a morfometria seja um tema ainda pouco abordado na literatura científica, acredita-se que o estabelecimento de padrões morfométricos dentro das diferentes raças na espécie bovina pode contribuir para a escolha de animais menos susceptíveis às condições ambientais e de manejo (CAMPOS, 2012). Fatores esses de grande relevância e que também podem desencadear o desenvolvimento de claudicações e afecções de casco (SILVA, 2012).

A determinação do padrão morfométrico dos dígitos hígidos de bovinos pode auxiliar os profissionais da área de podologia em procedimentos que busquem tanto os cuidados profiláticos e rotineiros de casqueamento quanto o

tratamento de enfermidades como a úlcera de sola, erosão de talão e doença da linha branca (TULIO, 2006).

A mensurações dos dígitos podem ser obtidas de diversas formas como a partir de paquímetro eletrônico (LIMA, 2011) ou paquímetro mecânico (SILVA et al., 2015), transferidor graduado (CAMPOS, 2012), análise de imagens radiográficas ou imagens tomográficas (SILVA, 2012) e também através de podogoniômetro (PINTO et al., 2017).

#### **4.6 Acidose ruminal**

O consumo de alimentos altamente metabolizáveis ricos em carboidratos gera a produção de grandes quantidades de ácido lático no ambiente ruminal devido à rápida proliferação de bactérias Gram-positivas. Essa sobrecarga leva a diminuição do pH do fluido ruminal provocando o desenvolvimento da acidose ruminal. A persistência do quadro de acidose por longos períodos pode ocasionar a diminuição dos movimentos ruminais e até mesmo a atonia do órgão, dificultando ainda mais a remissão dos sinais e resolução do quadro clínico. A acidose sistêmica é a evolução da enfermidade e cursa com sinais de diarreia, desidratação, inapetência, prostração, coma e pode levar o animal a óbito (ORTOLANI, 1979). A acidose ruminal pode se desenvolver de duas formas: acidose ruminal aguda na qual geralmente o animal ingere um grande volume de alimento concentrado de uma só vez e a acidose ruminal subclínica (SARA).

A SARA se desenvolve a partir de um desequilíbrio nutricional da dieta. O organismo do animal é mantido por longos períodos em acidose, com pH de fluido ruminal abaixo de 5,8. Os sinais clínicos são pouco perceptíveis e a enfermidade acarreta efeitos ao longo prazo como o desenvolvimento de hiperqueratose das papilas ruminais, rumenites, úlceras no rúmen, abscessos hepáticos e acometimento do sistema locomotor (VECHIATO, 2009).

#### 4.7 Laminite

A laminite é uma manifestação clínica caracterizada pela inflamação asséptica das lâminas do casco. Essa condição não possui uma etiopatogenia estabelecida sendo seu desenvolvimento comumente atribuído a causas multifatoriais como manejo alimentar, ambiente ou como manifestação secundária em decorrência de outras enfermidades como a acidose ruminal. O aumento de volume provocado pelo edema devido à inflamação das estruturas internas do casco associado à rigidez da cápsula córnea que impede a distensão da estrutura geram uma sensação bastante dolorosa ao animal. A laminite nos bovinos pode manifestar-se de três formas distintas: aguda, subclínica e crônica (FERREIRA et al. 2005).

A laminite aguda é a forma menos comum da doença e está relacionada às alterações que ocorrem durante o início da lactação como o relaxamento das estruturas por efeito hormonal e diminuição da espessura do coxim digital. Os sinais clínicos da laminite aguda são: a claudicação, o aumento de temperatura dos cascos, a dificuldade do animal em locomover-se e de manter-se em estação, a congestão, o edema e a demonstração de sensibilidade da banda coronária ao pinçamento digital (DANSCHER et al. 2010).

Na laminite subclínica ou subaguda os sinais no decorrer da enfermidade não são precisos ocorrendo raramente sua identificação no início da manifestação. A evolução da laminite subclínica ocorre normalmente com o surgimento de lesões na região da sola (úlceras, erosões e hemorragias) (FERREIRA et al. 2005).

Os casos de laminite crônica ocorrem após longos períodos de desenvolvimento da enfermidade. Nessa fase os sinais clínicos cursam com deformações no estojo córneo, diminuição do ângulo das pinças (cascos achinelados) e fendas na muralha. Essas alterações estão relacionadas à formação de um tecido córneo de baixa qualidade por deficiências nutricionais ou transtornos metabólicos decorrentes do desenvolvimento da laminite (MARTINS et al., 2008).

Macleon et al. (1971) descreveram a histopatologia da laminite aguda e da laminite crônica em vacas leiteiras. Os achados histopatológicos na laminite

aguda caracterizam-se por: hiperemia no córium solear, córium laminar, lamina dermal e papilas, diapedeses no córium laminar e solear, trombozes e distensão em grandes e pequenos vasos, macrófagos com hemosiderina, edema ao redor dos grandes vasos e tecidos adjacentes, grandes hemorragias no córium solear, infiltrado inflamatório, células do estrato germinativo inchadas e desorganizadas com núcleos aumentados, arredondados e menos corados e nucléolo em posição central. Já nos casos de laminite crônica as características histopatológicas apontadas foram: alterações vasculares nas regiões solear e laminar, dilatação de capilares e vênulas, hipertrofia da túnica media, proliferação da túnica íntima e fibrose da túnica adventícia de arteríolas e artérias, neovascularização na base da lamina dermal, esclerose do tecido conjuntivo, presença de tecido granular e fibroso ao longo do córium, infiltrado de células mononucleares na base da lamina epidermal e ao redor dos plexos vasculares.

A laminite por ser um processo iniciado a partir de um distúrbio vascular tem suas primeiras consequências demonstradas na derme ou córium região responsável pela nutrição das demais estruturas do casco (LARSON et. al., 1956). Os distúrbios vasculares dificultam ou até mesmo impedem a irrigação adequada das células epidermais o que pode ocasionar ao longo prazo a formação de um tecido cornificado de baixa qualidade (MÜLLING & LISCHER, 2002).

Ossent e Lischer (1998) descreveram a progressão das lesões na patologia da laminite em três fases: A primeira sendo um distúrbio vascular incluindo hemorragia, isquemia e trombose. A segunda fase com inflamação e necrose tecidual com afundamento da terceira falange e uma terceira fase com lesões ulcerativas de sola, erosão e separação da linha branca e deformação da cápsula do casco.

#### **4.8 Efeito nutricional na fisiologia e anatomopatologia do organismo de bovinos**

Nutricionalmente, tanto o excesso, quanto a depleção de macro e micronutrientes na dieta de bovinos pode predispor a claudicações ou afetar a

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

Os parâmetros dos componentes dietéticos necessários para se atingir a qualidade biomecânica ideal na formação estrutural dos tecidos do casco ainda não estão completamente estabelecidos. Entretanto, não há dúvidas de que, o desenvolvimento de um casco saudável depende da qualidade de formação e manutenção de suas estruturas constituintes (LEAN et al., 2013).

Dietas pobres em enxofre (elemento importante das pontes dissulfeto) podem contribuir para formação de um tecido córneo de baixa qualidade, afetando dessa forma a estabilidade do casco bovino. Da mesma forma que dietas com baixo teor lipídico como no caso de forragens conservadas podem determinar perda de estabilidade estrutural no casco uma vez que a substância cementante é, em grande parte, formada por lipídeos.

Um plano alimentar constituído principalmente por carboidratos de fácil metabolização pode causar distúrbios de queratinização, levando às alterações morfológicas e de dureza da queratina, atuando, portanto, como um fator predisponente de alterações nos locomotores (BAGGOTT et al., 1988; HENDRY et al., 1999).

A infusão intraruminal de ácidos graxos voláteis é capaz de induzir distúrbios nos epitélios estratificados do rúmen, cascos, focinho e chifres de bezerros, evidenciando a ação sistêmica dos ácidos (COSTA, 2003). A elevada acidez no ambiente ruminal causada pelo fornecimento de carboidratos não-estruturais (amido) provoca a hiperqueratose das células da mucosa reduzindo a absorção de ácidos graxos voláteis, contribuindo também, para a ocorrência de inflamação (STEELE et al., 2011).

Casos de acidose ruminal aguda induzida experimentalmente provocam hiperemia dos cascos, levando a acreditar que existe uma ligação entre nutrição e problemas de casco (MORROW et al., 1973). Segundo Berchielli et

al. (2009), isso é causado pelas mudanças na formação do tecido córneo da sola do casco, além de alterações vasculares devido a liberação de mediadores vasoativos durante episódios de acidose ruminal. No entanto, faltam estudos com bovinos de corte em condições comerciais de produção nas quais normalmente ocorre acidose subclínica (pLAIZIER et al., 2009).

Contudo, o que tem sido mais aceito é a possibilidade de múltiplos fatores, atuando isoladamente ou em conjunto, afetarem a habilidade da célula epitelial de sintetizar proteínas de queratina e substância intracelular. O aumento na taxa de diferenciação celular pode resultar em queratinização incompleta ou prematura das células epiteliais, provocando uma produção de queratina de qualidade inferior (BUDRAS et al., 1996). Portanto, distúrbios de queratinização podem atuar como fator predisponente de problemas de casco em bovinos.

Assim, além de mudanças na queratinização do estojo córneo é possível que variações na dieta de bovinos de corte possam promover efeitos deletérios sistêmicos a outros tecidos constituintes do dígito, como tecido laminar e coxim digital. Essas mudanças estruturais no casco podem predispor a maiores taxas de claudicação e desenvolvimento de lesões podais, gerando perdas econômicas. Morfologicamente a proporção das estruturas constituintes do casco, em especial do coxim digital, pode variar conforme a dieta (BAIRD et al., 2010), idade (RÄBER et al., 2006), escore de condição corporal (BICALHO et al., 2009) e raça dos animais (SILVA et al., 2015).

A adição de sementes de linhaça à dieta de touros proporciona um incremento de ácidos graxos de cadeia longa na composição do coxim digital desses animais. Os autores desse estudo sugerem que as mudanças na composição do coxim digital bovino podem promover maior suporte dos cascos e que, portanto, as alterações como o teor dos ácidos graxos precisam ser considerados no caso de alterações dietéticas (BAIRD et al. 2014).

O depósito lipídico no coxim digital de bovinos é diretamente afetado pela dieta (CASUTT et al. 1999). Em consequência de um plano alimentar diferenciado a composição do coxim digital também varia entre animais confinados e animais de sistema extensivo. Bovinos confinados possuem

menor teor lipídico e maior concentração de ácidos graxos ômega-6 nas almofadas digitais enquanto os animais provenientes de sistema extensivo apresentaram maior concentração de ácidos graxos ômega-3 (RABER et al 2015).

Novilhas apresentam maiores taxas de ácidos graxos saturados nos coxins digitais do que as vacas, a partir da primeira lactação a taxa de ácidos graxos vai aumentando gradativamente. A partir da terceira lactação a gordura dos coxins também vai diminuindo assim como a sua espessura com o avanço da idade e passar das lactações (IZCI et al. 2011).

Durante a lactação a mobilização de gordura corporal para a formação do leite ocasiona a diminuição da espessura do coxim digital. Esse fato combinado ao relaxamento das estruturas suspensórias do casco pela ação hormonal permite a mobilidade da terceira falange. O afundamento da terceira falange ocasiona contusões à região da sola, por esse motivo as claudicações são comumente descritas na fase de lactação em especial para primíparas que já possuem normalmente coxins digitais menos espessos (BICALHO et al., 2009).

A concentração lipídica varia entre as diferentes porções do coxim digital. Aparentemente o incremento lipídico na dieta não afeta a concentração lipídica nos coxins mas pode afetar a sua composição (BAIRD et al., 2010). O conteúdo lipídico do coxim é mais vulnerável a dietas pobres em ácidos graxos e antioxidantes como a vitamina E em baixas concentrações do que ao teor lipídico dietético (LEAN et al, 2013). As almofadas digitais por sua maior concentração lipídica em comparação à outros tecidos do corpo do animal sofrem diretamente os efeitos de uma dieta com teor restrito de lipídeos.

Manson e Leaver (1998) forneceram diferentes quantidades de concentrado a novilhas e perceberam o aumento nos escores de locomoção, entretanto, os escores foram diminuindo no decorrer das semanas de lactação. A recuperação de alterações no tecido laminar de vacas em período pós-parto também foi descrita por Tarlton et al., (2002) em um período de 12 semanas de observação. Segundo os autores, quando são minimizadas as interferências ambientais, as estruturas do casco se regeneram, ao passo que persistindo as

agressões ambientais as lesões se exacerbam. Esse fato ressalta a importância do efeito ambiental na patogenia das lesões de cascos.

## 5 Metodologia

Os procedimentos aqui descritos foram realizados mediante a aprovação da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), sob o código CEEA 0105185/2017.

O presente estudo foi composto por duas etapas. A primeira a campo onde foram aplicados os tratamentos e realizadas as coletas de dados e amostras no confinamento e frigorífico. Subsequentemente, as amostras foram processadas e analisadas no Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas - UFPel.

### 5.1 Estação experimental

O experimento foi conduzido na cidade de São Lourenço do Sul - RS, nas coordenadas geográficas 31°16'31.0"S 51°59'54.5"W, em propriedade com confinamento comercial de bovinos de corte e frigorífico, onde os animais foram terminados e abatidos respectivamente (Figura 1).



**Figura 1.** Estrutura física de estação experimental, São Lourenço do Sul - RS. 1: Galpões de confinamento; 2: Frigorífico; 3: Tronco de contenção; 4: Balança de pesagem; 5: Pista de aferição do escore de locomoção; 6: Casa do veterinário; 7: Silos secadores de grão.

O confinamento foi em sistema de galpão fechado (galpão de encerra) em baias coletivas de 6x7 m totalizando 42 m<sup>2</sup> (4,2 m<sup>2</sup>/cabeça) e pé direito de seis metros, proporcionando sombreamento e dimensões adequadas para auxiliar no conforto, diminuir estresse térmico e favorecer o bem-estar dos animais. As baias tinham piso de concreto levemente inclinado para facilitar a limpeza de dejetos, bebedouros com enchimento automático e cochos de alimentação.

O frigorífico cumpre com todos os requisitos legais e sanitários para funcionamento dentro das normas municipais (BRASIL, 1997).

## **5.2 Animais e delineamento experimental**

Para a condução do experimento foram utilizadas 40 novilhas (*Bos taurus taurus*) das raças Angus e Hereford, sendo 20 novilhas Angus e 20 Hereford, com idades aproximadas de 18 meses e peso médio inicial de 341 ± 57,13 kg. Todas eram provenientes de recria em sistema de pastejo contínuo de campo nativo. Em termos morfométricos, a população selecionada foi relativamente, homogênea e consistente com os padrões fenotípicos das raças.

Para que os bovinos fossem incluídos no estudo, os mesmos deveriam se enquadrar nos seguintes critérios:

(1) não ter histórico de tratamento recente com antiinflamatórios não esteroidais (AINE) e/ou antiinflamatórios esteroidais (AIE);

(2) apresentar Escore de Condição Corporal (ECC) entre três e quatro, em uma escala de zero a cinco, onde zero significa muito magro e cinco significa obeso (NICHOLSON & BUTTERWORTH, 1986).

Todos os animais selecionados eram clinicamente hígidos e não apresentavam histórico de doença sistêmica ou de lesões de casco.

Após esta prévia seleção, realizou-se a separação dos animais em quatro lotes experimentais, a partir de blocos ao acaso, com cinco animais por raça em cada grupo. Desta forma, buscou-se o controle “a priori” da variabilidade das novilhas, agrupando as mesmas em blocos homogêneos, removendo-se uma fonte de variabilidade (raça) (Figura 2).



**Figura 2.** Grupos experimentais logo após delineamento com as raças Hereford e Angus.

Posteriormente, todos os animais foram identificados com brincos numerados, pesados, e avaliados novamente quanto ao ECC para registro individual dos dados zootécnicos. As novilhas foram confinadas em quatro baias coletivas (10 novilhas/baia) com fornecimento de água *ad libitum* e arraçoamento realizado duas vezes ao dia.

### 5.3 Tratamentos

Quatro dietas, consistindo em diferentes níveis de relação volumoso:concentrado foram desenvolvidas para provocar variações de pH ruminal, na população experimental. Quarenta animais foram divididos em quatro grupos de dez, sendo:

**Grupo 1 - Dieta 1** - 48% de volumoso e 52% de concentrado;

**Grupo 2 - Dieta 2** - 30% de volumoso e 70% de concentrado;

**Grupo 3 - Dieta 3** - 30% de volumoso e 70% de concentrado + sacarose;

**Grupo 4 - Dieta 4** - 100% de concentrado (Tabela 1).

Na tabela 1, podem ser observados os ingredientes utilizados nas dietas experimentais.

Tabela 1. Caracterização das dietas (kg/MS) fornecidas as novilhas pertencentes às raças Angus e Hereford confinadas

Alimentos	Tratamentos (Relação volumoso/concentrado)			
	1 (48:52)	2 (30:70)	3 (30:70)	4 (0:100)
Silagem de milho, kg/MS	3,750	2,240	2,240	0,00
Concentrado, kg/MS	4,050	5,440	5,440	7,425
CMS, kg	7,800	7,680	7,680	7,425

**CMS: Consumo de matéria seca total**

As exigências dos animais foram determinadas de acordo com o National Research Council (NRC) (1996). Ao longo do experimento foram coletadas amostras dos alimentos (Tabela 2) e das dietas (Tabela 3) para análise bromatológica dos alimentos oferecidos as novilhas.

Tabela 2. Composição bromatológica dos alimentos oferecidos às novilhas das raças Angus e Hereford confinadas

Componentes	Alimentos		
	Volumoso	Concentrado (Dietas 1, 2 e 3)	Concentrado (Dieta 4)
MS, %	35,5	90,0	90,0
MM, %	2,5	3,17	1,75
FDN, %	59,2	23,77	28,54
FDA, %	30,31	13,91	14,54
PB, %	6,39	14,77	11,32
EE, %	4,0	4,97	5,37
NDT, %	60,00	67,71	81,29

**MS: Matéria seca; MM: Matéria mineral; FDN: Fibra em detergente neutra; FDA: Fibra em detergente ácida; PB: Proteína bruta; EE: Estrato etéreo; NDT: Nutriente digestível total**

Tabela 3. Composição bromatológica das dietas experimentais

Componentes	Dietas (Relação volumoso:concentrado)		
	1 (48:52)	2 e 3 (30:70)	4 (0:100)
MS, %	100	100	100
MM, %	1,20	0,75	1,75
FDN, %	43,25	37,73	28,54
FDA, %	22,35	19,42	14,54
PB, %	8,90	9,84	11,32
EE, %	4,71	4,96	5,37
NDT, %	71,07	74,90	81,29

**MS: Matéria seca; MM: Matéria mineral; FDN: Fibra em detergente neutra; FDA: Fibra em detergente ácida; PB: Proteína bruta; EE: Estrato etéreo; NDT: Nutriente digestível total**

Com exceção dos animais que receberam a dieta 4, todas as novilhas dos outros grupos experimentais foram submetidas a 15 dias de adaptação aos planos nutricionais impostos, sendo as novilhas divididas em quatro grupos de 10 animais, com diferentes níveis de amido e carboidratos solúveis.

As dietas 2 e 3 foram idênticas, quanto a oferta de alimento, diferenciando-se apenas na adição de  $4,038 \pm 0,273$  kg de sacarose (alimento altamente energético), administrado por via oral, em dose única, através de sonda ororuminal, uma semana previamente ao abate. O cálculo da quantidade de sacarose fornecida foi baseada na técnica descrita por Ortolani (1995), seguindo a equação  $Y = 1057 + 43,1 \times PV^{0,75}$ , onde Y é a quantidade de sacarose expressa em gramas, PV é o peso vivo em quilos e  $PV^{0,75}$  corresponde ao peso metabólico. O resultado obtido, a partir desta fórmula foi decrescido em 15%, como realizado por Maruta (2002), visando minimizar os riscos a saúde dos animais.

A silagem de milho foi produzida através do plantio de milho na propriedade, e o concentrado misturado aos ingredientes foi disponibilizado pelo estabelecimento rural. As quantidades dos alimentos fornecidos e sobras diárias, de todos os grupos foram pesadas e ajustadas de forma a sempre permitir cinco a dez por cento de sobras (CAMPOS et al., 2016).

#### 5.4 Manejo e cuidados com os animais

Os animais foram submetidos a um período de adaptação com duração de 15 dias previamente ao início do experimento (exceto o grupo 4), objetivando acostumarem-se à dieta usada em confinamento, ao ambiente e ao manejo. Após esse período, os bovinos receberam as dietas dos tratamentos por 45 dias totalizando dois meses de confinamento.

As dietas dos diferentes tratamentos foram fornecidas *ad libitum* e divididas em duas refeições diárias (08:00 e 17:00 horas), com ingestão *ad libitum* de água. A quantidade de alimento fornecido era pesada diariamente e ajustada de forma a sempre permitir cinco a dez por cento de sobras, que posteriormente eram pesadas e registradas diariamente antes da primeira refeição do dia (CAMPOS et al., 2016).

Diariamente, os animais eram retirados das baias e conduzidos à uma área externa fechada, onde eram estimulados a movimentarem-se para observação do escore de locomoção. A limpeza das baias era realizada semanalmente durante a saída dos animais para a área externa.

#### 5.5 Avaliação clínica

Ao término do confinamento, quando os animais foram destinados ao jejum pré-abate, realizou-se o exame clínico geral e aferição do pH ruminal em todos os animais, individualmente, em um brete de contenção. Nos animais induzidos (Grupo 3) realizou-se os exames 24 horas pós indução.

O exame clínico geral dos animais incluiu auscultação da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), tempo de preenchimento capilar (TPC), aferição da temperatura retal (TC°), turgor cutâneo (TC), coloração das mucosas (CM) e motilidade ruminal (MR) conforme descrito por Feitosa (2004).

Para mensuração do pH foram colhidas amostras de fluido ruminal logo após o exame clínico, no período vespertino, a partir de ruminocentese dorso-medial e mensuração aferida por pHmetro portátil (NORO et al., 2013).

A avaliação do grau de claudicação dos animais foi realizada diariamente em uma área cercada ao lado das baias de confinamento segundo

o escore de locomoção caracterizado por Ferreira (2005), durante todo confinamento (Tabela 4).

Tabela 4. Avaliação do grau de claudicação conforme as alterações clínicas apresentadas

Grau de claudicação	Alterações clínicas
1 (normal)	Ausência de anormalidades de postura ou deambulação.
2 (levemente manco)	Dorso arqueado quando deambulam.
3 (moderadamente manco)	Dorso arqueado quando em estação e ao caminhar. Andar afetado, apresentando passos curtos em um ou mais membros.
4 (manco)	Dorso arqueado e passos cautelosos, poupando um ou mais membros.
5 (gravemente manco)	Inabilidade ou relutância extrema em colocar peso sobre um ou mais membros.

Fonte: Ferreira (2005)

Com a finalidade de minimizar interferências na avaliação ortopédica, optou-se por acostumar os animais a essa intervenção no período de adaptação. As novilhas eram conduzidas a pé, calmamente, em solo firme de terra, e avaliadas a passo e ao trote. Todas as avaliações do grau de claudicação foram realizadas pelo mesmo observador.

Os quadros de diarreia foram observados no momento de alimentação, coleta de sobras e durante as aferições dos escores de locomoção.

## 5.6 Avaliações zootécnicas de desempenho

Todos os animais foram pesados e tiveram seu Escore de Condição Corporal (ECC) estimado ao começo e final do experimento, mediante balança e avaliação visual, respectivamente, após jejum de 12 horas.

O ECC foi determinado a partir de escore de um a cinco, como descrito por Nicholson e Butterworth (1986). O ganho médio diário foi calculado com a diferença entre o peso vivo final e o peso vivo inicial, dividido pelo número total de dias em que o animal ficou confinado. O rendimento de carcaça de cada

animal foi calculado multiplicando-se por 100 o resultado da divisão entre o peso da carcaça fria e o peso vivo ao final do confinamento no jejum pré abate (EZEQUIEL et al., 2006).

### **5.7 Obtenção de amostras *post mortem***

Após aferição do peso corporal em jejum, todos os animais foram abatidos no frigorífico por concussão cerebral, seguida por secção da veia jugular, de acordo com o MAPA (BRASIL, 2000).

Durante o abate foram realizados o exame macroscópico com registro fotográfico individual dos rúmens e fígados buscando observar possíveis ocorrências de ruminites e abscessos hepáticos, respectivamente. Amostras de fígado e rúmen foram identificadas, coletadas e fixadas em solução de formalina a 10%, para posterior processamento histológico (LUNA, 1968).

Com o objetivo de assegurar a correta identificação das amostras digitais colhidas, os membros foram identificados com abraçadeiras numeradas, presas a região distal do metacarpo/metatarso, imediatamente após a desarticulação intercarpiana e intertarsiana (MENDES et al., 2013). Ao término do abate, ainda no frigorífico, os dígitos mediais e laterais de todos os membros foram seccionados no plano sagital com auxílio de serra de fita (Figura 3).

Seguinte a abertura dos dígitos foi realizada a divulsão e secção do coxim digital completo, tecido laminar na região próximo distal dorsal da unha, derme coronária e derme da sola de todos os dígitos dos membros coletados. Os fragmentos de coxim digital foram pesados em balança de precisão, sendo o volume determinado, imergindo-se o coxim em uma proveta de 20 mL com água. Todas as amostras digitais coletadas foram identificadas a partir dos lacres numerados, previamente usados como forma de identificar o animal e membro. A fixação também foi realizada com solução de formalina a 10% para posterior processamento histológico (LUNA, 1968) (Figura 3).



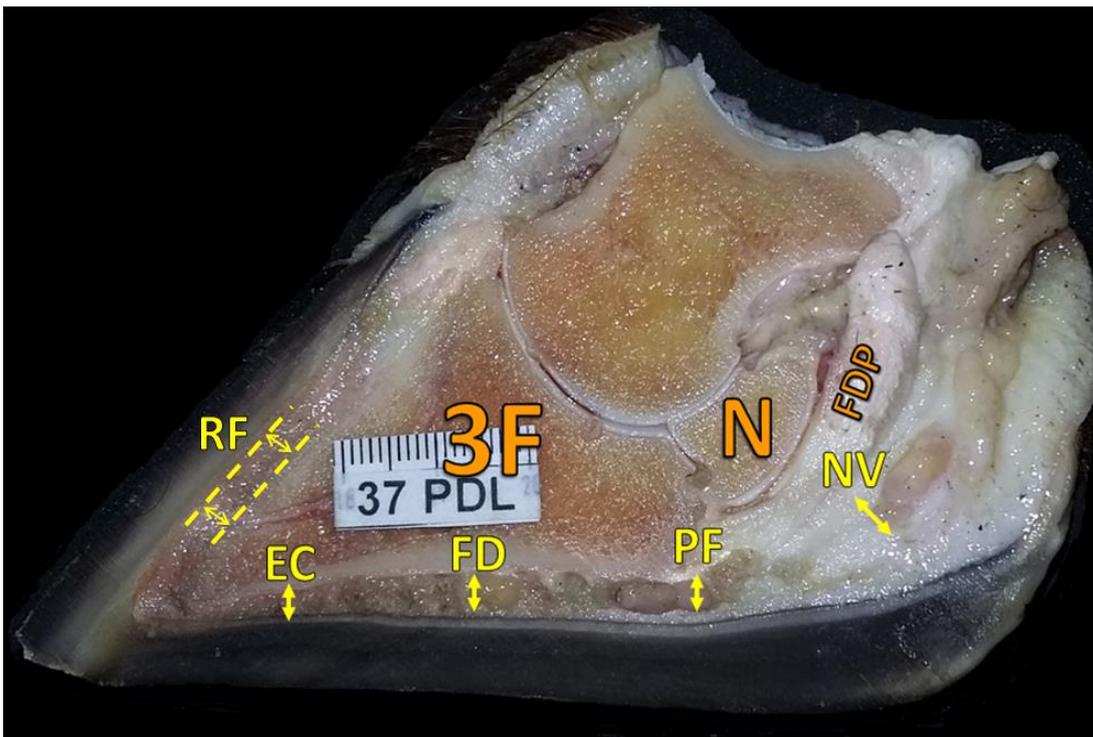
**Figura 3.** Obtenção de amostras digitais *post mortem*. 1: Corte dos dígitos em serra fita; 2: Corte sagital do dígito posterior direito lateral com identificação e medida para posterior calibração e morfometria digital; 3: Divulsão e secção do tecido laminar e coxim digital; 4: Aferição do peso dos coxim digital; 5: Medida do volume dos coxim digital.

### 5.8 Morfometria

Foram mensuradas as espessuras do tecido laminar perpendicular ao ponto médio e alguns milímetros proximais ao ápice da margem dorsal da falange distal com a parede interna do casco. A diferença entre as duas medidas caracterizou o paralelismo da face dorsal da falange distal com a linha mais interna da região epidérmica (RF) (Figura 4).

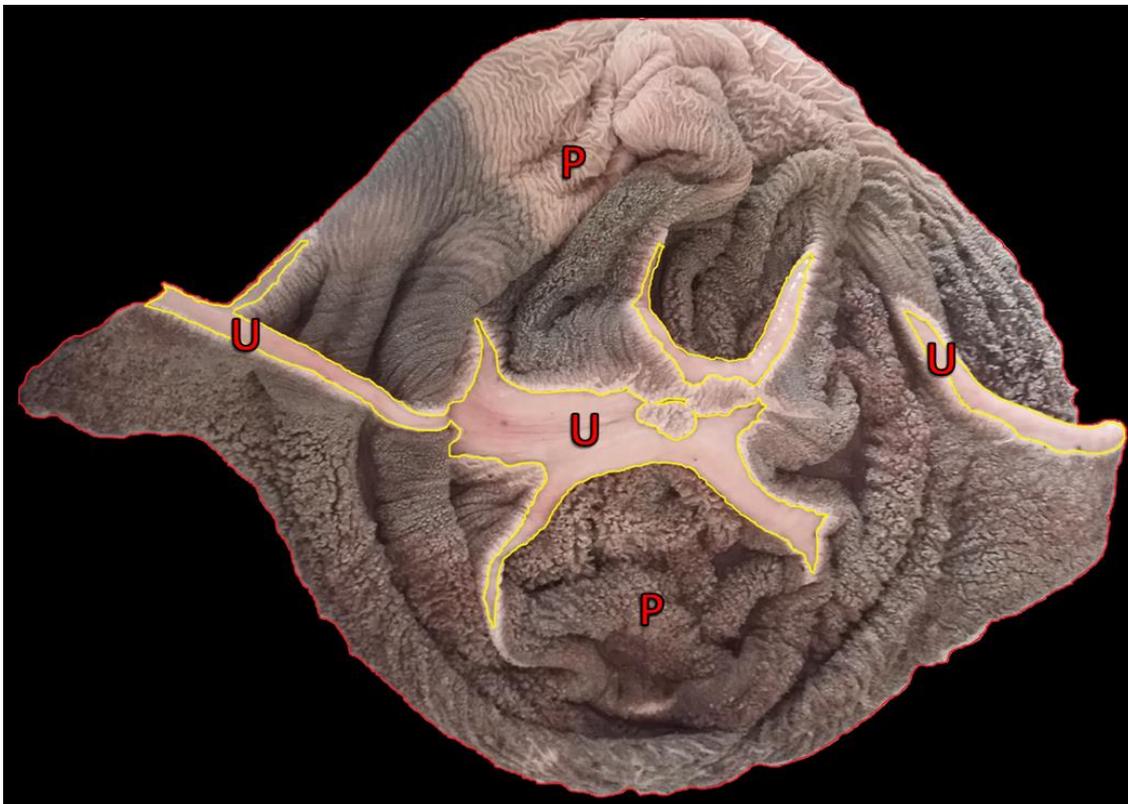
Também foram analisadas as espessuras do córium solear milímetros proximais ao ápice da falange distal (EC) e as espessuras do coxim digital no ponto central da margem solear da falange distal (FD), palmar/plantar a margem cranial do processo flexor da falange distal (pF) e perpendicular à região central do navicular (NV) (Figura 4).

Para as análises morfométricas das espessuras foi utilizado o software de análise de imagens ImageJ®. Logo, os dígitos bovinos seccionados no plano sagital (Figura 4) foram fotografados, individualmente, com escala métrica no mesmo plano das estruturas analisadas para posterior calibração das fotos, informando ao programa qual era o tamanho em milímetros de cada pixel.



**Figura 4.** Local das medidas morfométricas. EC: espessura do córium solear, FD: espessura do coxim digital no ponto central da margem solar da falange distal, PF: espessura do coxim digital na margem cranial ao processo flexor da falange distal, NV: espessura do coxim digital perpendicular a região central do navicular, RF: Medida do paralelismo da face dorsal da falange distal com a linha mais interna da região epidérmica, 3F: falange distal, N: navicular, FDP: tendão flexor digital profundo.

Para a obtenção da porcentagem de lesões macroscópicas ruminais (úlceras ruminais), quantificou-se a área total do rúmen e da úlcera presente em fotografia pelo ImageJ®. Posteriormente, dividiu-se a área de úlcera obtida sobre a área total, multiplicando-se o resultado por 100 (Figura 5).



**Figura 5.** Fotografia de rúmen para obtenção da porcentagem de lesão macroscópica ruminal. U: úlcera ruminal, P: papilas ruminais, linha vermelha: área total do rúmen e linha amarela: área total da úlcera.

### 5.9 Processamento das amostras

De todas as amostras coletadas foram selecionadas apenas as de rúmen, tecido laminar e coxim digital. As amostras foram processadas no Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia do Instituto de Biologia pertencente a Universidade Federal de Pelotas – UFPel. As amostras obtidas foram acondicionadas individualmente em frascos identificados e fixadas em solução de formol a 10% até o processamento.

Após os recortes e aparas das amostras com a finalidade de remover as áreas manipuladas com as pinças histológicas, as amostras de tecido laminar, coxim digital e rúmen foram processadas seguindo a metodologia tradicional de processamento histológico, com posterior inclusão em blocos de parafina,

conforme técnica de rotina. Na sequência, cortes histológicos de cinco  $\mu\text{m}$  de espessura foram montados em lâminas histológicas e corados pelas técnicas de Hematoxilina e Eosina (H&E) e Ácido Periódico de Schiff (PAS) (LUNA, 1968).

### **5.10 Morfo quantificação tecidual**

As análises histológicas de quantificações e medidas foram realizadas pela observação de imagens capturadas de dez campos aleatórios das lâminas histológicas. As imagens foram capturadas com microscópio da marca Nikon modelo Eclipse E200 acoplado à câmera digital Moticam com resolução de cinco Mega Pixels e software de captura Motic Image Plus 2.0, utilizando lentes objetivas com aumento de 10X e 40X.

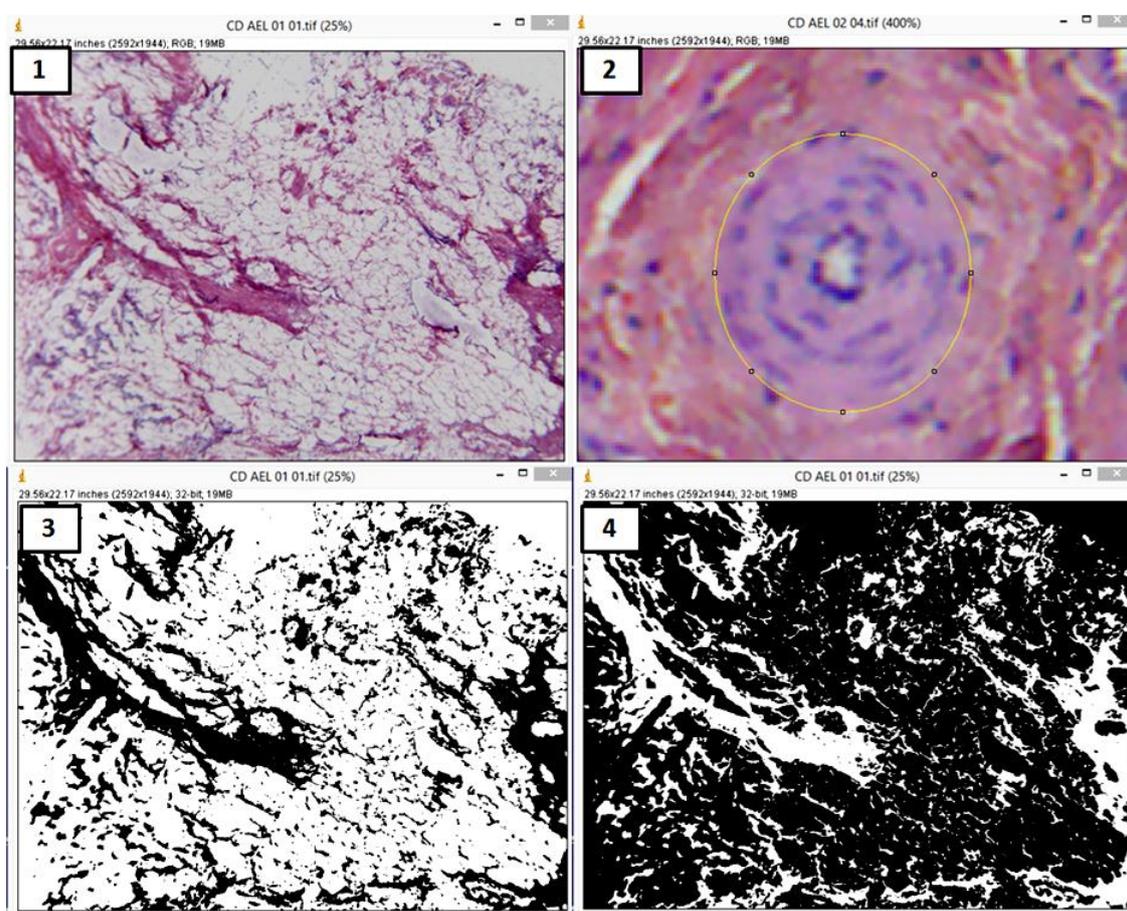
Nas lâminas de rúmen, coradas com H&E, foi investigada a presença de possíveis alterações características de ruminite como infiltrado inflamatório, necrose do epitélio e produção de tecido conjuntivo fibroso sempre no mesmo ponto de coleta (saco cego caudo ventral).

As avaliações histológicas referentes ao tecido laminar foram realizadas conforme descrito por Thoenner et al. (2005) que elencou em seu trabalho características histopatológicas que podem representar possíveis lesões causadas por laminite induzida experimentalmente e segundo Mendes (2013) que caracterizou escores como forma de quantificação. Nas lâminas coradas com H&E foi avaliado a morfologia das células epidermais, presença e grau de infiltrado inflamatório, hemorragia, congestão e afunilamento e estiramento das lâminas epidermais. Nas lâminas coradas com PAS, analisou-se a integridade da membrana basal.

As alterações nas células epidermais eram notadas quando a maioria das células possuíam núcleos arredondados ou alongados e achatados. Os afunilamentos e estiramentos foram considerados esticados quando as pontas não cornificadas foram esticadas a uma largura de duas células basais. Tanto as alterações das células quanto a disposição das lâminas foram realizadas com escores de zero (ausente), um (presença leve a moderado) e dois (presença acentuada de alterações). A inflamação era observada a partir de

escores entre discreta, leve a moderada e acentuada presença de infiltrados inflamatórios no interstício e perivascular.

Nas lâminas histológicas de coxim digital, coradas com H&E, foram mensuradas as áreas de tecido conjuntivo, adiposo e vascular utilizando-se o software ImageJ®. A medição das áreas foi possível através da separação de pixels com valores de intensidade diferentes (balanço de cores), com base em intervalos selecionados, permitindo, desta forma, a seleção de zonas que seriam difíceis de mensurar recorrendo apenas a ferramentas de seleção manual. (MC NAUGHTON, 2010) (Figura 6).



**Figura 6.** Morfoquantificação do tecido conjuntivo, adiposo e vascular do coxim digital. 1: Fotomicrografia de coxim digital do dígito anterior esquerdo lateral. Coloração H&E, aumento de 10X; 2: Medição de artéria para quantificação do tecido vascular; 3: Separação de pixels com valores de intensidade diferentes para mensuração da quantidade do tecido lipídico (área branca) do coxim digital; 4: Morfoquantificação que após subtraída da área total vascular representará o tecido conjuntivo do coxim digital (área branca).

### 5.11 Análise estatística

Todas as variáveis dependentes no presente estudo foram comparadas entre os diferentes tratamentos (dietas) por meio do software estatístico SPSS 20.0.

As variáveis quantitativas analisadas foram testadas quanto a sua normalidade de distribuição por meio do teste de Shapiro Wilk, sendo as variáveis com distribuição normal ( $T^{\circ}C$ , Fr e pH, porcentagem de áreas ruminais ulceradas, espessura do córium solear, ECC, ganho médio diário, rendimento de carcaça, peso, volume e proporção de tecidos conjuntivo, adiposo e vascular do coxim digital) submetidas a análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey.

As variáveis sem normalidade (Fc, MR, Tc e TPC) comparadas pelo teste de Kruskal Wallis, seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunn.

Para todos os testes considerou-se um nível de significância de  $p \leq 0,05$ . Para verificação dos níveis de significância entre as variáveis qualitativas (úlceras ruminais, fezes inconsistentes, morfometria celular epidermal, infiltrados inflamatórios e afunilamento e estiramento das lâminas epidermais), empregou-se o teste exato de Fisher.

Na ausência de variação dos caracteres mensurados entre os patrimônios genéticos (Angus e Hereford) utilizados nesse estudo, as diferenças foram consideradas em função de efeitos não genéticos.

## **6. Resultados e discussão**

### **6.1 Impacto e parâmetros clínicos das novilhas sob consumo das distintas dietas de confinamento**

O impacto das distintas dietas ao ambiente ruminal foi registrado ( $p < 0,05$ ). Fezes diarreicas (Tabela 6), reduzida ruminação e depressão geral momentânea, nas primeiras 12 horas após solução de sacarose foram observadas na aparência das novilhas que receberam a dieta 3, sendo demonstrados sinais clínicos brandos pelo grupo de novilhas que consumiu a dieta de fermentação rápida (dieta 4) (Tabela 5). Estas observações já haviam sido relatadas por Gressley et al (2011), que enfatizaram que a integridade do epitélio ruminal pode ser relevante para o controle da associação entre acidose e laminite, como potencial para absorção de toxinas produzidas no rúmen, podendo ser uma explicação para ausência de sinais clínicos digitais nas novilhas de corte, já que a presença de lesões apenas ocorreu nos pilares ruminais (Figura 7. 3B e 4B), local este com menor potencial de absorção de toxinas, em relação a região papilar.

Insulto digital agudo e subagudo ao consumo das dietas de alto grão não foram observados clinicamente, pois nenhuma das novilhas que receberam as distintas dietas manifestaram claudicação e anormalidades posturais ( $p > 0,05$ ). Resultados semelhantes foram descritos por Thoenner et al. (2004), que validaram a técnica de indução experimental à laminite aguda em bovinos por sobrecarga alimentar de oligofrutose. Durante esse experimento, os animais desenvolveram sinais de laminite aguda comprovados por avaliação histopatológica, no entanto, o grau de claudicação foi considerado pouco perceptível, sendo percebido apenas por profissionais bem treinados. Já, em outro ensaio clínico utilizando a mesma técnica de indução à laminite, os animais demonstraram claudicação leve à moderada, sendo o tempo de monitoramento e experiência dos observadores considerados para maior sensibilidade de avaliação dinâmica registrada (DANSCHER, 2009). Portanto, quando se busca identificar variações na locomoção desses animais com claudicação leve e em confinamento, por métodos observacionais, interpretativos e subjetivos, enfrentam-se fatores de confundimento, ou seja,

fatores que afetam os resultados e não podem ser mensurados criteriosamente. Essas diferenças apesar da experiência do examinador poderão influenciar na detecção de casos sutis, principalmente, quando fatores externos como o terreno e a forma de condução dos animais, estiverem associados.

Parâmetros clínicos vitais sistêmicos foram semelhantes entre grupos experimentais ( $p > 0,05$ ). Diferenças entre as variáveis clínicas testadas foram observadas somente entre os parâmetros clínicos ruminais (MR e pH). Os grupos de novilhas que foram induzidos com sacarose (3) e que receberam exclusivamente concentrado (4) exibiram menor motilidade ( $p < 0,05$ ) e pH ruminal ( $p < 0,01$ ) do que o grupo controle (Dieta 1) (Tabela 5). A redução do pH ruminal ocorreu devido ao acúmulo de ácidos no rúmen, que derivou da fermentação de carboidrato não fibroso, especialmente o amido de alta degradabilidade, principal constituinte dos grãos de cereais utilizados neste estudo (milho, trigo e resíduo de soja). A variação destes caracteres ruminais para níveis abaixo de 5,6 (pH do líquido ruminal) e hipomotilidade é uma característica fundamental da comprovação de acidose ruminal subclínica (KRAUSE & OETZEL, 2006). As fêmeas bovinas dos grupos 1 e 2 receberam fibra efetiva suficiente para estimular a mastigação e a ruminância, aumentando a salivação e conseqüentemente o tamponamento ruminal, reduzindo assim, as flutuações dos caracteres ruminais (MR e pH).

Tabela 5. Perfil clínico 12 horas pré-abate de bovinos de corte alimentados com distintas dietas de confinamento

Variável	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4
T (C°) <sup>1</sup>	39,8 (0,11) <sup>a</sup>	39,6 (0,08) <sup>a</sup>	39,9 (0,10) <sup>a</sup>	39,8 (0,11) <sup>a</sup>
FR (mov/min) <sup>1</sup>	49,8 (5,96) <sup>a</sup>	50,8 (4,49) <sup>a</sup>	60,0 (5,01) <sup>a</sup>	65,5 (4,18) <sup>a</sup>
FC (bat/min) <sup>2</sup>	106,5 (27,00) <sup>a</sup>	100,0 (20,00) <sup>a</sup>	110,0 (11,25) <sup>a</sup>	105,0 (16,00) <sup>a</sup>
TPC (s) <sup>2</sup>	2,0 (0,25) <sup>a</sup>	2,0 (1,00) <sup>a</sup>	2,0 (0,00) <sup>a</sup>	2,0 (0,25) <sup>a</sup>
TC <sup>2</sup>	0,0 (0,00) <sup>a</sup>	0,0 (0,00) <sup>a</sup>	0,0 (0,25) <sup>a</sup>	0,0 (0,00) <sup>a</sup>
MR (mov/min) <sup>2</sup>	3,0 (0,25) <sup>a</sup>	3,0 (1,00) <sup>ab</sup>	2,0 (0,00) <sup>b</sup>	2,0 (0,25) <sup>b</sup>
pH <sup>1</sup>	6,4 (0,17) <sup>c</sup>	5,4 (0,17) <sup>b</sup>	4,5 (0,09) <sup>a</sup>	5,1 (0,05) <sup>b</sup>

T°: Temperatura; FR: frequência respiratória; FC: frequência cardíaca; TPC: Tempo de preenchimento capilar; TC: turgor cutâneo; MR: motilidade ruminal; pH ruminal.<sup>1</sup>Variáveis com distribuição normal; descritas por meio de média (erro padrão), comparadas por ANOVA e Tukey. <sup>2</sup>Variáveis sem distribuição normal mediana (distância interquartilica), comparadas por KruskalAlis e Teste de Dunn. Valores com letras

distintas na mesma linha diferem ( $p \leq 0,05$ )

Tabela 6. Presença (%) de fezes inconsistentes em novilhas de corte alimentadas com distintas dietas em confinamento

Dietas	Diarréia	
	Presença	Ausência
1 %, (n)	20,0 (2) <sup>a</sup>	80,0 (8) <sup>a</sup>
2 %, (n)	50,0 (5) <sup>ab</sup>	50,0 (5) <sup>ab</sup>
3 %, (n)	100,0 (10) <sup>c</sup>	00,0 (0) <sup>c</sup>
4 %, (n)	70,0 (7) <sup>b</sup>	30,0 (3) <sup>b</sup>
<b>TOTAL %, (n)</b>	<b>60,0 (24)</b>	<b>40,0 (16)</b>

Valores com letras distintas na mesma coluna diferem ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste exato de Fisher

## 6.2 Macroscopia e histologia ruminal

A medida que foi alterada a relação volumoso e concentrado nas dietas até alto grão formaram-se ambientes ruminais mais ácidos alterando a coloração do órgão como pode ser observado na Figura 7. Das quarenta novilhas de corte alimentadas com distintas dietas de confinamento, 27,5% (n=11) tiveram registros macroscópicos de lesões no epitélio dos pilares ruminais compatíveis com o desenvolvimento de ruminite (Tabela 7). Esse resultado foi, superior ao relatado por Vechiatto (2009), que ao analisar bovinos terminados em sistema de confinamento, identificou frequência de 11,8% de ruminites. Pôde-se observar, a ocorrência de 22,5% (n=9) de lesões macroscópicas nos rumens dos animais submetidos às dietas 3 e 4. Aproximadamente 40 (dieta 3) a 50% (dieta 4) dos animais, de ambos os grupos citados apresentaram ulcerações nos pilares ruminais, com média 5,23% e 2,0% de área comprometida, respectivamente (Figura 7. 3B e 4B). Discreta lesão em região papilar foi observada em apenas um animal do grupo 3. Embora, numericamente, os animais expostos as dietas 3 e 4 tenham apresentado percentual superior de ruminite, diferenças estatisticamente significativas entre as dietas não foram observadas ( $p > 0,05$ ). Especula-se que, se o aumento da amostra fosse considerado poderiam estabelecer-se resultados significativos, principalmente levando-se em consideração as diferenças entre os parâmetros clínicos ruminais (MR e pH;  $p < 0,05$ ) detectados (Tabela 7; Figura 7).

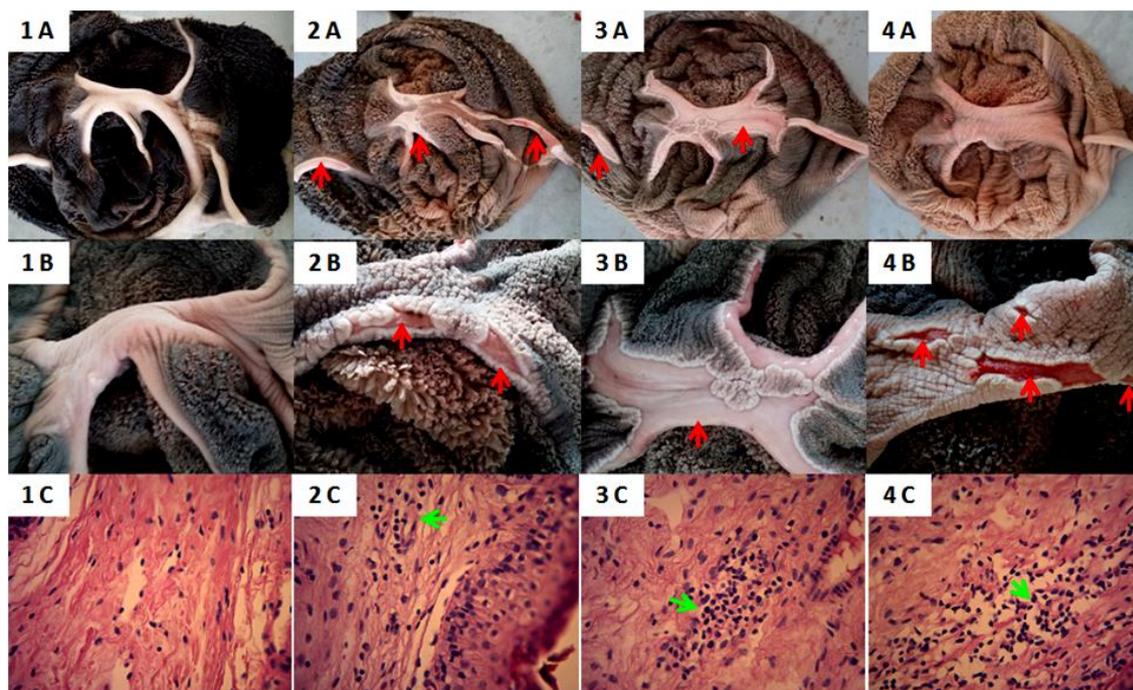
Com base nesses resultados, uma questão não pode deixar de ser levantada, ou seja, como explicar as lesões macroscópicas específicas nos pilares ruminais (Figura 7), levando em consideração a acidez generalizada no âmbito ruminal. Alguns fatores podem ter contribuído para a ocorrência das lesões mais agressivas nos pilares. Certamente, a região dos pilares do rúmen apresenta características morfométricas e de contração que possibilitaram maior contato com a dieta ácida, proporcionando os danos mecânicos evidenciados. Van Soest (1991) descreveu que o tamanho e a quantidade de papilas ruminais por área de mucosa influencia a absorção e neutralização dos ácidos no rúmen. Pensando neste contexto, a região dos pilares ruminais possui características morfométricas inferiores a região papilar (tamanho e número), com reduzida capacidade de absorção e neutralização dos ácidos, portanto, tornando-se mais vulnerável a formação de úlceras pelos ácidos produzidos no rúmen, pelas dietas 3 e 4, em comparação à região recoberta por papilas.

A análise histopatológica caracterizou a preservação das papilas ruminais, com leve degeneração das células do epitélio estratificado pavimentoso queratinizado aglandular, associada a discretos infiltrados linfocitários na lâmina própria e alguns vasos papilares com presença de células inflamatórias, em seu interior. Os resultados deste trabalho demonstraram uma reação inflamatória de pouca intensidade da região papilar nos animais que foram alimentados com as dietas 3 e 4 (Figura 7, 3C; 4C) em comparação à região papilar dos demais grupos. A análise da infiltração linfocitária no tecido conjuntivo de sustentação da mucosa ruminal indica um efeito crônico da resposta inflamatória, sem haver diferença entre as dietas ( $p > 0,05$ ). Isso significa que, a resposta mononuclear não é específica de qualquer das dietas e caracteriza uma etapa da reação inflamatória que normalmente segue ao processo agudo, indicando recuperação, principalmente quando se considera a proximidade da agressão do rúmen ao abate, de pelo menos sete dias.

Tabela 7. Percentagem (%) de ruminite em novilhas de corte alimentadas com distintas dietas em confinamento

Dietas	Ruminite	
	Presença	Ausência
1, % (n)	10,0 (1) <sup>a</sup>	90,0 (9) <sup>a</sup>
2, % (n)	10,0 (1) <sup>a</sup>	90,0 (9) <sup>a</sup>
3, % (n)	40,0 (4) <sup>a</sup>	60,0 (6) <sup>a</sup>
4, % (n)	50,0 (5) <sup>a</sup>	50,0 (5) <sup>a</sup>
<b>TOTAL %, (n)</b>	<b>27,5 (11)</b>	<b>72,5 (29)</b>

Valores com letras distintas na mesma coluna diferem ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste exato de Fisher



**Figura 7.** Rúmen de bovino (A), pilares ruminais (B) e histologia do epitélio ruminal (C). Dietas controle (1), desbalanceada (2), desbalanceada com indução por sacarose (3) e apenas concentrado (4). Setas indicam úlceras nos pilares ruminais (vermelhas) e infiltrados inflamatórios (verdes). Coloração H&E em aumento de 40X (1C, 2C, 3C e 4C).

### 6.3 Aspecto histológico laminar

A integridade do epitélio ruminal parece ser relevante para controlar a associação entre acidose ruminal e laminite, pois apesar de ambas as formas, aguda e subaguda, não terem sido evidenciadas neste estudo entre as distintas dietas ( $p > 0,05$ ), diferenças histopatológicas nos tecidos digitais ( $p < 0,05$ ) foram evidentes, caracterizando uma forma mais suave de agressão ao córium e tecido laminar (Figura 8; Tabela 9). Nenhum dos animais, independente da dieta recebida exibiu congestão, hemorragia e descolamento da membrana basal do tecido laminar digital.

### 6.3.1 Morfometria celular nas lâminas

Discreto número de animais ( $n= 5$ ; 12,5%) possuíam células epidermais dentro dos padrões fisiológicos, com predomínio de células ovaladas e perpendiculares a membrana basal. Entretanto, embora 87,5% ( $n= 35$ ) das novilhas tenha apresentado células epidermais secundárias com núcleos arredondados e achatados, a variação dos caracteres de histologia laminar observados entre indivíduos com distintos níveis de concentrado na dieta não contribuíram para variabilidade entre eles ( $p>0,05$ ) (Tabela 8).

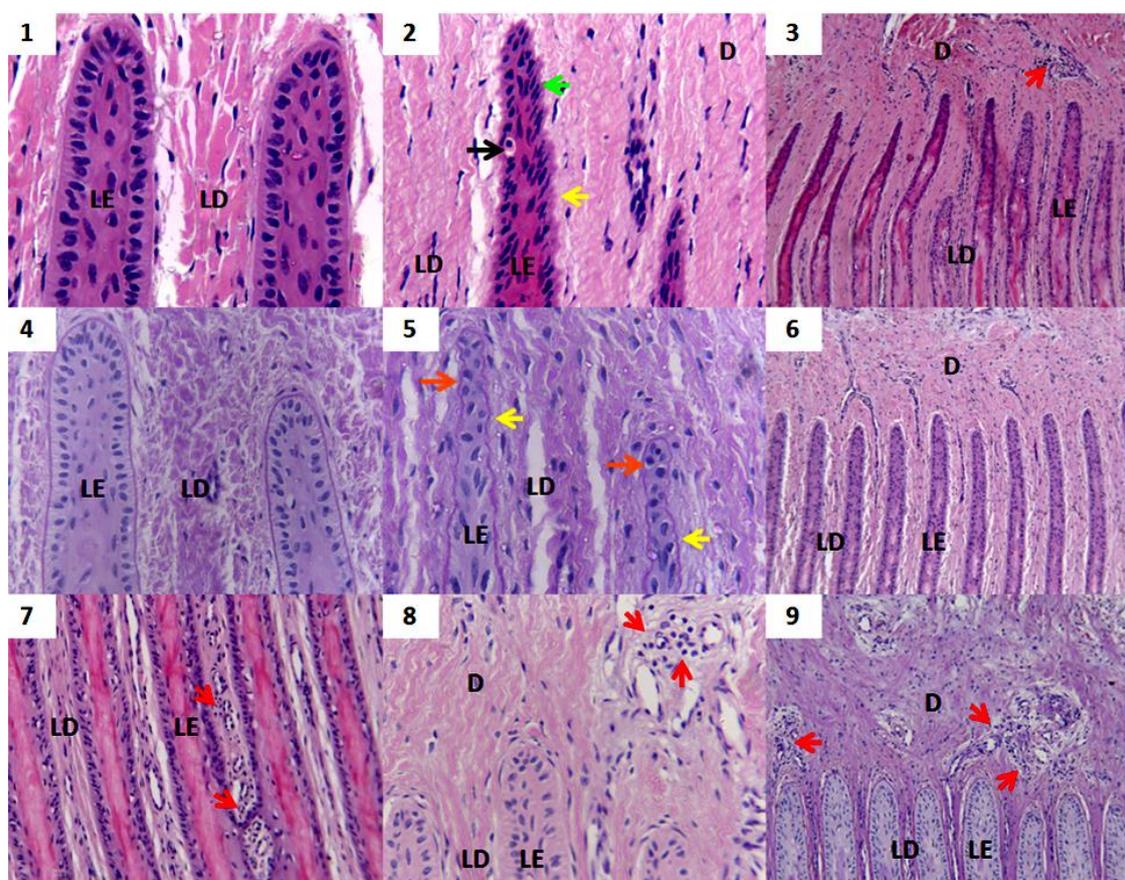
Quando os dígitos foram analisados separadamente, quanto a morfometria celular, diferenças foram registradas ( $p<0,05$ ). No dígito anterior esquerdo medial, os dados apresentaram aproximação da significância ( $p<0,07$ ) para morfometria celular epidermal entre os grupos que receberam a solução de sacarose (3) e a dieta de fermentação rápida (4), em relação ao grupo controle (Tabela 8; Figura 8).

Mendes (2010), comparando a junção derme-epiderme de vacas de descarte com e sem lesões indicativas de laminite encontrou percentuais semelhantes, entre ambos, quando a morfometria celular epidermal foi considerada. Esses resultados corroboram os achados anatomopatológicos verificados no presente estudo, pois embora os animais que receberam a dieta 1 (controle) tenham, apresentado percentual de alteração celular, índices relativamente superiores foram observados nos tecidos laminares das novilhas que receberam a infusão de sacarose (dieta 3) e dieta de fermentação rápida (dieta 4), embora os mesmos não tenham apresentado diferença estatística na comparação entre grupos. Essas alterações na morfometria celular revelam que os mecanismos fisiopatológicos da laminite podem ter sido agrupados em um desequilíbrio do metabolismo local das células e da integridade ultraestrutural interna do pé, por meio de um distúrbio vascular predisponente moderado, não resultando na quebra acentuada da integridade celular, e em eventos que culminam na perda da integridade laminar (STOKES, 2005),

Tabela 8. Morfometria celular nas lâminas epidermais de bovinos de corte confinados e alimentados com distintas dietas

Dietas	Alteração de células epidermais							
	AEM		AEL		PEM		PEL	
	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim
1 %, (n)	70 (7) <sup>a</sup>	30 (3) <sup>a</sup>	80 (8) <sup>a</sup>	20 (2) <sup>a</sup>	40 (4) <sup>a</sup>	60 (6) <sup>a</sup>	40 (4) <sup>a</sup>	60 (6) <sup>a</sup>
2 %, (n)	20 (2) <sup>a</sup>	80 (8) <sup>a</sup>	60 (6) <sup>a</sup>	40 (4) <sup>a</sup>	40 (4) <sup>a</sup>	60 (6) <sup>a</sup>	20 (2) <sup>a</sup>	80 (8) <sup>a</sup>
3 %, (n)	20 (2) <sup>a</sup>	80 (8) <sup>a</sup>	50 (5) <sup>a</sup>	50 (5) <sup>a</sup>	20 (2) <sup>a</sup>	80 (8) <sup>a</sup>	20 (2) <sup>a</sup>	80 (8) <sup>a</sup>
4 %, (n)	20 (2) <sup>a</sup>	80 (8) <sup>a</sup>	50 (5) <sup>a</sup>	50 (5) <sup>a</sup>	20 (2) <sup>a</sup>	80 (8) <sup>a</sup>	10 (1) <sup>a</sup>	90 (9) <sup>a</sup>
<b>TOTAL</b>	<b>32,5 (13)</b>	<b>67,5 (27)</b>	<b>60,0 (24)</b>	<b>40,0 (16)</b>	<b>30,0 (12)</b>	<b>70,0 (28)</b>	<b>22,5 (9)</b>	<b>77,5 (31)</b>

AEM: Dígito anterior esquerdo medial; AEL: Dígito anterior esquerdo lateral; PEM: Dígito posterior esquerdo medial; PEL: Dígito posterior esquerdo lateral. Valores com letras distintas na mesma coluna diferem ( $p \leq 0,05$ ), teste exato de Fisher



**Figura 8.** Histologia do tecido laminar com derme (D) e lâminas dérmicas (LD) e epidermais (LE). Setas indicam alterações como infiltrados inflamatórios (vermelhas), núcleos arredondados (laranja), núcleos alongados e achatados (verde), ceratinização individual de célula epidermal (preta), membrana basal com irregularidades na membrana basal (amarela). Fotos apresentam lâminas epidermais afuniladas e estiradas (2, 3 e 5), disposição normal (1, 4, 6, 8 e 9) e terço médio das lâminas dérmicas e epidérmicas. Coloração H&E (1, 2, 3 e 7) e PAS (4, 5, 6, 8 e 9). Aumentos de 10 e 40X.

### 6.3.2 Afunilamento e estiramento das lâminas epidérmicas secundárias

O percentual de afunilamento e estiramento das lâminas epidérmicas secundárias variou entre os grupos com diferentes níveis de concentrado na dieta ( $p < 0,05$ ), havendo superior afunilamento e estiramento das lâminas epidérmicas no dígito AEM de bovinos de corte que receberam a infusão de sacarose (dieta 3) e dieta de fermentação rápida (dieta 4), em relação ao grupo controle e dígito PEM entre só concentrado (dieta 4) e controle (dieta 1) (Tabela 9; Figura 8). Esses achados histopatológicos foram observados pelo menos uma semana após a indução por sacarose no grupo 3, e são interpretativos de variações teciduais crônicas do tecido laminar. Portanto, com avaliação histopatológica do tecido laminar (Tabela 9) identificou-se a presença de lesões de leve a moderado estiramento e afunilamento das lâminas epidérmicas, sendo condizentes com os registros histopatológicos laminares descritos por Thoefner et al. (2004), que as identificou nas primeiras 24 horas após o insulto clínico de indução à laminite experimental em bovinos e após 24 e as 72 horas de indução por sobrecarga alimentar de oligofrutose (DANSCHER et al., 2009).

Segundo Obel (1948), a diminuição da substância onicogênica (formadora da unha) seria a causa do estiramento das lâminas epidérmicas, sendo esse sítio o que primeiro sofreria os danos causados pelo quadro de laminite. Para esse autor a desestabilização provocada pelas lesões de estiramento poderia ainda colaborar para o deslocamento da falange distal no interior do casco, condição esta, não evidenciada nos dígitos das novilhas que receberam as distintas dietas de confinamento neste estudo.

Esses resultados apontam para variação dos caracteres laminares entre dígitos (Tabela 9), caracterizando informações, sob ponto de vista clínico, relevantes, e que devem ser considerados. Possivelmente, a variação dessas características morfométricas entre dígitos deverá estar relacionada ao estresse biomecânico e/ou à resposta inflamatória sistêmica distinta, entre indivíduos dos grupos supracitados. Estudos futuros serão necessários com intuito de analisar as diferenças entre os dígitos de bovinos em confinamento,

levando-se, em consideração, o uso de marcadores biológicos sistêmicos, onde, possivelmente poderá se encontrar a explicação para tal.

Tabela 9. Ocorrência de afunilamento e estiramento no tecido laminar de bovinos de corte confinados e alimentados com distintas dietas

Dietas	Afunilamento e estiramento laminar							
	AEM		AEL		PEM		PEL	
	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim
<b>1, % (n)</b>	90 (9) <sup>a</sup>	10 (1) <sup>a</sup>	90 (9) <sup>a</sup>	10 (1) <sup>a</sup>	90 (9) <sup>a</sup>	10 (1) <sup>a</sup>	70 (7) <sup>a</sup>	30 (3) <sup>a</sup>
<b>2, % (n)</b>	70 (7) <sup>ab</sup>	30 (3) <sup>ab</sup>	90 (9) <sup>a</sup>	10 (1) <sup>a</sup>	60 (6) <sup>ab</sup>	40 (4) <sup>ab</sup>	50 (5) <sup>a</sup>	50 (5) <sup>a</sup>
<b>3, % (n)</b>	30 (3) <sup>b</sup>	70 (7) <sup>b</sup>	70 (7) <sup>a</sup>	30 (3) <sup>a</sup>	50 (5) <sup>ab</sup>	50 (5) <sup>ab</sup>	30 (3) <sup>a</sup>	70 (7) <sup>a</sup>
<b>4, % (n)</b>	40 (4) <sup>b</sup>	60 (6) <sup>b</sup>	50 (5) <sup>a</sup>	50 (5) <sup>a</sup>	30 (3) <sup>b</sup>	70 (7) <sup>b</sup>	40 (4) <sup>a</sup>	60 (6) <sup>a</sup>
<b>TOTAL</b>	57,5 (23)	42,5 (17)	75,0 (30)	25,0 (10)	57,5 (23)	42,5 (17)	47,5 (19)	52,5 (21)

AEM: Dígito anterior esquerdo medial; AEL: Dígito anterior esquerdo lateral; PEM: Dígito posterior esquerdo medial; PEL: Dígito posterior esquerdo lateral. valores com letras distintas na mesma coluna diferem ( $p \leq 0,05$ ), teste exato de Fisher

### 6.3.3 Infiltrados inflamatórios no tecido laminar

A presença de infiltrados inflamatórios mononucleares no tecido laminar ocorreu em todos os animais avaliados de forma leve a moderada e não variou entre grupos com diferentes níveis de concentrado na dieta ( $p > 0,05$ ) (Tabela 10; Figura 8). A dieta 1 foi delineada para se obter um grupo testemunha, recebendo uma dieta equilibrada com base nas exigências dietéticas dos animais e nas características dos alimentos utilizados e sem propriedades irritantes. A presença de infiltrados mononucleares observada nos tecidos laminares desse grupo (controle) pode ser atribuída a uma condição sistêmica fisiológica do tecido laminar, que somada a ausência de sinais clínicos de claudicação e a outras anormalidades teciduais detectadas nos tecidos laminares das novilhas que foram alimentadas com as dietas 3 e 4, caracterizam resposta sistêmica naturalmente esperada. Já, as evidências da presença de células mononucleares, nos tecidos laminares das novilhas que receberam as dietas 3 e 4, serem semelhantes ao grupo controle não exclui o complexo acidose/laminite, principalmente quando anormalidades de afunilamento e estiramento no tecido laminar caracterizaram diferença entre os grupos que receberam a dieta de alto grão. Portanto, as evidências estão relacionadas ao nível de agressão que as dietas proporcionaram ao rúmen, que apesar do dano ter sido comprovado, macroscopicamente, as lesões se detiveram à região dos pilares com potencial de menor absorção dos ácidos produzidos, refletindo em sinais sistêmicos brandos e uma forma mais suave de agressão ao tecido laminar. As evidências de infiltrado de neutrófilos na

região perivascular nas lâminas dérmicas, tanto na fase de desenvolvimento quanto na fase clínica de equinos portadores de laminite induzida (BLACK et al., 2006) permite a interpretação de que, a resposta mononuclear caracterizou uma reação inflamatória que normalmente se segue ao insulto laminar subclínico, indicando recuperação.

Variação para essa característica ocorreu entre membros torácicos e pélvicos ( $p < 0,05$ ), onde maior infiltração mononuclear laminar foi observada nos dígitos dos membros pélvicos em comparação aos torácicos (Tabela 10). Esses achados denotam uma condição muito mais ligada à biomecânica do que à alteração metabólica sistêmica laminar. Em condições normais, os bovinos distribuem 60% de seu peso corpóreo sobre os membros anteriores e 40% sobre os membros posteriores. Contudo, o fato de os membros torácicos estarem ligados ao corpo por meio de tendões e ligamentos favorece o amortecimento dos impactos gerados aos dígitos ainda que esses suportem uma maior carga. Já a ligação dos membros pélvicos através da articulação sacro-ilíaca (coxo-femoral) é mais rígida, dessa forma, os impactos de deslocamento e sustentação do peso são absorvidos quase que exclusivamente pelos dígitos (VAN DER TOL et al., 2003; FERREIRA, 2005). Alterações nessa distribuição natural do peso corporal, associado à morfometria distinta dos posteriores promove o desgaste desigual do estojo córneo, favorecendo o aparecimento de lesões nos cascos (LIMA, 2011), justificando a maior intensidade de inflamação laminar nos membros pélvicos evidenciadas neste estudo.

Tabela 10. Presença de infiltrados inflamatórios no tecido laminar de bovinos de corte alimentados com distintas dietas em confinamento

Dietas	Presença de células inflamatórias							
	AEM		AEL		PEM		PEL	
	Não% (n)	Sim% (n)	Não% (n)	Sim% (n)	Não% (n)	Sim% (n)	Não% (n)	Sim% (n)
1 %, (n)	80 (8) <sup>a</sup>	20 (2) <sup>a</sup>	100 (10) <sup>a</sup>	0 (0) <sup>a</sup>	90 (9) <sup>a</sup>	10 (1) <sup>a</sup>	80 (8) <sup>a</sup>	20 (2) <sup>a</sup>
2 %, (n)	90 (9) <sup>a</sup>	10 (1) <sup>a</sup>	100 (10) <sup>a</sup>	0 (0) <sup>a</sup>	80 (8) <sup>a</sup>	20 (2) <sup>a</sup>	80 (8) <sup>a</sup>	20 (2) <sup>a</sup>
3 %, (n)	90 (9) <sup>a</sup>	10 (1) <sup>a</sup>	100 (10) <sup>a</sup>	0 (0) <sup>a</sup>	80 (8) <sup>a</sup>	20 (2) <sup>a</sup>	60 (6) <sup>a</sup>	40 (4) <sup>a</sup>
4 %, (n)	70 (7) <sup>a</sup>	30 (3) <sup>a</sup>	90 (9) <sup>a</sup>	10 (1) <sup>a</sup>	80 (8) <sup>a</sup>	20 (2) <sup>a</sup>	70 (7) <sup>a</sup>	30 (3) <sup>a</sup>
<b>TOTAL</b>	82,7 (33)	17,5 (7)	97,5 (39)	2,5 (1)	82,7 (33)	17,5 (7)	72,5 (29)	27,5 (11)

**AEM: Dígito anterior esquerdo medial; AEL: Dígito anterior esquerdo lateral; PEM: Dígito posterior esquerdo medial; PEL: Dígito posterior esquerdo lateral. Valores com letras distintas na mesma coluna diferem ( $p \leq 0,05$ ), teste exato de Fisher.**

#### 6.4 Alinhamento falangeano

Espessuras do córium solear (Figura 4; EC) variaram entre os grupos que receberam a indução de sacarose em relação ao grupo controle e novilhas alimentadas com a dieta 2 ( $p < 0,05$ ) (Tabela 11). A menor espessura observada nos dígitos das novilhas que receberam a infusão de sacarose, apesar dos parâmetros ruminais e histológicos evidentes, não caracterizou afundamento falangeano nos indivíduos que manifestaram maior redução do pH e motilidade do rúmen, porque a distância entre os planos horizontais entre a banda coronária e o ápice do processo extensor da falange distal não variaram. Essas características clínicas são esperadas quando há episódios agressivos de acidose ruminal e confirmadas pela presença de claudicação, condição locomotora não evidenciada neste estudo.

Quando foi considerado o paralelismo entre a face dorsal da falange distal com a linha mais interna da região epidérmica (Figura 4; RF), não foram observadas diferenças entre grupos ( $p > 0,05$ ), ou seja, os bovinos de corte alimentados com distintas dietas de confinamento não manifestaram desalinhamento falangeano rotacional em nenhum de seus dígitos. Essas observações corroboram a ausência de sinais clínicos de claudicação nas novilhas de corte, durante todo período experimental. Segundo Pollitt (2008), as superfícies dorsais da muralha e da falange distal devem formar linhas paralelas em animais hígidos. Em casos de laminite, com a fragilidade da junção entre casco e falange, forma-se um ângulo distal positivo entre essas duas linhas, que aumenta à medida em que a falange se rotaciona, tracionada pelo tendão flexor digital profundo (Figura 4; FDP). Na população estudada, todos os dígitos das novilhas apresentaram angulação zero, que caracteriza o paralelismo.

A presença de baixa intensidade de linfócitos nos tecidos laminares, caracterizou o processo inflamatório e degenerativo de baixa intensidade, não comprometendo a arquitetura das lâminas nas novilhas de corte, independente da dieta, o que certamente seria diferente, na presença de grande quantidade de eritrócitos e leucócitos, incorrendo em perda da arquitetura laminar (PAES LEME et al., 2010).

Essas diferenças morfométricas (EC) significativas entre dígitos das novilhas que receberam as dietas de confinamento não foram relacionadas ao complexo acidose/laminite, e poderão estar associadas a fatores intrínsecos (genéticos e metabólicos) e extrínsecos (ambientais), que porventura venham influenciar a formação do esqueleto e o processo de crescimento e desenvolvimento.

Tabela 11. Médias das espessuras (centímetro, cm) do córium solear (EC) e erro padrão (SE) de bovinos de corte confinado alimentados com distintas dietas

Digito	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4
EC ADM (cm)	0,35 (0,02) <sup>a</sup>	0,33 (0,02) <sup>a</sup>	0,31 (0,03) <sup>a</sup>	0,34 (0,03) <sup>a</sup>
EC ADL (cm)	0,39 (0,02) <sup>a</sup>	0,37 (0,02) <sup>a</sup>	0,32 (0,03) <sup>a</sup>	0,33 (0,04) <sup>a</sup>
EC AEM (cm)	0,39 (0,03) <sup>b</sup>	0,33 (0,02) <sup>ab</sup>	0,28 (0,02) <sup>a</sup>	0,33 (0,03) <sup>ab</sup>
EC AEL (cm)	0,38 (0,03) <sup>a</sup>	0,39 (0,02) <sup>a</sup>	0,22 (0,02) <sup>a</sup>	0,34 (0,02) <sup>a</sup>
EC PDM (cm)	0,29 (0,03) <sup>a</sup>	0,31 (0,27) <sup>a</sup>	0,25 (0,02) <sup>a</sup>	0,29 (0,03) <sup>a</sup>
EC PDL (cm)	0,32 (0,02) <sup>ab</sup>	0,35 (0,03) <sup>b</sup>	0,26 (0,02) <sup>a</sup>	0,29 (0,02) <sup>ab</sup>
EC PEM (cm)	0,29 (0,02) <sup>a</sup>	0,32 (0,02) <sup>a</sup>	0,24 (0,01) <sup>a</sup>	0,28 (0,02) <sup>a</sup>
EC PEL (cm)	0,36 (0,02) <sup>b</sup>	0,30 (0,02) <sup>ab</sup>	0,26 (0,02) <sup>a</sup>	0,32 (0,03) <sup>ab</sup>

ADM: Dígito anterior direito medial; ADL: Dígito anterior direito lateral; AEM: Dígito anterior esquerdo medial; AEL: Dígito anterior esquerdo lateral; PDM: Dígito posterior direito medial; PDL: Dígito posterior direito lateral; PEM: Dígito posterior esquerdo medial; PEL: Dígito posterior esquerdo lateral; EC: espessura do córium solear. Médias com letras distintas na mesma linha diferem ( $p \leq 0,05$ ), ANOVA seguida pelo teste de Tukey

## 6.5 Aspecto histológico do coxim digital

### 6.5.1 Proporção de tecido conjuntivo, adiposo e vascular do coxim digital

A proporção de tecido conjuntivo, adiposo e vascular do coxim digital não variou entre os dígitos das novilhas que foram alimentadas com diferentes níveis de concentrado na dieta ( $p > 0,05$ ) (Tabela 12; Figura 6), sendo o coxim digital das fêmeas bovinas pertencentes às raças Angus e Hereford, constituído em média de  $54,31 \pm 5,8$  % de tecido conjuntivo,  $42,63 \pm 5,83$  % de tecido adiposo e  $3,04 \pm 0,53$  % de vasos sanguíneos.

As condições ruminais mais ácidas promovidas pelas dietas 3 e 4 não influenciaram o conteúdo lipídico e a composição da gordura da almofada digital ( $p > 0,05$ ) (Tabela 12). Baird et al. (2010) descobriram que as

concentrações de lipídeos para as diferentes partes do dígito variaram em touros, no entanto, o efeito da dieta com aumento de óleo de linhaça, para fornecer gordura não influenciou nas concentrações de lipídeo nas almofadas digitais e postularam a vulnerabilidade da almofada digital quando a dieta apresentar baixo teor de ácidos graxos. Apesar das distinções nutricionais impostas no presente estudo, diferentes níveis de volumoso/concentrado das dietas, demonstraram resultados semelhantes nas novilhas de corte pertencente às raças Angus e Hereford.

Tabela 12. Percentual (%) de tecido conjuntivo, adiposo e vascular do coxim digital de bovinos de corte alimentados com distintas dietas em confinamento

Variável	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4
Tec. conjuntivo AEM (%)	50,10 (0,72) <sup>a</sup>	51,07 (0,91) <sup>a</sup>	49,79 (0,82) <sup>a</sup>	51,59 (0,81) <sup>a</sup>
Tec. conjuntivo AEL (%)	49,88 (0,93) <sup>a</sup>	49,43 (0,72) <sup>a</sup>	50,54 (1,19) <sup>a</sup>	51,24 (0,69) <sup>a</sup>
Tec. conjuntivo PEM (%)	56,36 (1,53) <sup>a</sup>	54,68 (1,43) <sup>a</sup>	56,62 (1,44) <sup>a</sup>	59,32 (1,04) <sup>a</sup>
Tec. conjuntivo PEL (%)	56,74 (1,82) <sup>a</sup>	60,12 (1,93) <sup>a</sup>	58,28 (1,98) <sup>a</sup>	63,32 (1,48) <sup>a</sup>
Tec. adiposo AEM (%)	47,11 (0,74) <sup>a</sup>	45,73 (0,86) <sup>a</sup>	47,07 (0,95) <sup>a</sup>	45,09 (0,84) <sup>a</sup>
Tec. adiposo AEL (%)	47,24 (0,92) <sup>a</sup>	47,55 (0,66) <sup>a</sup>	46,56 (1,15) <sup>a</sup>	45,72 (0,59) <sup>a</sup>
Tec. adiposo PEM (%)	40,66 (1,64) <sup>a</sup>	42,47 (1,45) <sup>a</sup>	40,18 (1,47) <sup>a</sup>	37,43 (1,01) <sup>a</sup>
Tec. adiposo PEL (%)	40,31 (1,80) <sup>a</sup>	36,73 (1,91) <sup>a</sup>	38,58 (1,99) <sup>a</sup>	33,80 (1,54) <sup>a</sup>
Tec. vascular AEM (%)	2,79 (0,29) <sup>a</sup>	3,20 (0,11) <sup>a</sup>	3,14 (0,16) <sup>a</sup>	3,32 (0,19) <sup>a</sup>
Tec. vascular AEL (%)	2,88 (0,19) <sup>a</sup>	3,01 (0,14) <sup>a</sup>	2,89 (0,16) <sup>a</sup>	3,04 (0,19) <sup>a</sup>
Tec. vascular PEM (%)	2,98 (0,18) <sup>a</sup>	2,85 (0,11) <sup>a</sup>	3,20 (0,11) <sup>a</sup>	3,25 (0,17) <sup>a</sup>
Tec. vascular PEL (%)	2,95 (0,17) <sup>a</sup>	3,14 (0,14) <sup>a</sup>	3,13 (0,15) <sup>a</sup>	2,88 (0,16) <sup>a</sup>

Tec: Tecido; AEM: Dígito anterior esquerdo medial; AEL: Dígito anterior esquerdo lateral; PEM: Dígito posterior esquerdo medial; PEL: Dígito posterior esquerdo lateral. Médias com letras distintas na mesma linha diferem ( $p \leq 0,05$ ), ANOVA seguida pelo teste de Tukey

### 6.5.2 Peso, volume e espessura do coxim digital

O peso e volume do coxim digital não variou entre os grupos com diferentes níveis de concentrado na dieta [Dieta 1 ( $\bar{x} = 5,9 \pm 0,43$ ), Dieta 2 ( $\bar{x} = 5,5 \pm 0,41$ ), Dieta 3 ( $\bar{x} = 6,2 \pm 0,46$ ) e Dieta 4 ( $\bar{x} = 5,8 \pm 0,43$ )] ( $p > 0,05$ ) (Tabela 13).

Não houve variação na espessura do espaço de localização do coxim digital dos cascos dos bovinos de corte alimentados com distintas dietas de

confinamento [ponto central da margem solar da falange distal (FD) **dieta 1** ( $\dot{x} = 0,56 \pm 0,02$ ), **dieta 2** ( $\dot{x} = 0,59 \pm 0,01$ ), **dieta 3** ( $\dot{x} = 0,58 \pm 0,03$ ) e **dieta 4** ( $\dot{x} = 0,61 \pm 0,02$ ), na margem distal ao processo flexor da falange distal (pF) **dieta 1** ( $\dot{x} = 0,58 \pm 0,02$ ), **dieta 2** ( $\dot{x} = 0,58 \pm 0,02$ ), **dieta 3** ( $\dot{x} = 0,54 \pm 0,01$ ) e **dieta 4** ( $\dot{x} = 0,59 \pm 0,01$ ) e perpendicular a região central do navicular (NV) **dieta 1** ( $\dot{x} = 0,45 \pm 0,02$ ), **dieta 2** ( $\dot{x} = 0,39 \pm 0,01$ ), **dieta 3** ( $\dot{x} = 0,41 \pm 0,01$ ) e **dieta 4** ( $\dot{x} = 0,46 \pm 0,01$ )] (Figura 4) ( $p > 0,05$ ).

Neste estudo, diferenças não foram observadas no ganho de peso entre os grupos que receberam as quatro dietas durante o período experimental. Em novilhas, o coxim digital é mais esbranquiçado com deposição de tecido conjuntivo (RABER et al. 2004), a partir de duas a três lactações o tecido torna-se menos espesso e mais amarelado com deposição de gordura e perda de tecido conjuntivo (SAMUELSON, 2007). No presente estudo essas diferenças não foram constatadas, provavelmente porque houve homogeneidade da faixa etária entre as novilhas.

### **6.6 Desempenho zootécnico (ECC, GMD e rendimento de carcaça)**

Mesmo com todas as alterações descritas anteriormente no rúmen, tecido laminar e coxim digital, o ganho médio diário de peso foi semelhante entre as novilhas que foram alimentadas com distintas dietas de confinamento ( $p > 0,05$ ). Este fato confirma, que o grau de agressão clínica as novilhas de corte durante o presente estudo foi discreto, ao ponto das mesmas não perderem desempenho ( $p < 0,05$ ), apesar da diferença superior observada no rendimento das carcaças das novilhas alimentadas com a dieta de alto grão (dieta 4) (Tabela 13).

Com base nessas observações, verificou-se resultado expressivo em função da genética em desafio, caracterizada pela moderada variabilidade dos caracteres analisados, podendo ser consideradas como orientação no planejamento dos processos seletivos para confinamento, o que de certa forma, apesar dos danos impostos, apresentou efeito significativo para as características de desempenho, sem interferir na rentabilidade do sistema.

Este contexto assinala a compatibilidade das raças de corte utilizadas para este sistema de produção intensiva, que apesar de apresentarem diferenças nos moldes de seleção, separados pela geografia, ao reunirem-se através da internacionalização, essas populações apresentam características genéticas que deverão ser investigadas, principalmente quando há possibilidade de resistência aos desequilíbrios nutricionais impostos.

Tabela 13. Dados zootécnicos, avaliando o desempenho produtivo de bovinos de corte alimentados com distintas dietas de confinamento

Variável	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4
<b>ECC pré-abate</b>	3,70 (0,08) <sup>a</sup>	3,87 (0,09) <sup>ab</sup>	4,07 (0,04) <sup>b</sup>	3,82 (0,09) <sup>ab</sup>
<b>Ganho médio diário (kg)</b>	1,02 (0,04) <sup>a</sup>	1,09 (0,04) <sup>a</sup>	0,95 (0,03) <sup>a</sup>	0,97 (0,02) <sup>a</sup>
<b>Rendimento de carcaça (%)</b>	52,80 (0,56) <sup>a</sup>	53,69 (0,39) <sup>a</sup>	54,23 (0,46) <sup>a</sup>	56,60 (0,58) <sup>b</sup>

**ECC – escore de condição corporal**

**Médias com letras distintas na mesma linha diferem ( $p \leq 0,05$ ), ANOVA seguida pelo teste de Tukey**

## 7 CONCLUSÕES:

- A solução de sacarose e a dieta de alto grão (4) alteraram o perfil clínico de bovinos de corte em confinamento, promovendo fezes inconsistentes, menor motilidade e pH ruminal, apesar da ausência de claudicação;
- Bovinos das raças Angus e Hereford alimentados com maiores níveis de concentrado na dieta apresentaram suave agressão ao córium e tecido laminar com alterações histológicas sugestivas de laminite;
- As distintas dietas não promoveram alterações no posicionamento da falange distal no interior do estojo córneo das novilhas de corte;
- Os diferentes níveis de concentrado na dieta não promoveram modificações no peso, volume, espessura e constituição (tecido conjuntivo, adiposo e vascular) do coxim digital;
- Dietas com altos níveis de grãos não alteraram o ganho médio diário, porém melhoraram o rendimento de carcaça das novilhas em confinamento;
- Portanto, as dietas de alto grão promoveram moderada agressão ao ambiente ruminal e tecido córium/laminar, sem danos a almofada digital das novilhas de corte;
- A integridade do epitélio papilar ruminal parece ser relevante para o controle da associação entre acidose e laminite;

## **Agradecimentos**

À Universidade Federal de Pelotas e ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia pela oportunidade.

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado propiciando o desenvolvimento dessa pesquisa.

## Referências

ACUÑA, R. Cojeras del bovino: fisiopatología y profilaxis. 1ª ed. Buenos – Aires: **Inter-Médica**. 139 p. 2004.

ANUALPEC. Anuário da Pecuária Brasileira, 20th edn. **Instituto FNP**, São Paulo, SP, Brasil, 2016.

BAGGOTT, D. G., BUNCH, K. J., & GILL, K. R. Variations in some inorganic components and physical properties of claw keratin associated with claw disease in the British Friesian cow. **British Veterinary Journal**, 144(6), 534-542, 1988.

BAIRD, L. G., DAWSON, L. E. R., YOUNG, I. S., & O'CONNELL, N. E. Lipid content and fatty acid composition of the digital cushion of bulls offered different amounts of linseed 1. **Journal of animal science**, 88(7), 2403-2409, 2010.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. Nutrição de Ruminantes. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, v. 1. 616p. 2011.

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

BLACK, S.J.; LUNN, D.P.; YIN, C. et al. Leukocyte emigration in the early stages of laminitis. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v.109,p.161-166, 2006.

BOOSMAN, R., NEMETH, F., & GRUYS, E. Bovine laminitis: clinical aspects, pathology and pathogenesis with reference to acute equine laminitis. **Veterinary Quarterly**, 13(3), 163-171, 1991.

BORGES, L. C., LEONARDO, A. S., BARRETO-VIANNA, A. R., BORGES, J. R. J., CASTRO, M. B., & LIMA, E. M. Morphoquantitative description of bovine digital cushion. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 35(7), 671-676. 2015.

BRASIL. MAPA - Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria nº 368, de 04/09/97 – Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico Sanitárias e de Boas Práticas de Elaboração para Estabelecimentos Elaboradores / Industrializadores de Alimentos, 1997.

BRASIL. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Regulamento Técnico de Métodos de Insensibilização para o Abate Humanitário de Animais de Açougue. **Instrução Normativa nº 3**, de 17 de janeiro de 2000.

BUDRAS, K. D., MÜLLING, C., & HOROWITZ, A. Rate of keratinization of the wall segment of the hoof and its relation to width and structure of the zona alba (white line) with respect to claw disease in cattle. **American journal of veterinary research**, 57(4), 444-455, 1996.

CAMPOS, S. B. D. S. Biometria dos dígitos de bovinos e bubalinos e possível relação com enfermidades podais. 2012.

CAMPOS, A. D. S., DIAZ, B. L., RIVERA, E. A. B., GRANJEIRO, J. M., BRAGA, L. M. G. D. M., FRAJBLAT, M., & STEPHANO, M. A. Guiabrasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica: introdução geral. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. 2016.

CASUTT, M.M., SCHEEDER, M.R.L., ESCHER, F., DUFEY, P.-A. AND KREUZER, M. Relating Texture Properties and Composition of Bovine Fat Tissue. **Lipid—Fett**, 101, 283-290, 1999.

CLARK, A. K., & RAKES, A. H. Effect of Methionine Hydroxy Analog Supplementation on Dairy Cattle Hoof Growth and Composition<sup>1, 2</sup>. **Journal of dairy science**, 65(8), 1493-1502. 1982.

COSTA, S. D. F. Alterações morfológicas induzidas por Butirato, Propionato e Lactato sobre a mucosa ruminal e epiderme de bezerros, 2003.

DANSCHER, A. M., ENEMARK, J. M. D., TELEZHENKO, E., CAPION, N., EKSTRØM, C. T., & THOEFNER, M. B. Oligofructose overload induces lameness in cattle. *Journal of dairy science*, 92(2), 607-616.2009.

DANSCHER, A. M., TØLBØLL, T. H., & WATTLE, O. Biomechanics and histology of bovine claw suspensory tissue in early acute laminitis..**Journal of dairy science**, 93(1), 53-62.2010.

DISTL, O.; KRÄUSSLICH, H.; MAIR, A.; SPIELMANN, C.; DIEBSCHLAG, W. Computer gestützte Analyse von Druck verteilungsmessungen an Rinderklauen. **Deutsche tierärztliche Wochenschrift**, v.97, n.11.p.441-508, 1990.

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

EZEQUIEL, J. M. B., GALATI, R. L., MENDES, A. R., & FATURI, C. Desempenho e características de carcaça de bovinos Nelore em confinamento alimentados com bagaço de cana-de-açúcar e diferentes fontes energéticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2050-2057, 2006.

FEITOSA, F.L. Semiologia Veterinária: a arte do exame clínico. **Roca**, São Paulo. 807p, 2004.

FERREIRA, P. M., CARVALHO, A. U., FACURY-FILHO, E. J., FERREIRA, M. G., & FERREIRA, R. G. Afecções do sistema locomotor dos bovinos. **Simpósio Mineiro de Buiatria**, Belo Horizonte, MG. 26p, 2005.

FLOWER, F. C., SANDERSON, D. J., & WEARY, D. M. Hoof pathologies influence kinematic measures of dairy cow gait. **Journal of Dairy Science**, 88(9), 3166-3173, 2005.

FLOWER, F. C., & WEARY, D. M. Gait assessment in dairy cattle. **Animal**, 3(1), 87-95, 2009.

GODWIN, K.O..Skin, hair and nail in protein mal nutrition. *WorldRev. Nutr.Diet*3, 105–128.1962.

GREENOUGH, P. R. Bovine Laminitis and Lameness: a Hands on Approach. St. Louis : **Saunders Elsevier**, 311 p, 2007.

GRÜNBERG, W.; CONSTABLE, P. D. Function and dysfunction of the ruminant forestomach. In: ANDERSON, D. E.; RINGS, D. M. *Current Veterinary Therapy in Food Animal Practice*. 5.ed. St. Louis: **Saunders Elsevier**, cap. 6, p. 12- 19, 2009.

HENDRY, K. A., Mac CALLUM, A. J., KNIGHT, C. H., & WILDE, C. J. Effect of endocrine and paracrine factors on protein synthesis and cell proliferation in bovine hoof tissue culture. **Journal of dairy research**, 66(1), 23-33, 1999.

İZCI, C., EROL, M., & GÖKŞAHIN, E. A Study About Determining the Changes in the Structural Characteristics of the Digital Cushion in Heifer and Multipar **Dairy Cows**: A Preliminary Report. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(1), 2011.

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

KÖNIG, H.E.; LIEBICH, H. Anatomia dos animais domésticos: **texto e atlas colorido**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

KRAUSE, K. M., & OETZEL, G. R. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 126(3-4), 215-236.2006.

LARSON, B., OBEL, N., & ABERG, B. Biochemistry of keratinization in the matrix of the horse's hoof in normal conditions. **Nord Vet-Med**, 8, 761-776. 1956.

LEAN, I. J., WESTWOOD, C. T., GOLDBERGER, H. M., & VERMUNT, J. J. Impact of nutrition on lameness and claw health in cattle. **Livestock Science**, 156(1), 71-87. 2013.

LIMA, E. M. M. D., BORGES, J. R. J., LIMA, F. B. D., SILVA, F. O. C., LEONARDO, A. S., & VIANNA, A. R. D. C. B. Morfometria do casco de bovinos nelorados em diferentes sistemas de criação. 2013.

LISCHER, C. J., KOLLER, U., GEYER, H., MÜLLING, C. H., SCHULZE, J., & OSSENT, P. Effect of therapeutic dietary biotin on the healing of uncomplicated sole ulcers in dairy cattle—a double blinded controlled study. **The Veterinary Journal**, 163(1), 51-60, 2002.

LOPES, M. A., SANTOS, G. D., MAGALHÃES, G. P., CARVALHO, F. D. M. Efeito da escala de produção na rentabilidade da terminação de bovinos de corte em confinamento. **Ciência e Agrotecnologia**, 31(1), 212-217, 2007.

LUNA, L. G. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces **Institute of Pathology**, 1968.

MACLEAN, C. W. The histopathology of laminitis in dairy cows. **Journal of comparative pathology**, 81(4), 563-IN14. 1971.

MANSON, F. A., & LEAVER, J. D. The influence of concentrate amount on locomotion and clinical lameness in dairy cattle. **Animal Science**, 47(2), 185-190. 1988.

MARTINS, I. S., FERREIRA, M. M. G., ROSA, B. R. T., BENEDETTE, M. F., & FILADELPHO, A. L. Laminite Bovina. **Revista Científica Eletônica de Medicina Veterinária**, Ano VI, (10). 2008.

MARUTA AKIO, Celso; ORTOLANI LIPPI, Enrico. Susceptibilidade de bovinos das raças jersey e gir à acidose láctica ruminal: II-Acidose metabólica e metabolização do lactato-L. **Ciência Rural**, v. 32, n. 1, 2002.

MC.NAUGHTON, A. (2010) – Measuring Area Using Thresholds. Otago Center for Confocal Microscopy – acessado em 24/11/2017 em <http://occm.otago.ac.nz/resources/ImageJThresholding.pdf>. 2010.

MENDES, H. M. F. Lesões na junção derme-epiderme do casco de vacas de aptidão leiteira de descarte com e sem sinais clínicos de laminite. 2010.

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

MILLEN, D. D., PACHECO, R. D. L., ARRIGONI, M. D. B., GALYEAN, M. L., & VASCONCELOS, J. T. A snap shot of management practices and nutritional recommendation sused by feed lot nutritionists in Brazil. **Journal of animal science**, 87(10), 3427-3439. 2009.

MILINOVICH, G. J., TROTT, D. J., BURRELL, P. C., VAN EPS, A. W., THOEFNER, M. B., BLACKALL, L. L., ... & POLLITT, C. C. Changes in equine hind gut bacterial populations during oligofructose- induced laminitis. **Environmental Microbiology**, 8(5), 885-898. 2006.

MILINOVICH, G. J., BURRELL, P. C., POLLITT, C. C., KLIEVE, A. V., BLACKALL, L. L., OUWERKERK, D., TROTT, D. J. Microbial ecology of the equine hind gut during oligofructose-induced laminitis. *The ISME journal*, 2(11), 1089.2008.

MISSIO, R. L., BRONDANI, I. L., FREITAS, L. D. S., SACHET, R. H., SILVA, J. D., RESTLE, J. Desempenho e avaliação econômica da terminação de tourinhos em confinamento alimentados com diferentes níveis de concentrado na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38(7), 1309-1316, 2009.

MORROW, L. L., TUMBLESON, M. E., KINTNER, L. D., PFANDER, W. H., & PRESTON, R. L. Laminitis in lambs injected with lacticacid. **American journal of veterinary research**, 34(10), 1305, 1973.

MULLING, C., LISCHER, C. New aspects on etiology and pathogenesis of laminitis in cattle.in: *Recent Developments and Perspectives in Bovine*

Medicine. Proc. 22th World Buiatrics Congress, Hannover, Germany. Klinikfür Rinderkrankheiten, Tierärztliche Hochschule Hannover, Germany;236–247.2002.

MULLING, C. K. W.; GREENOUGH, P. R. Applied Physiopathology of the Foot. In: WORLD BUIATRICALS CONGRESS, 24., 2006, Nice. **Anais eletrônicos...**[on line]. Nice: 2006.

NICHOLSON, M. J.; BUTTERWORTH, M. H. A guide to condition scoring of zebu cattle. **Addis Ababa**: International Livestock Centre for Africa, 29 p, 1986.

NORO, M., SEPÚLVEDA, P., CÁRDENAS, F., CHIHUAILAF, R. H., & WITTEWER, F. Rumenocentesis dorsomedial: un procedimiento seguro para la obtención de líquido ruminal en vacas lecheras a pastoreo. **Archivos de medicina veterinaria**, 45(1), 25-31, 2013.

OBEL, N. Studies on the histopathology of acute laminitis. **Studies on the histopathology of acute laminitis**, 1948.

ORTOLANI, E. L. Considerações sobre a acidose láctica ruminal dos bovinos. Belo Horizonte: Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Escola de Veterinária - **UFMG**, 417-420. 1979.

ORTOLANI, E. L. Induction of lactic acidosis in cattle with sucrose: relationship between dose, rumen fluid pH and animal size. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 37, n. 5, p. 462-464, 1995.

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

OSSENT, P., & LISCHER, C. Bovine lamninitis: the lesions and their pathogenesis. **In practice**, 20(8), 415-427. 1988.

OSTERSTOCK, J. Investigating lameness outbreaks in feedlot cattle. In: ANDERSON, D. E.; RINGS, D. M. *Current Veterinary Therapy in Food Animal Practice*. 5.ed. St. Louis: **Saunders Elsevier**, cap. 127, p. 669-673, 2009.

PACHECO, P. S.; DE AVILA F. E.; CAMERA, A. Análise Conjunta de Indicadores Financeiros na Viabilidade Econômica do Confinamento de Bovinos no Rio Grande do Sul em Diferentes Épocas do Ano. **Agropampa: Revista de Gestão do Agronegócio**, v. 1, n. 1, 2016.

PAES LEME, F. O., BONNA, F. A. B., DE MARVAL, C. A., XAVIER, S. H. N., SANTOS, R. L., FALEIROS, R. R., & ALVES, G. E. S. Histopathology of the digital laminae from horses with acute induced laminitis treated with ketoprofen, phenylbutazone, and flunixin meglumine. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62(2), 241-250.2010.

PINTO, B. A. S. Medidas morfométricas para avaliação da qualidade dos dígitos de vacas Holandesas. *Revista Acadêmica: Ciência Animal*, 15 (Suppl 2), 457-458. 2017.

PLAIZIER, J. C.; KRAUSE, D. O.; GOZHO, G. N.; Mc BRIDE, B. W. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences. **The Veterinary Journal**, London, v. 176, n. 1, p. 21-31, 2009.

RÄBER, M., SCHEEDER, M. R. L., OSSENT, P., LISCHER, C. J., GEYER, H. The content and composition of lipids in the digital cushion of the bovine claw with respect to age and location—A preliminary report. **The Veterinary Journal**, 172(1), 173-177, 2006.

RÄBER, M., LETTER, V., CHASSOT, A., GEYER, H., & SCHEEDER, M. R. The Influence of Feeding Regimen on the Composition of the Fat Pads in the Bovine Digital Cushion. **Agricultural Sciences**, 6(09), 889, 2015.

RAGFAR. Ruminal acidosis - a etiopathogenesis, prevention and treatment. Reference Advisory Group on Fermentative Acidosis of Ruminants, **Australian Veterinary Association**, Australia. 2007.

SAGUES, A. G. The biomechanics of weight bearing and its significance with lameness. Proceedings of the 12th **International Symposium on Lameness in Ruminants**. Orlando, p. 117-121, 2002.

SAMUELSON, D.A. Textbook of veterinary histology. **Saunders-Elsevier**, 2007.

SHEARER, J.K. The transition period and lameness dueto claw disorders in dairy cows. In: NORTH AMERICAN VETERINARY CONFERENCE, 2006, Orlando, Florida. Proceedings of the **North American Veterinary Conference**, v. 20, Orlando, Florida. 2006.

SILVA, L. H. D. Morfometria radiográfica e tomográfica em dígitos de bovinos e bubalinos, 2012.

SILVA, L. A., CAMPOS, S. B., RABELO, R. E., VULCANI, V. A., NORONHA FILHO, A. D. F., & DE FREITAS, S. L. Análise comparativa da morfometria do casco de bovinos das raças Nelore, Curraleira e Pantaneira e de bubalinos e sua relação com a etiopatogenia das enfermidades digitais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 35(4), 377-384, 2015.

SOARES, J. C. D. R., BARCELLOS, J. O. J., QUEIROZ FILHO, L. A. V., OAIGEN, R. P., CANOZZI, M. E. A., CAMARGO, C. M., BRACCINI NETO, J. Avaliação econômica da terminação de bovinos de corte em pastagem irrigada. Arquivo brasileiro de medicina veterinaria e zootecnia= **Brazilian journal of veterinary and animal sciences**. Belo Horizonte. Vol. 67, n. 4, 2015.

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

STEELE, M. A., J. CROOM, M. KAHLER, O. ALZAHAL, S. E. HOOK, K. PLAIZIER, B. W. MCBRIDE. Bovine rumen epithelium undergoes rapid structural adaptations during grain-induced subacute ruminal acidosis. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.** 300:R1515–R1523, 2011.

- STOKES, A.M. The pathophysiology of acute laminitis. In: simpósio internacional do cavalo atleta, 2., 2005, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: EV-UFMG, 2005. p.83-89, 2005.
- TARLTON, J. F., HOLAH, D. E., EVANS, K. M., JONES, S., PEARSON, G. R., & WEBSTER, A. J. F. Biomechanical and histopathological changes in the support structures of bovine hooves around the time of first calving. *The Veterinary Journal*, 163(2), 196-204.2002.
- THOEFNER, M. B., POLLITT, C. C., VAN EPS, A. W., MILINOVICH, G. J., TROTT, D. J., WATTLE, O., & ANDERSEN, P. H. Acute bovine laminitis: A new induction model using alimentary oligofructose overload. **Journal of Dairy Science**, 87(9), 2932-2940. 2004.
- THOEFNER, M. B., WATTLE, O., POLLITT, C. C., FRENCH, K. R., & NIELSEN, S. S. Histopathology of oligofructose - induced acute laminitis in heifers. **Journal of dairy science**, 88(8), 2774-2782. 2005.
- TOMLINSON, D. J., MÜLLING, C. H., & FAKLER, T. M. Invited review: formation of keratins in the bovine claw: roles of hormones, minerals, and vitamins in functional claw integrity. **Journal of dairy science**, 87(4), 797-809. 2004.
- TRANter, W. P., & MORRIS, R. S. Hoof growth and wear in pasture - fed dairy cattle. **New Zealand veterinary journal**, 40(3), 89-96. 1992.
- TULIO, L. M. Estudo biométrico do casco bovino e bubalino: avaliação de características anátomo-fisiológicas do casco sadio. 2006.
- USDA. Global Agricultural Trade System online. 2015.
- VAN DER TOL, P. P. J.; METZ, J. H. M.; NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N.; BACK, W.; BRAAM, C. R.; WEIJS, W. A. The vertical ground reaction force and the pressure distribution on the claws of dairy cows while walking on a flat substrate. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2875-2883, 2003.

VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B., & LEWIS, B. A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, 74(10), 3583-3597.1991.

VATANDOOST, M.; NOROUZIAN. M. A.; NOSRATI, M. Estimation of milk yield and economic losses resulting to laminitis in Holstein cow: a case study. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 8, n. 5, p. 880-882, 2009.

VECHIATO, T. A. F. Estudos retrospectivos e prospectivos da presença de abscessos hepático em bovinos abatidos em um frigorífico paulista. 2009. 102 f. **Dissertação** (Mestrado em Clínica Veterinária)-Universidade de São Paulo, 2009.