

**ANA CLARA SARZEDAS RIBEIRO**

**AVALIAÇÃO DA TROPONINA CARDÍACA I E CK-MB EM CAPRINOS COM  
ACIDOSE LÁCTICA RUMINAL EXPERIMENTAL**

**GARANHUNS**

**2020**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE  
ANIMAIS DE PRODUÇÃO**

**ANA CLARA SARZEDAS RIBEIRO**

**AVALIAÇÃO DA TROPONINA CARDÍACA I E CK-MB EM CAPRINOS COM  
ACIDOSE LÁCTICA RUMINAL EXPERIMENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sanidade e Reprodução de Animais de Produção da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Sanidade e Reprodução de Animais de Produção.

**Orientador:** Dr. José Augusto Bastos Afonso

**GARANHUNS**

**2020**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Ariano Suassuna, Garanhuns - PE, Brasil

R484a Ribeiro, Ana Clara Sarzedas

Avaliação da troponina cardíaca I e CK-MB em caprinos com acidose láctica ruminal experimental / Ana Clara Sarzedas Ribeiro.  
- Garanhuns, 2020.

90 f. : il.

Orientador: José Augusto Bastos Afonso.  
Dissertação (Mestrado em Sanidade e Reprodução de Animais de Produção) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Animais de Produção, Garanhuns, BR - PE, 2020.

Inclui referências e anexos

1. Caprinos 2. Acidose 3. ionóforos 4. Ruminante I. Afonso, José Augusto Bastos, orient. II. Título

CDD 636.39

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE  
ANIMAIS DE PRODUÇÃO**

**AVALIAÇÃO DA TROPONINA CARDÍACA I E CK-MB EM CAPRINOS COM  
ACIDOSE LÁCTICA RUMINAL EXPERIMENTAL**

Dissertação elaborada por:  
**ANA CLARA SARZEDAS RIBEIRO**

Aprovada em: 19/02/2020

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dr. José Augusto Bastos Afonso  
Clínica de Bovinos de Garanhuns/UFRPE  
Orientador

---

Dra. Carla Lopes de Mendonça  
Clínica de Bovinos de Garanhuns/UFRPE

---

Dr. Luiz Teles Coutinho  
Clínica de Bovinos de Garanhuns/UFRPE

## **Dedico**

Aos meus pais: Adriana e Alexandre, pelo apoio e amor sem medidas. Sem vocês eu nada seria.

## AGRADECIMENTOS

À Deus por Sua constante presença em minha vida, que conduziu cada passo dado até aqui, pelo conforto nos momentos de saudade e força nas dificuldades.

Aos meus pais, Alexandre e Adriana, meus exemplos de vida e fé, por todo apoio, educação e amor incondicional. Obrigada por, muitas vezes, deixarem de sonhar o seus sonhos para sonhar os meus.

Aos meus irmãos João Paulo e Gislene, meus cunhados Jonathas e Fernanda, obrigada pela amizade e apoio de sempre.

Aos meus avós Henrique, Edméa, Ercília e Antônio (*in memoriam*), pelo cuidado e amor sem igual.

Às minhas afilhadas Alice e Maria Antônia, pelo amor mais puro e alegria que me motivam, vocês são os bens mais preciosos que a mim foram confiados.

À toda minha família e amigos, que apesar da distância sempre se fazem presentes e por compreenderem a ausência durante esses anos. Vocês são meu alicerce, amo vocês!

Ao Dr. José Augusto, pela orientação durante a realização deste trabalho, assim como por todo ensinamento e experiências compartilhadas durante os anos de pós-graduação.

À Clínica de Bovinos de Garanhuns, aos técnicos, residentes e funcionários pelo acolhimento, amizade e por toda contribuição para meu crescimento pessoal e profissional.

Aos amigos Regina, Leonardo, Gliére, Rodolpho, Uila, Elizabeth, Ana Katharina, Adony, Lucas Dutra, Darlan, Táyrlla, Nitalmo, Lucas Spósito, Bárbara, Thatyanne, Raquel, Joana, Emmanuel, Karla e Desirée pela amizade e conhecimentos compartilhados.

Agradeço em especial à Ângela, Tatiane e Laís por todo companheirismo desde a residência e que se tornaram mais do que amigas durante essa jornada.

Aos técnicos, professores e alunos do CENAPESQ/UFRPE e do Laboratório de Doenças Nutricionais e Metabólicas de Ruminantes/UFRPE, pela ajuda na realização das análises bioquímicas.

Ao Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu, pela disponibilização do aparelho de hemogasometria portátil.

Aos animais, agradeço por me motivarem cada dia mais à busca pelo conhecimento.

À banca examinadora, pela disponibilidade e contribuições que foram de grande valia para o trabalho.

Muito obrigada!

“One child, one teacher, one book and one pen  
can change the world. Education is the only  
solution. Education first.”

Malala Yousafzai

## RESUMO

Objetivou-se com o presente estudo avaliar a presença de lesão cardíaca em caprinos submetidos à indução da acidose láctica ruminal (ALR) com diferentes doses de sacarose, através da mensuração dos biomarcadores sanguíneos de lesão cardíaca, isoenzima MB da creatina quinase (CK-MB) e troponina cardíaca I (cTnI), além de avaliar a eficácia preventiva da suplementação dietética com monensina sódica e as alterações nos metabólitos sanguíneos e na hemogasometria nestes animais. No primeiro estudo, 20 caprinos foram divididos em dois grupos: grupo controle (GC) e grupo tratamento (GT) suplementado com 33mg/animal/dia de monensina sódica. A acidose ruminal foi induzida através da administração intraruminal de 10g/Kg de peso vivo de sacarose. Antes da indução e 4h, 8h, 12h, 24h, 32h, 48h e 72h pós-indução (PI) realizou-se exame clínico, análise do fluído ruminal e mensuração das variáveis sanguíneas: CK, L-lactato, cortisol, CK-MB e cTnI. Os caprinos apresentaram quadro clínico brando de ALR, com pH ruminal mínimo às 8h PI, sem diferença ( $P>0,05$ ) entre os grupos. O L-lactato plasmático apresentou valores máximos 8h PI e o cortisol elevou-se entre 8h e 12h PI ( $P<0,05$ ). As concentrações de CK-MB e cTnI foram mais elevadas ( $P<0,05$ ) no GC e GT, respectivamente, sem diferença ( $P>0,05$ ) entre os momentos. No segundo estudo, a enfermidade foi induzida em cinco caprinos através do fornecimento intraruminal de 15g/Kg de peso vivo de sacarose. Antes da indução e 4h, 8h, 12h, 24h, 48h, 72h e 168h PI realizou-se exame clínico, análise do fluido ruminal, hemogasometria e mensuração de AST, CK, CK-MB, cTnI, GGT, LDH e L-lactato no sangue desses animais. Os caprinos apresentaram quadro clínico agudo de ALR, com redução ( $P<0,05$ ) do pH das 4h às 48h PI, com menor média às 12h PI. Ocorreu alcalose metabólica transitória, antecedendo um quadro de acidose metabólica, o sódio e o potássio elevaram-se inicialmente e em seguida houve hipocalemia ( $P<0,05$ ). L-lactato e LDH elevaram-se ( $P<0,05$ ) e as concentrações dos biomarcadores cTnI e CK-MB não se alteraram após a indução ( $P>0,05$ ). Os modelos experimentais utilizados causaram manifestações clínicas e metabólicas características da ALR, sendo o quadro clínico mais grave nos animais que receberam 15g/Kg de peso vivo de sacarose. A suplementação com monensina sódica, na dose utilizada, não preveniu a ocorrência da enfermidade. A avaliação da bioquímica sanguínea ratificou o diagnóstico e auxiliou no monitoramento a ALR em caprinos e a intensidade do quadro clínico induzido por ambas as doses do substrato não foi suficiente para causar lesão cardíaca e elevação de CK-MB e cTnI.

**Palavras-chave:** acidose ruminal; biomarcadores cardíacos; ionóforos; lesão miocárdica; pequenos ruminantes.



## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the presence of cardiac injury in goats submitted to induction of rumen lactic acidosis (RLA) with different sucrose doses, by measuring blood biomarkers of cardiac injury, creatine kinase MB isozyme (CK-MB) and cardiac troponin I (cTnI), in addition to evaluating the preventive efficacy of dietary supplementation with sodium monensin and changes in blood metabolites and blood gas analysis in these animals. In the first study, 20 goats were divided into two groups: control group (CG) and treatment group (TG) supplemented with 33 mg/animal/day of sodium monensin. Ruminant acidosis was induced by intraruminal administration of 10 g/kg of body weight of sucrose. Before induction and 4h, 8h, 12h, 24h, 32h, 48h and 72h post-induction (PI), clinical examination and ruminal fluid analysis were performed and blood variables were measured: CK, L-lactate, cortisol, CK-MB and cTnI. The goats had a mild clinical picture of RLA, with minimum rumen pH at 8h PI, with no difference ( $P>0.05$ ) between groups. Plasma L-lactate showed maximum values 8h PI and cortisol increased between 8h and 12h PI ( $P<0.05$ ). CK-MB and cTnI concentrations were higher ( $P <0.05$ ) in CG and TG, respectively, with no difference ( $P>0.05$ ) between the moments. In the second study, the disease was induced in five goats by intraruminal administration of 15g/kg of body weight of sucrose. Before induction and 4h, 8h, 12h, 24h, 48h, 72h and 168h PI, clinical examination, ruminal fluid analysis, blood gas analysis and measurement of AST, CK, CK-MB, cTnI, GGT, LDH and L-lactate were performed in the blood of these animals. The goats presented acute clinical presentation of RLA, with reduction ( $P<0.05$ ) of pH from 4h to 48h PI, with lower average at 12h PI. Transient metabolic alkalosis occurred, preceding a condition of metabolic acidosis, sodium and potassium increased initially and then hypokalemia occurred ( $P<0.05$ ). L-lactate and LDH increased ( $P<0.05$ ) and concentrations of cTnI and CK-MB biomarkers did not change after induction ( $P> 0.05$ ). The experimental models used caused clinical and metabolic manifestations characteristics of RLA, being the most serious clinical condition in animals that received 15g/kg of body weight of sucrose. Supplementation with sodium monensin at the dose utilized did not prevent the disease from occurring. The evaluation of blood biochemistry confirmed the diagnosis and helped in the monitoring of goat RLA and the intensity of the clinical condition induced by both substrate doses was not sufficient to cause cardiac injury and elevation of CK-MB and cTnI.

**Key words:** ruminal acidosis; cardiac biomarkers; ionophores; myocardial lesion; small ruminants.

## LISTA DE FIGURAS

### **ARTIGO 1 – Cardiac biomarkers in goats with experimental ruminal lactic acidosis and supplemented with monensin sodium**

**Figure 1.** Mean ruminal pH values of goats submitted to experimental induction of ruminal lactic acidosis and supplemented with monensin sodium. CG, control group; TG, treatment group.....45

### **ARTIGO 2 – Hemogasometry, cardiac biomarkers and blood metabolites in goats with experimentally induced acute ruminal lactic acidosis**

**Figure 1.** Mean ruminal pH values of goats submitted to experimental induction of rumen lactic acidosis. MB, basal moment.....76

## LISTA DE TABELAS

### **ARTIGO 1 – Cardiac biomarkers in goats with experimental ruminal lactic acidosis and supplemented with monensin sodium**

Table 1. Heart rate, respiratory rate, and rectal temperature (mean  $\pm$  standard error) of goats submitted to experimental induction of ruminal lactic acidosis and supplemented with monensin sodium .....44

Table 2. Serum biochemical variables (mean  $\pm$  standard error) of goats submitted to experimental induction of ruminal lactic acidosis and supplemented with monensin sodium 44

### **ARTIGO 2 – Hemogasometry, cardiac biomarkers and blood metabolites in goats with experimentally induced acute ruminal lactic acidosis**

Table 1. Clinical parameters (mean  $\pm$  standard error) in goats with experimentally induced acute ruminal lactic acidosis .....73

Table 2. Hemogasometric variables (mean  $\pm$  standard error) in goats with experimentally induced acute ruminal lactic acidosis .....74

Table 3. Blood metabolites (mean  $\pm$  standard error) in goats with experimentally induced acute ruminal lactic acidosis .....75

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	13
2.1 OBJETIVO GERAL .....	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	14
3.1 ACIDOSE LÁCTICA RUMINAL .....	14
<b>3.1.1 Etiopatogenia</b> .....	14
<b>3.1.2 Diagnóstico</b> .....	16
<b>3.1.3 Prevenção</b> .....	17
3.2 BIOQUÍMICA CLÍNICA.....	18
<b>3.2.1 Biomarcadores Cardíacos</b> .....	18
3.2.1.1 Creatina Quinase (CK).....	19
3.2.1.1.1 Isoenzima MB da Creatina Quinase (CK-MB).....	20
3.2.1.2 Troponinas Cardíacas .....	21
3.2.1.2.1 Troponina Cardíaca I (cTnI) .....	23
3.2.1.3 Biomarcadores Cardíacos e Acidose Láctica Ruminal .....	24
<b>3.2.2 L-Lactato</b> .....	25
<b>3.2.3 Cortisol</b> .....	27
<b>3.2.4 Hemogasometria</b> .....	27
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	30
<b>4 ARTIGOS CIENTÍFICOS</b> .....	40
4.1 ARTIGO 1 .....	40
4.2 ARTIGO 2 .....	52
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	77
<b>ANEXOS</b> .....	78
ANEXO A – LICENÇA DA CEUA/UFRPE – Nº 66/2018.....	78
ANEXO B – LICENÇA DA CEUA/UFRPE – Nº 014/2019 .....	79
ANEXO C – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO – REVISTA AGRÁRIA ACADÊMICA	80
ANEXO D – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO – SMALL RUMINANT RESEARCH ...	83

## 1 INTRODUÇÃO

A caprinovinocultura tem se consolidado nas últimas décadas no semiárido brasileiro, constituindo uma das mais importantes atividades para a região, seja pela geração de fonte de renda para pequenos produtores, seja pela fixação do homem ao campo e perpetuação da atividade produtiva para as gerações seguintes. Porém, a irregularidade pluviométrica regional e a falta de informações acerca da conservação de alimentos para os animais durante o período de estiagem, impõem severas restrições à disponibilidade de nutrientes nos sistemas de produção animal. A necessidade de atenuar o problema nutricional nos períodos mais críticos do ano e melhorar os índices produtivos, para atender as imposições do mercado consumidor cada vez mais exigente, tem modificado o manejo alimentar desses animais. A suplementação com matéria-prima inadequada, de forma abusiva ou sem prévia adaptação, predispõe o desenvolvimento de enfermidades digestivas como a acidose ruminal (BATISTA; SOUZA, 2015; SILVA *et al.*, 2010).

A acidose láctica ruminal (ALR) é um distúrbio digestivo e metabólico dos ruminantes causado pela ingestão excessiva de carboidratos facilmente fermentáveis de forma abrupta e sem adaptação, resultando em alterações no perfil microbiano e no padrão de fermentação ruminal, com aumento e acúmulo de substâncias como os ácidos graxos voláteis e o ácido láctico, desencadeando além do distúrbio fermentativo, um quadro de acidose metabólica e vários processos secundários potencialmente fatais. A gravidade do quadro clínico varia em virtude da quantidade de carboidratos ingerida, da quantidade de lactato gerado no rúmen e da susceptibilidade individual (AFONSO; MENDONÇA, 2007; OWENS *et al.*, 1998; SNYDER; CREDILLE, 2017).

A morbidade da doença em caprinos é baixa, no entanto a letalidade pode ser de 50% (MAHMOOD *et al.*, 2013). A ALR representou 5,4% e 1,79% dos casos de ovinos e caprinos, respectivamente, atendidos na Clínica de Bovinos de Garanhuns, *Campus* Universidade Federal Rural de Pernambuco (CBG/UFRPE), entre 2000 e 2006, com 31,57% de letalidade (VIEIRA *et al.*, 2006), já nos anos de 2007 a 2016 a letalidade desta doença em pequenos ruminantes atendidos na mesma instituição foi de 47,6% (DUTRA *et al.*, 2018). Segundo Lira *et al.* (2013) a ALR representou 13,89% e 12,41% dos atendimentos de caprinos e ovinos com afecções digestivas, respectivamente, no Ambulatório de Grandes Animais da Universidade Federal de Campina Grande – PB, entre 2000 e 2011, com 46,4% de letalidade. Reiterando a importância da enfermidade para a exploração pecuária em virtude dos prejuízos que pode acarretar com a redução da produção, gastos em tratamentos e óbitos de animais.

Em casos de ALR, a associação dos sinais clínicos e exames laboratoriais permite uma melhor avaliação do quadro clínico do animal e direcionamento à terapêutica apropriada. No entanto, devido aos prejuízos atrelados a enfermidade, o mais racional é prevenir a sua ocorrência. As medidas preventivas adotadas para ALR incluem o fornecimento gradativo de carboidratos na alimentação e o uso de aditivos alimentares, como tamponantes e alguns antibióticos (NAGARAJA; LECHTENBERG, 2007a). Dentre os antibióticos, os ionóforos como a monensina sódica, vêm sendo utilizados na dieta de ruminantes para melhorar a eficiência alimentar e prevenir a ocorrência de acidose ruminal (NAGARAJA *et al.*, 1982; SALLES; LUCCI, 2000a, 2000b) e sua eficiência na prevenção da ALR foi estudada em caprinos, com resultados não esclarecedores (MIRANDA NETO *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2013).

Existe a hipótese de que os distúrbios acidobásicos e eletrolíticos e as complicações secundárias associados à ALR causam algum grau de lesão cardiovascular. Recentemente, biomarcadores de lesão cardíaca foram utilizados em estudos buscando avaliar a associação entre injúria miocárdica e acidose ruminal em pequenos ruminantes (FARTASHVAND; HAJI-SADEGHI, 2017; JOSHI *et al.*, 2017; KIRBAS *et al.*, 2014a), porém esta relação não está completamente elucidada.

Os biomarcadores cardíacos sanguíneos, especialmente a isoenzima MB da creatina quinase (CK-MB) e a troponina cardíaca I (cTnI), vêm sendo largamente empregados na medicina humana para auxiliar no diagnóstico e fornecer prognóstico, principalmente no infarto agudo do miocárdio e outras doenças críticas (ALATASSI *et al.*, 2018; SINGH *et al.*, 2010). Em medicina veterinária, esses marcadores têm sido empregados para determinar a presença lesão miocárdica em animais acometidos por doenças cardíacas primárias e transtornos de origem não-cardíaca, tendo relação com gravidade e prognóstico (CUMMINS; AUCKLAND; CUMMINS, 1987; MELLANBY *et al.*, 2007; RADCLIFFE *et al.*, 2015; VARGA *et al.*, 2013; YONEZAWA *et al.*, 2010).

Deste modo, as alterações nas concentrações séricas de CK-MB e cTnI constituem uma ferramenta em potencial para determinação de prognóstico e monitoramento da ALR, assim como avaliação da eficácia de medidas preventivas, como a utilização de antibióticos ionóforos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a presença de injúria miocárdica em caprinos submetidos à acidose láctica ruminal (ALR) experimental utilizando diferentes doses de sacarose, através da mensuração dos biomarcadores sanguíneos de lesão cardíaca cTnI e CK-MB, assim como a eficácia preventiva da suplementação com monensina sódica na dieta e as alterações na hemogasometria e bioquímica sanguínea associadas à enfermidade.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar as alterações clínicas em caprinos submetidos à ALR experimental utilizando diferentes doses de sacarose (10g/Kg de peso vivo e 15g/Kg de peso vivo);
- b) Avaliar as características físico-químicas e microbiológicas do fluido ruminal em caprinos submetidos à ALR experimental utilizando diferentes doses de sacarose (10g/Kg de peso vivo e 15g/Kg de peso vivo);
- c) Avaliar as concentrações dos biomarcadores cardíacos sanguíneos cTnI e CK-MB em caprinos submetidos à ALR experimental utilizando diferentes doses de sacarose (10g/Kg de peso vivo e 15g/Kg de peso vivo);
- d) Avaliar as concentrações dos metabólitos sanguíneos: creatina quinase, L-lactato e cortisol, em caprinos submetidos à ALR experimental utilizando sacarose na dose de 10g/Kg de peso vivo;
- e) Avaliar a eficácia preventiva da suplementação com monensina sódica e sua interferência na magnitude da injúria cardíaca associada à enfermidade em caprinos submetidos à ALR experimental utilizando sacarose na dose de 10g/Kg de peso vivo;
- f) Avaliar as concentrações dos metabólitos sanguíneos: creatina quinase, lactato desidrogenase, aspartato aminotransferase, gama glutamil transferase e L-lactato, em caprinos submetidos à ALR experimental utilizando sacarose na dose de 15g/Kg de peso vivo;
- g) Avaliar as alterações hemogasométricas em caprinos submetidos à ALR experimental utilizando sacarose na dose de 15g /Kg de peso vivo.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 ACIDOSE LÁCTICA RUMINAL

##### 3.1.1 Etiopatogenia

A acidose ruminal é um distúrbio digestivo e metabólico causado pela ingestão súbita ou crônica de carboidratos não estruturais, em quantidade suficiente para causar um acúmulo de ácidos orgânicos no rúmen, com redução concomitante do pH da ingesta a valores não-fisiológicos (JARAMILLO-LÓPEZ *et al.*, 2017; NAGARAJA; LECHTENBERG, 2007a; OWENS *et al.*, 1998). Esta situação pode ocorrer quando ruminantes não adaptados consomem quantidade excessiva desses carboidratos facilmente fermentáveis ou quando aqueles adaptados são alimentados com mais carboidratos do que sua microbiota ruminal pode suportar. Isto pode ocorrer por erros de manejo, mudança de ingredientes ou método de processamento da ração e quando há competição excessiva por alimentos entre os animais (SNYDER; CREDILLE, 2017).

A microbiota ruminal é determinada pelo tipo de alimento ingerido e os produtos finais do metabolismo bacteriano podem mudar em função do substrato disponível e das características do ambiente ruminal. As bactérias presentes no rúmen podem ser classificadas em “produtoras de lactato” ou “utilizadoras de lactato”. O fenômeno da acidose é iniciado pela alteração do equilíbrio entre esses dois grupos, o primeiro se sobrepõe ao segundo em crescimento, o que leva ao acúmulo do ácido láctico no ambiente ruminal (OWENS *et al.*, 1998).

Com o consumo excessivo de carboidratos não estruturais, ocorre fermentação por bactérias ruminais amilolíticas e consequente aumento da produção de ácidos graxos voláteis (AGV). Quando a produção excede a taxa de absorção, estes se acumulam contribuindo para a redução do pH ruminal e favorecendo a multiplicação de algumas bactérias Gram-positivas como *Streptococcus bovis*, importante produtora de lactato, acentuando o declínio no pH para valores inferiores a 5,5. Nestas condições, as bactérias Gram-negativas, incluindo as consumidoras de lactato, e os protozoários têm seu metabolismo comprometido e tendem a desaparecer. Quando o pH atinge valores inferiores a 5,0 o *S. bovis* é inibido e se estabelece um predomínio de *Lactobacillus* spp., que são ácido tolerantes e produzem excessiva quantidade de lactato (HERNÁNDEZ *et al.*, 2014; NAGARAJA; LECHTENBERG, 2007a; SNYDER; CREDILLE, 2017).



A acidose ruminal pode ser classificada em acidose aguda e acidose subaguda. Na forma aguda o pH ruminal atinge valores  $\leq 5,0$ , desencadeando acidose sistêmica e manifestações clínicas. Essa diminuição do pH resulta principalmente do acúmulo de lactato, pelo aumento da produção e redução da fermentação deste ácido, em virtude das alterações na microbiota ruminal. Na acidose subaguda o pH ruminal reduz, permanecendo entre 5,5 e 5,0, por períodos prolongados ao longo do dia, o que causa desequilíbrio temporário no metabolismo ruminal, porém a intensidade não é suficiente para causar manifestações clínicas imediatas. Neste caso o declínio no pH deve-se ao acúmulo de AGV e embora o lactato seja produzido, este não se acumula porque as bactérias utilizadoras encontram-se ativas e metabolizam-no a AGV (JARAMILLO-LÓPEZ *et al.*, 2017; KRAUSE; OETZEL, 2006; NAGARAJA; LECHTENBERG, 2007a).

Dois isômeros de lactato são produzidos pela microbiota ruminal – L(-) e D(+), que embora tenham propriedades físicas e químicas semelhantes, possuem diferença marcante em seus metabolismos. O L-lactato é idêntico àquele produzido pelo metabolismo celular de mamíferos e pode ser facilmente metabolizado no fígado, rim e tecido cardíaco. Em contraste, o D-lactato, que correspondente a 30-38% do lactato ruminal total, é produzido apenas pelo metabolismo bacteriano e não consegue ser metabolizado pelos mamíferos de forma tão eficiente quanto o L-lactato. Outra diferença importante é que embora ambos os isômeros compartilhem a mesma zona de excreção renal, a capacidade de excreção é maior para o L-lactato. No entanto, quando a concentração sérica de D-lactato é elevada, sua taxa de excreção aumenta em detrimento do L-lactato. Uma parte do lactato é tamponada pelos tampões ruminais e outra é absorvida pelo rúmen e trato intestinal. A absorção excessiva de D-lactato para a circulação sanguínea provoca acidemia e alterações nos mecanismos fisiológicos capazes de manter o equilíbrio ácido-base, resultando em acidose metabólica (JARAMILLO-LÓPEZ *et al.*, 2017; OWENS *et al.*, 1998; SNYDER; CREDILLE, 2017).

O acúmulo do lactato no rúmen aumenta substancialmente a osmolaridade do líquido ruminal e quando este se torna hipertônico ao plasma, há sequestro de líquido do sistema circulatório para o interior do rúmen, causando diarreia, desidratação sistêmica, hipovolemia e redução da perfusão tecidual. Como consequência pode ocorrer redução da perfusão renal e metabolismo celular anaeróbico nos tecidos periféricos, o que contribui para acidose metabólica (OWENS *et al.*, 1998; SNYDER; CREDILLE, 2017).

A acidez do conteúdo e o grande aumento da osmolaridade são potencialmente nocivos à mucosa ruminal, provocando ruminite química, com alterações funcionais e estruturais no

epitélio. Na acidose aguda, as papilas ruminais apresentam extensa descamação do estrato córneo, comprometimento da adesão celular e grandes fendas surgem entre as células ao longo dos estratos epiteliais (STEELE *et al.*, 2009). Essas mudanças aumentam a suscetibilidade do animal à infecção, alteram o metabolismo e a absorção ruminal de nutrientes, uma vez que a barreira ruminal é responsável por manter o gradiente de concentração necessário à absorção de íons, além de prevenir a translocação de bactérias, endotoxinas e outras toxinas presentes no rúmen para a circulação sistêmica (JARAMILLO-LÓPEZ *et al.*, 2017). Fungos ácido tolerantes colonizam a mucosa danificada desenvolvendo ruminite/omasite micótica. Bactérias também colonizam a mucosa ruminal e invadem a corrente sanguínea, chegando ao fígado através do sistema porta-hepático e desencadeando a formação abscessos hepáticos, destacando-se neste contexto a bactéria *Fusobacterium necrophorum* (NAGARAJA; LECHTENBERG, 2007b; SNYDER; CREDILLE, 2017).

Compostos nocivos produzidos durante acidose são facilmente absorvidos pela mucosa ruminal danificada, como histamina e endotoxinas, liberadas pela lise das bactérias Gram-negativas (MEYER; BRYANT, 2017). Estes produtos, em associação com a lesão do epitélio, podem afetar a motilidade ruminal e contribuir para outras manifestações sistêmicas associadas à enfermidade, como endotoxemia, laminite, polioencefalomalácia e morte (NAGARAJA; LECHTENBERG, 2007a; SNYDER; CREDILLE, 2017).

### **3.1.2 Diagnóstico**

O diagnóstico da acidose ruminal aguda é baseado no histórico de consumo de alimentos incriminados na sua patogênese, nos sinais clínicos e testes diagnósticos auxiliares, particularmente a análise do fluido ruminal (SNYDER; CREDILLE, 2017).

As manifestações variam em virtude da quantidade de carboidratos ingeridos, da evolução da doença, da susceptibilidade individual e da quantidade de D-lactato gerado no rúmen. De maneira geral observa-se apatia, depressão, inapetência a anorexia, desidratação grave, congestão de mucosas, taquicardia, taquipneia. A temperatura retal aumenta nos estágios iniciais da doença, mas com a progressão clínica, frequentemente se observa hipotermia. O abdômen pode estar distendido por acúmulo de líquido no rúmen e timpania, os movimentos ruminais podem ser reduzidos a ausentes e observa-se perda da estratificação ruminal. As fezes mostram-se diarreicas de coloração clara, odor fétido e podem conter grãos não digeridos. Aumento de temperatura e sensibilidade nos cascos, alternância dos membros e eventual claudicação, caracterizam um processo de laminite que pode estar presente. Os animais podem

apresentar sinais neurológicos, como depressão, ataxia, incoordenação, cegueira e opistótono. Estes sinais podem ser promovidos pelo déficit de tiamina e, principalmente, por efeito direto do D-lactato, que ultrapassa a barreira hematoencefálica e se acumula no líquido cefalorraquidiano. Nos casos superagudos, os animais podem permanecer em decúbito, em estado comatoso e vir a óbito devido ao severo comprometimento sistêmico (HERNÁNDEZ *et al.*, 2014; MIRANDA NETO *et al.*, 2005; ORTOLANI; MARUTA; MINERVINO, 2010; SNYDER; CREDILLE, 2017; VIEIRA *et al.*, 2006).

Animais com acidose ruminal aguda apresentam alterações nas características do fluido ruminal, tais como redução do pH para valores inferiores a 5,0, a coloração torna-se leitosa, o odor ácido e a consistência aquosa. Do ponto de vista microbiológico, há um predomínio das bactérias Gram-positivas e os protozoários encontram-se reduzidos em número e atividade, podendo haver completa defaunação quando o pH atinge valores críticos. O tempo da prova de redução do azul de metileno (PRAM) encontra-se inicialmente reduzido, pelo aumento do potencial redox, no entanto com a progressão da doença a inativação da microbiota causa elevação deste tempo (DIRKSEN, 1993; HERNÁNDEZ *et al.*, 2014; MIRANDA NETO *et al.*, 2005).

Os achados hematológicos são inespecíficos e refletem os processos inflamatórios e consequências secundárias associadas à enfermidade. O hemograma frequentemente revela hemoconcentração, hiperfibrinogenemia, leucocitose por neutrofilia com desvio à esquerda e inversão da relação neutrófilos:linfócitos (ALMEIDA *et al.*, 2008). Perfis bioquímicos séricos e plasmáticos, hemogasometria e urinálise também podem ser usados na confirmação diagnóstica e determinação do prognóstico em animais acometidos (SNYDER; CREDILLE, 2017).

A realização de necropsia dos animais que vierem óbito é fundamental para a definição do diagnóstico e implantação de medidas terapêuticas e preventivas. No exame *post mortem* é possível observar congestão de mucosas; desidratação grave; grande quantidade de líquido no trato gastrointestinal; ruminite difusa e severa, mucosa ruminal friável, facilmente destacável e de coloração enegrecida; conteúdo ruminal com odor azedo, baixo pH (<5,0) e grande quantidade de grãos não digeridos (MEYER; BRYANT, 2017).

### **3.1.3 Prevenção**

O diagnóstico da acidose ruminal permite a adoção de medidas terapêuticas apropriadas, no entanto, devido aos prejuízos atrelados a enfermidade, o mais racional é prevenir a sua

ocorrência. A prevenção da acidose ruminal inclui medidas, como o aumento do fornecimento de fibras na dieta, o processamento adequado dos grãos, o fornecimento gradativo e limitação da quantidade de carboidratos não estruturais na ração. Estas medidas reduzem a manifestação da acidose, mas podem comprometer a eficiência produtiva e econômica da atividade. Aditivos alimentares podem reduzir a gravidade e a ocorrência da doença quando usados adequadamente, destacando-se os tamponantes e alguns antibióticos, como os ionóforos (AFONSO *et al.*, 2000; OWENS *et al.*, 1998).

Os ionóforos tais como a monensina sódica vêm sendo utilizados na dieta de ruminantes visando o controle deste distúrbio fermentativo e sua eficiência na prevenção da acidose ruminal tem sido amplamente estudada em pequenos ruminantes, por meio de observações clínicas e laboratoriais (AFONSO *et al.*, 2005; CÂMARA *et al.*, 2013; MIRANDA NETO *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2013; VIEIRA *et al.*, 2012). Esses antibióticos selecionam bactérias Gram-negativas e inibem seletivamente o crescimento das Gram-positivas, como *S. bovis* e *Lactobacillus* spp., principais produtoras de lactato no rúmen (AFONSO *et al.*, 2000; RANGEL *et al.*, 2008). Pesquisadores demonstraram ainda, que a monensina é capaz de modular a dinâmica alimentar, aumentando a frequência das refeições e reduzindo a variação diária no consumo de alimento (ERICKSON *et al.*, 2003; STOCK *et al.*, 1995). Como resultado das mudanças na população bacteriana e no padrão de consumo alimentar, a monensina pode elevar o pH ruminal, reduzindo a ocorrência da enfermidade (MEYER; BRYANT, 2017).

## 3.2 BIOQUÍMICA CLÍNICA

### 3.2.1 Biomarcadores Cardíacos

Os biomarcadores são parâmetros biológicos que podem ser mensurados objetivamente e avaliados como indicadores de processos biológicos normais, processos patogênicos ou respostas a uma intervenção terapêutica. Usados no diagnóstico e monitoramento, fornecem informações sobre exposição às doenças, extensão das lesões e prognóstico (BOSWOOD, 2004; SINGH *et al.*, 2010). A identificação de biomarcadores confiáveis no auxílio diagnóstico das enfermidades em animais de produção constitui ferramenta essencial para a vigilância da saúde dos rebanhos, podendo tornar-se componentes úteis em um programa de sanidade (MACEDO *et al.*, 2016).

Os biomarcadores cardíacos são componentes celulares liberados na circulação sanguínea quando ocorre lesão miocárdica. Esses desempenham um papel fundamental no

diagnóstico de pacientes com doenças cardíacas possibilitando o estabelecimento de terapia e prognóstico, com maior acurácia e em menor tempo (ANTMAN, 2002; SINGH *et al.*, 2010). O marcador cardíaco ideal possui características como: alta sensibilidade, alta especificidade, fácil mensuração, baixo custo e boa janela diagnóstica. Ao longo de várias décadas, uma ampla gama de biomarcadores cardíacos circulantes foi descoberta e avaliada, entretanto, nenhum conseguiu atender todos esses critérios (YONEZAWA *et al.*, 2010).

Em medicina veterinária, os biomarcadores cardíacos têm sido estudados nas diferentes espécies visando monitorar a integridade dos cardiomiócitos, quantificar a extensão da lesão miocárdica e estimar o prognóstico em distúrbios cardíacos primários e doenças críticas de origem não-cardíaca (RADCLIFFE *et al.*, 2015).

#### 3.2.1.1 Creatina Quinase (CK)

A creatina quinase (CK) catalisa a troca de uma porção fosfato entre o ATP e o fosfato de creatina. Essa reação permite o armazenamento de energia como fosfato de creatina, quando a demanda de energia nas células musculoesqueléticas e miocárdicas é baixa. Quando esta demanda aumenta, a CK catalisa a transferência do fosfato de alta energia do fosfato de creatina para o ADP formando ATP, necessário para a contração muscular. A CK está localizada principalmente nos músculos esqueléticos, seguido por miocárdio e cérebro, menores atividades são encontradas na musculatura lisa do trato gastrointestinal, útero, bexiga e outros órgãos (AKTAS *et al.*, 1993; HOFFMANN; SOLTER, 2008; VALBERG, 2008).

Sua estrutura dimérica é constituída por duas subunidades, M (muscular) e B (cerebral), que se combinam formando três isoenzimas: CK-MM, CK-MB e CK-BB. Uma quarta forma CK-Mt presente na membrana mitocondrial foi descrita, esta representa uma pequena porcentagem da atividade total de CK (VALBERG, 2008). A atividade de CK-BB é predominante no cérebro e sistema digestório; CK-MB predomina no miocárdio, mas também está presente em outros órgãos como rins, intestinos e pulmões; e CK-MM predomina nos músculos estriados esqueléticos e cardíacos (AKTAS *et al.*, 1993; YONEZAWA *et al.*, 2010).

A CK é uma enzima músculo-específica, usada como marcador de lesão muscular esquelética associada a trauma, miopatias nutricionais ou congênitas e induzida por exercício (HOFFMANN; SOLTER, 2008). A meia-vida da atividade da CK no sangue é relativamente curta, sendo de 2 a 3h em cães e 2 a 4h em bovinos e ovinos. Os valores retornam aos níveis basais em aproximadamente três dias, a menos que a miodegeneração continue, sendo útil para

monitoramento da lesão em curso e avaliação da resposta terapêutica (AKTAS *et al.*, 1993; CONSTABLE *et al.*, 2017).

#### 3.2.1.1.1 Isoenzima MB da Creatina Quinase (CK-MB)

A avaliação da CK é extremamente sensível como indicador de doença musculoesquelética, mas não é específica para lesão miocárdica. Neste sentido, a isoenzima CK-MB, cuja atividade é predominante no músculo cardíaco, tem sido utilizada no diagnóstico e monitoramento do infarto agudo do miocárdio em humanos (SINGH *et al.*, 2010; WELSH; KUKES; SANDWEISS, 2002), no qual as concentrações de CK-MB aumentam 4 a 6 horas após a ocorrência da lesão cardíaca, atingindo pico entre em 10 e 24 horas e retornando aos níveis basais com 48 a 72 horas (SINGH *et al.*, 2011).

Embora a análise de CK-MB ainda seja de grande importância na medicina humana, já é conhecido que esta enzima não é cardíco-específica, uma vez que também é encontrada no músculo esquelético lesionado e cronicamente exercitado em concentrações similares as do músculo cardíaco, logo a elevação da sua atividade deve ser avaliada com cautela e em associação com outras informações (APPLE, 1999).

A mensuração da CK-MB pode ser feita por sua atividade sérica, através de testes bioquímicos, e por sua concentração total (CK-MB massa), por teste imunométricos. O teste de CK-MB massa apresenta melhor sensibilidade, uma vez que detecta a concentração total de CK-MB, independentemente de sua atividade (AKTAS *et al.*, 1993; YONEZAWA *et al.*, 2010). Atualmente, na medicina humana, utiliza-se um índice relativo de CK: (CK-MB massa/CK total) x 100, para auxiliar na diferenciação de elevações falso-positivas de CK-MB. Razão <3 indica fonte musculoesquelética; razão maior >5 indica fonte miocárdica; e razões intermediárias são de difícil definição. Este índice aumenta a especificidade da elevação de CK-MB para lesão miocárdica e tem relevância clínica apenas quando CK e CK-MB massa estão elevadas. Determinações seriadas devem ser realizadas para identificar aumento destas enzimas e estabelecer um diagnóstico definitivo (SINGH *et al.*, 2011).

A relevância clínica da utilização de CK-MB em medicina veterinária foi estudada em algumas espécies. Fredericks *et al.* (2001) observaram pouca variação entre o conteúdo de CK-MB do músculo esquelético e do músculo cardíaco em animais de laboratório. Para estes autores CK-MB é um pobre marcador de lesão miocárdica em cães, sendo menos específica do que as troponinas cardíacas nessa espécie. No equino, Argiroudis; Kent; Blackmore (1982) constataram que apenas 1,5% da atividade total da CK no músculo cardíaco foram atribuídos à

CK-MB. Portanto, sua determinação em animais também merece cautela, devido esta variação interespecífica na proporção de CK-MB nos músculos estriados.

O aumento da atividade sérica da CK-MB foi relatado e associado com lesão miocárdica em cães com infarto agudo do miocárdio induzido (CUMMINS; AUCKLAND; CUMMINS, 1987) e cetoacidose diabética (SURACHETPONG; VICHIT; HUNPRASIT, 2016); em equinos submetidos a exercício de baixa intensidade (YONEZAWA *et al.*, 2014); em ovinos com endotoxemia experimental (CHALMEH *et al.*, 2013) e babesiose (ORUNÇ KILINÇ *et al.*, 2015); em bovinos com deslocamento de abomaso à direita (MADEN *et al.*, 2012), hipocalcemia (BAŞBUĞAN; YÜKSEK; ALTUĞ, 2015), teileriose (KILINC *et al.*, 2018), cetose clínica (SOARES *et al.*, 2019) e bezerros com febre aftosa (TUNCA *et al.*, 2008), síndrome do desconforto respiratório (AYDOĞDU *et al.*, 2016) e atresia intestinal (COŞKUN *et al.*, 2017).

Por outro lado, CK-MB não se mostrou um bom marcador de lesão cardíaca, quando comparado à troponinas cardíacas, em estudos com bezerros acometidos por endotoxemia experimental (PEEK *et al.*, 2008) e doenças respiratórias (BASAK *et al.*, 2015), em cabras com parto eutócico, distócico e toxemia da prenhez (THARWAT; AL-SOBAYIL; AL-SOBAYIL, 2012) e ovelhas com toxemia da prenhez (SOUZA *et al.*, 2019).

Devido à baixa especificidade e sensibilidade de CK-MB houve a necessidade de identificar outros biomarcadores cardíacos, principalmente na presença de lesão musculoesquelética (GODOY; BRAILE; PURINI NETO, 1998). Visando superar essas limitações, as troponinas cardíacas têm se destacado no diagnóstico não invasivo de lesão miocárdica em humanos e animais (O'BRIEN *et al.*, 2006, 1997; WELSH; KUKES; SANDWEISS, 2002). Na medicina humana, existe um consenso de que essas troponinas são os melhores marcadores para o diagnóstico definitivo de dano miocárdico e substituirá a CK-MB neste contexto. No entanto, para Collinson (2000) o ideal seria continuar utilizando um biomarcador de janela curta de tempo, como a CK-MB, combinado com uma troponina cardíaca. Isto permitiria diagnosticar a ocorrência do infarto, assim como avaliar a reperfusão tecidual e a presença de reinfartos.

### 3.2.1.2 Troponinas Cardíacas

As proteínas tropomiosina e troponina controlam as interações mediadas por cálcio entre a actina e a miosina nos músculos estriados cardíacos e esqueléticos, desempenhando papel crucial na contração muscular. A tropomiosina, uma proteína fibrosa, está disposta ao longo do

comprimento dos filamentos finos, nos sulcos entre dois filamentos de F-actina. A troponina é um complexo proteico, composto por três subunidades (C, T e I). Quando as concentrações sarcoplasmáticas de cálcio são baixas, as moléculas de tropomiosina bloqueiam os sítios de ligação da miosina na actina, impedindo sua interação. Em concentrações elevadas, os íons cálcio se ligam a troponina C, induzindo uma alteração conformacional na troponina I, o que resulta no movimento da tropomiosina e liberação dos locais de ligação da miosina à actina. A exposição do sítio de ligação permite a interação entre actina e miosina, iniciando mudanças cíclicas que resultam na contração muscular. Quando as concentrações de cálcio reduzem, este processo é revertido e a interação entre actina e miosina é inibida novamente (KATRUKHA, 2013; VALBERG, 2008).

A troponina C (troponina com afinidade pelo cálcio) possui duas isoformas codificadas por dois genes: uma expressa no músculo esquelético de contração rápida e outra expressa tanto no músculo esquelético de contração lenta e como no miocárdio. Existe estreita homologia entre essas isoformas, portanto a troponina C não é cardiospecífica, não sendo usada no diagnóstico de lesão cardíaca (ADAMCOVA *et al.*, 2016; MARÍN-GARCÍA, 2014).

A troponina T (troponina ligada a tropomiosina) e a troponina I (troponina com ação inibitória) possuem isoformas expressas no músculo esquelético de contração lenta, no músculo esquelético de contração rápida e no músculo cardíaco. As três isoformas têm estruturas únicas, codificadas por genes diferentes e podem ser distinguidas imunologicamente por testes laboratoriais (ADAMCOVA *et al.*, 2016). Essas proteínas possuem homologia >95% entre mamíferos, o que permite que os ensaios desenvolvidos para humanos sejam utilizados em outras espécies (ARCHER, 2003).

As isoformas cardíacas das troponinas T (cTnT) e I (cTnI) preenchem muitos dos critérios para um biomarcador cardíaco ideal. Suas concentrações séricas são extremamente baixas ou indetectáveis em indivíduos saudáveis. A maior parte de cTnT e cTnI está ligada aos miofilamentos cardíacos e uma pequena quantidade encontra-se livre no citosol. Quando ocorre dano miocárdico, ambas as troponinas são liberadas na circulação, inicialmente ocorre liberação do pool citosólico, seguido por uma liberação mais prolongada das reservas ligadas às proteínas estruturais (ANTMAN, 2002; ARCHER, 2003; SERRA *et al.*, 2010; UNDHAD *et al.*, 2012).

A meia-vida das troponinas cardíacas é relativamente curta (cTnT: 120 minutos; cTnI: 90 minutos) e a elevação das concentrações séricas indica a presença de injúria miocárdica em curso ou recente. Uma vez que a concentração dessas troponinas reflete a gravidade do dano



miocárdico, sua mensuração seriada pode ser útil no monitoramento da progressão da lesão (ADAMCOVA *et al.*, 2016).

A alta especificidade e a sensibilidade dos métodos de mensuração das troponinas cardíacas levaram à inclusão desses biomarcadores como critérios de definição de infarto do miocárdio, principal causa de isquemia e necrose miocárdica em humanos, substituindo os biomarcadores cardíacos tradicionalmente utilizados, como mioglobina, lactato desidrogenase, CK e CK-MB (KATRUKHA, 2013; MARÍN-GARCÍA, 2014; UNDHAD *et al.*, 2012). As troponinas cTnT e cTnI também foram validadas com biomarcadores para a detecção sensível e específica de lesões cardíacas decorrentes de várias causas em diferentes espécies animais (O'BRIEN *et al.*, 2006).

Sempre foi aceito que a elevação das concentrações séricas das troponinas cardíacas ocorria apenas na presença de necrose celular, entretanto várias situações clínicas e fisiológicas têm sugerido que a liberação de troponinas pode ocorrer também na isquemia, na ausência de necrose (LAZZERI *et al.*, 2008). Os mecanismos potencialmente envolvidos na elevação das troponinas cardíacas incluem: necrose miocitária, apoptose, renovação celular fisiológica dos miócitos, liberação celular de produtos de degradação proteolítica das troponinas, aumento na permeabilidade da membrana plasmática e formação e liberação de vesículas de secreção contendo troponinas (WHITE, 2011).

#### 3.2.1.2.1 Troponina Cardíaca I (cTnI)

O aumento da cTnI sérica não determina a etiologia ou patogênese da doença, mas mostra-se eficaz na detecção, monitoramento e quantificação da lesão cardíaca em curso. Como marcador cardíaco, cTnI não é útil apenas nas doenças cardíacas primárias, mas também para outras doenças críticas que não envolvem primariamente o sistema cardiovascular (RADCLIFFE *et al.*, 2015; SERRA *et al.*, 2010).

Em humanos o aumento da cTnI em pacientes críticos não-cardíacos foi considerado fator de risco para falência múltipla de órgãos e mortalidade (ALATASSI *et al.*, 2018; REYNOLDS *et al.*, 2012; WU *et al.*, 2004). Para Lazzeri *et al.* (2008) a elevação da cTnI em tais doenças deve-se a isquemia por demanda, isquemia miocárdica secundária a desequilíbrio do sistema nervoso autônomo, dano direto ao miocárdio por trauma ou inflamação, tensão miocárdica excessiva e outras causas ainda desconhecidas.

Em cães, cTnI mostrou-se útil na avaliação da gravidade, resposta terapêutica e prognóstico de doenças cardíacas (FONFARA *et al.*, 2010; OYAMA; SISSON, 2004). A

elevação de cTnI nesta espécie correlacionou-se com sobrevivência também em outras enfermidades que causam lesão cardíaca secundária, como síndrome da dilatação vólculo gástrica (SCHOBER *et al.*, 2002), babesiose (LOBETTI; DVIR; PEARSON, 2002), cetoacidose diabética (SURACHETPONG; VICHIT; HUNPRASIT, 2016) e insolação (VARSHNEY, 2017). Altas concentrações de cTnI em equinos com cólica foram sugestivas de dano miocárdico e indicaram prognóstico menos favorável aos animais submetidos a cirurgia abdominal de emergência (DÍAZ *et al.*, 2014; RADCLIFFE *et al.*, 2012).

A cTnI vem se tornando alvo de pesquisas também em ruminantes e o aumento de seus níveis e relação com gravidade foi descrito em bovinos com pericardite (MELLANBY *et al.*, 2007, 2009), miocardite (KARAPINAR *et al.*, 2010), endocardite (BUCZINSKI; BÉLANGER, 2010), doenças cardíacas congênitas (SUZUKI *et al.*, 2012) e doenças de origem não-cardíaca, como febre aftosa (TUNCA *et al.*, 2008), intoxicação por monensina (VARGA *et al.*, 2009), deslocamento de abomaso (MADEN *et al.*, 2012), hipocalcemia (BAŞBUĞAN; YÜKSEK; ALTUĞ, 2015), pneumonias (ANDERSON *et al.*, 2017; BASAK *et al.*, 2015), teileriose (FARTASHVAND *et al.*, 2013; KILINC *et al.*, 2018), síndrome do desconforto respiratório em neonatos (AYDOGDU *et al.*, 2016), atresia intestinal (COŞKUN *et al.*, 2017) e cetose clínica (SOARES *et al.*, 2019). Varga *et al.* (2013) demonstraram que a concentração de cTnI pode ser aumentada em vacas com doenças não-cardíacas e que a magnitude dessa elevação associou-se à morte ou abate desses animais. Em caprinos e ovinos cTnI mostrou-se elevada em animais acometidos por toxemia da prenhez (THARWAT; AL-SOBAYIL; AL-SOBAYIL, 2012; SOUZA *et al.*, 2019), deficiência de selênio (ATAOLLAHI; MOHRI; SEIFI, 2013; FAKOUR; ALIMOHAMMADZADEH; VAZIRY, 2017), intoxicação por salinomicina (HAJIMOHAMMADI *et al.*, 2014); febre aftosa (ASLANI; MOHRI; MOVASSAGHI, 2013), endotoxemia (CHALMEH *et al.*, 2014), babesiose (ORUNÇ KILINÇ *et al.*, 2015) e ataxia enzoótica (EL-BAHR; EL-DEEB, 2017).

### 3.2.1.3 Biomarcadores Cardíacos e Acidose Láctica Ruminal

A relação entre lesão cardíaca e acidose ruminal vem sendo estudada por diferentes autores que buscam associar as complicações secundárias desta enfermidade à algum grau de lesão cardiovascular. As possíveis razões para ocorrência de dano cardíaco na acidose ruminal incluem: acidose metabólica; desidratação grave; estresse oxidativo, com produção excessiva de espécies reativas do oxigênio; endotoxemia; aumento da síntese e liberação de citocinas inflamatórias; e endocardite decorrente de abscessos hepáticos (CHALMEH *et al.*, 2014;

FARTASHVAND; HAJI-SADEGHI, 2017; JOSHI *et al.*, 2017; KATRUKHA, 2013; KIRBAS *et al.*, 2014a, 2014b; NAGARAJA; LECHTENBERG, 2007b).

Dshurov (1976) constatou o desenvolvimento de miocardite focal e Jafari-Dehkordi; Haji-Hajikolaei; Karimi-Dehkordi (2011) identificaram alterações significativas no eletrocardiograma em ovinos com ALR. Kirbas *et al.* (2014a) e Fartashvand; Haji-Sadeghi (2017) reportaram elevação de cTnI e CK-MB em ovinos acometidos por essa enfermidade, quando comparados a animais saudáveis. Joshi *et al.* (2017) também observaram elevação de CK-MB em caprinos com ALR, sugerindo algum grau de injúria miocárdica nestes animais. No estudo de Fartashvand; Haji-Sadeghi (2017) os animais que atingiram valores mais críticos de pH ruminal (3 casos <4,5) apresentaram as maiores concentrações séricas de cTnI e todos vieram a óbito dentro de quatro a seis horas, demonstrando a importante relação desse biomarcador com o prognóstico na acidose ruminal.

Uma vez que a causa do dano miocárdico associado à ALR, assim como a relação da sua gravidade com prognóstico da doença, não estão completamente elucidados, estudos adicionais são necessários e o acompanhamento em longo prazo das concentrações séricas dos biomarcadores cardíacos pode ser útil neste sentido.

### 3.2.2 L-Lactato

O lactato plasmático pode ser mensurado em duas formas: D-lactato e L-lactato. O L-Lactato pode ser produzido por células de mamíferos, durante o metabolismo anaeróbio, e por fermentação bacteriana. Em contraste, o D-Lactato é subproduto apenas do metabolismo bacteriano da glicose (CONSTABLE *et al.*, 2017).

O D-lactato se acumula no sangue ou no líquido peritoneal, como consequência a infecção bacteriana desses compartimentos anatômicos e/ou produção excessiva por bactérias gastrintestinais, e é absorvido para a circulação sanguínea pela mucosa dos órgãos ou por ruptura de vísceras (SHARKEY; WELLMAN, 2015; YAMOUT *et al.*, 2011). O L-lactato por sua vez, se acumula quando há aumento da produção ou diminuição da sua metabolização pelo fígado e rins. A principal causa para o aumento das concentrações de L-lactato no sangue e outros fluidos corporais é a hipóxia tecidual secundária à desidratação grave, choque, endotoxemia ou combinação dessas condições. Situações fisiológicas com aumento do metabolismo anaeróbio podem causar hiperlactatemia, como tremores, exercício ou atividade muscular excessiva. (ALLEN; HOLM, 2008; RADCLIFFE *et al.*, 2015). Para Bakker; Nijsten;

Jansen (2013) o aumento dos níveis de lactato também podem ocorrer em pacientes críticos e processos metabólicos não relacionados à hipóxia tecidual.

O lactato plasmático total, incluindo D-lactato e L-lactato, pode ser mensurado por cromatografia gasosa e espectrometria de massa, enquanto os analisadores bioquímicos ou portáteis disponíveis comercialmente mensuram apenas L-lactato, sendo este o isômero utilizado na rotina clínica e em grande parte das pesquisas (ALLEN; HOLM, 2008; BAKKER; NIJSTEN; JANSEN, 2013; FIGUEIREDO *et al.*, 2006).

Quando a concentração sanguínea de lactato eleva-se acima do normal é denominada hiperlactatemia e quando isto ocorre simultaneamente a diminuição no pH sanguíneo a valores inferiores a 7,35 define-se como acidose láctica (ALLEN; HOLM, 2008; RADCLIFFE *et al.*, 2015). A concentração plasmática de L-lactato em animais de grande porte saudáveis é geralmente inferior a 1,5 mmol/L e valores acima de 10 mmol/L estão associados à alta mortalidade (CONSTABLE *et al.*, 2017).

Muitos estudos demonstraram que a hiperlactatemia está associada à gravidade da doença, tornando o L-lactato uma valiosa ferramenta para a tomada de decisão em pacientes críticos, visando direcionar estratégias diagnósticas e terapêuticas, assim como fornecer prognóstico (ALLEN; HOLM, 2008; RADCLIFFE *et al.*, 2015).

Na acidose ruminal a digestão dos carboidratos não estruturais produz quantidade significativa de ácido láctico, o qual se dissocia em lactato e íons  $H^+$ , que são absorvidos para a corrente sanguínea. O ácido láctico pode ser transportado para fora do rúmen por absorção direta através da parede ruminal ou passagem com o fluido ruminal para o abomaso e intestino delgado, onde é absorvido pela mucosa desses órgãos (MØLLER *et al.*, 1997). Elevação das concentrações sanguíneas de L-lactato foi reportada em estudos com acidose ruminal aguda experimental em pequenos ruminantes (AFONSO *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2013; VIEIRA *et al.*, 2012). Esses autores associaram a hiperlactatemia à elevação da concentração e absorção desse ácido no rúmen em consequência ao desequilíbrio entre síntese e utilização pela microbiota ruminal.

O L-lactato sanguíneo é um marcador de estratificação de risco e mortalidade em humanos cardiopatas (KAWASE *et al.*, 2015; LAZZERI *et al.*, 2012). Radcliffe *et al.* (2012) descreveram elevação de L-lactato e cTnI em equinos com cólica submetidos à cirurgia abdominal de emergência, ambos foram mais elevados naqueles animais que não sobreviveram ao tratamento cirúrgico. Fartashvand; Haji-Sadeghi (2017) encontraram hiperlactatemia e forte correlação negativa ( $r=-0,85$ ;  $p=0,004$ ) entre o pH ruminal e os níveis séricos de L-lactato,

assim como elevação de CK-MB e cTnI em ovelhas com acidose ruminal aguda. Mais estudos são necessários para elucidar essa relação entre L-lactato, biomarcadores cardíacos séricos e lesão miocárdica em ruminantes.

### 3.2.3 Cortisol

O cortisol é o principal glicocorticoide produzido e secretado pela zona fasciculada do córtex da adrenal. Este hormônio é sintetizado a partir do colesterol sob o controle do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e regula importantes funções cardiovasculares, metabólicas, imunológicas e homeostáticas, estando envolvido no metabolismo dos carboidratos, proteínas e lipídeos e na resposta ao estresse (LEE; KIM; CHOI, 2015; MEIJ; MOL, 2008).

O estresse é uma reação do corpo a um desafio e pode ativar o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, aumentando os níveis séricos de corticosteroides. Durante o estresse, a secreção do cortisol estimula a gliconeogênese, elevando a glicemia. Este hormônio estimula a lipólise e a degradação de proteínas musculares, aumentando os níveis de ácidos graxos e aminoácidos no sangue, que atuam como precursores gliconeogênicos. O cortisol também reduz a sensibilidade dos tecidos periféricos à insulina, diminuindo a utilização de glicose por esses tecidos, e potencializa a ação do glucagon e epinefrina no metabolismo da glicose. Em altas concentrações o cortisol também é imunossupressor, inibindo a produção de prostaglandinas e comprometendo a resposta e função leucocitária (GOFF, 2015). Esses mecanismos adaptativos visam garantir recursos para manutenção do organismo durante o período de estresse através de intensificação dos processos catabólicos (LEE; KIM; CHOI, 2015).

O cortisol tem sido usado como um indicador de estresse e dor em animais de produção. A elevação do cortisol sérico foi observada em caprinos e ovinos com acidose ruminal aguda e subaguda (AFONSO *et al.*, 2002; JIA *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2013), sugerindo que estes animais experimentaram um estado de estresse durante a enfermidade. Em novilhas com laminite, conseqüente à acidose ruminal induzida, constatou-se elevação do cortisol e para os autores este aumento deve-se ao estresse relacionado à condição dolorosa e resposta inflamatória associadas a enfermidade (BUSTAMANTE *et al.*, 2015; SEESUPA; WACHIRAPAKORN; AIUMLAMAI, 2017).

### 3.2.4 Hemogasometria

O equilíbrio de líquidos e eletrólitos, bem como a manutenção do pH dos fluidos corpóreos, são essenciais para que os processos fisiológicos e bioquímicos vitais ocorram

normalmente. A hemogasometria permite caracterizar e avaliar a intensidade dos distúrbios hidroeletrólíticos e acidobásicos através da mensuração de variáveis sanguíneas como: pH, pressão parcial de oxigênio ( $pO_2$ ), pressão parcial de dióxido de carbono ( $pCO_2$ ), dióxido de carbono total ( $tCO_2$ ), concentração de bicarbonato ( $HCO_3^-$ ), déficit/excesso de base (BE), saturação de oxigênio ( $sO_2$ ) e diferentes eletrólitos (CARLSON; BRUSS, 2008; REECE, 2015).

A manutenção do equilíbrio acidobásico ocorre pela regulação da concentração de íons  $H^+$  nos líquidos corporais, através de mecanismos de compensação que efetuam correções dos possíveis desvios deste íon (REECE, 2015). Durante os processos patológicos, os tampões químicos, os pulmões e os rins atuam no sentido de manter a homeostase e o pH sanguíneo dentro de limites aceitáveis (7,35 a 7,45). No entanto, se isto não for alcançado, podem ocorrer alterações no pH, colocando em risco a vida do animal (CONSTABLE *et al.*, 2017; KLEIN, 2014).

A acidose láctica ruminal geralmente cursa com acidose metabólica, devido a absorção para a corrente sanguínea do ácido láctico produzido no rúmen, durante a fermentação dos carboidratos não estruturais (HERNÁNDEZ *et al.*, 2014). A desidratação severa e conseqüentemente a redução da perfusão tecidual também podem contribuir para a elevação do lactato e a ocorrência de acidose metabólica nestes casos (OWENS *et al.*, 1998).

Estudos experimentais sobre ALR constataram a ocorrência de acidose metabólica, caracterizada por redução do pH e do bicarbonato sanguíneo, e estas alterações foram concomitantes à elevação do lactato no rúmen e sangue dos animais acometidos (AFONSO *et al.*, 2005; MARUTA; ORTOLANI, 2002; NIKOLOV, 1998; REIS *et al.*, 2018).

Outros autores reportaram que a acidose metabólica decorrente da ALR, em pequenos ruminantes, foi precedida por um quadro transitório de alcalose metabólica (CAO *et al.*, 1987; HAJI HAJIKOLAEI *et al.*, 2006; SABES *et al.*, 2017). Este fato pode estar relacionado à metabolização do lactato em bicarbonato pelo fígado, nas primeiras horas após o início da enfermidade, elevando a concentração sanguínea de  $HCO_3^-$ . No entanto, quando a capacidade de metabolização hepática é exaurida, há acúmulo deste ácido no sangue e conseqüentemente redução do pH (DEHKORDI; DEHKORDI, 2011).

Para compensar a acidose metabólica, o ácido acumulado na corrente sanguínea é tamponado pelo  $HCO_3^-$ , produzindo  $CO_2$  e água. Se o pH permanecer reduzido, o íon  $H^+$  estimula o centro do controle respiratório, aumentando a ventilação alveolar e a eliminação de  $CO_2$  pelo pulmões e conseqüentemente reduzindo a  $pCO_2$  e restaurando o pH sanguíneo. Nos túbulos renais a compensação ocorre através da excreção de íons  $H^+$  em troca da restauração de

íons  $\text{HCO}_3^-$  para o sangue, garantindo a absorção de todo bicarbonato presente no filtrado glomerular (CARLSON; BRUSS, 2008; REECE, 2015). Assim, o exame hemogasométrico é de grande importância para o diagnóstico, monitoramento, determinação de prognóstico e conduta terapêutica nos casos de acidose ruminal.

## REFERÊNCIAS

- ADAMCOVA, M. *et al.* Cardiac troponins-Translational biomarkers in cardiology: Theory and practice of cardiac troponin high-sensitivity assays. **BioFactors**, v. 42, n. 2, p. 133–148, 2016.
- AFONSO, J. A. B. *et al.* Metabolismo oxidativo dos neutrófilos de ovinos tratados com monensina sódica e experimentalmente submetidos à acidose ruminal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, n. 4, p. 129–134, 2002.
- AFONSO, J. A. B. *et al.* Características e indicações clínicas dos ionóforos para ruminantes. **Revista CFMV**, v. 20, p. 29–36, 2000.
- AFONSO, J. A. B. *et al.* Avaliação do uso da monensina sódica na prevenção da acidose láctica ruminal experimental em ovinos. **Veterinária Notícias**, v. 11, n. 1, p. 35–43, 2005.
- AFONSO, J. A. B.; MENDONÇA, C. L. Acidose Láctica Ruminal. In: RIET-CORREA, F. *et al.* (Eds.). **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. Cap. 5, v. 2, p. 313–319.
- AKTAS, M. *et al.* Creatine kinase in the dog: A review. **Veterinary Research Communications**, v. 17, n. 5, p. 353–369, 1993.
- ALATASSI, A. *et al.* Association between troponin-I levels and outcome in critically ill patients admitted to non-cardiac intensive care unit with high prevalence of cardiovascular risk factors. **BMC Anesthesiology**, v. 18, n. 1, p. 1–11, 2018.
- ALLEN, S. E.; HOLM, J. L. Lactate: Physiology and clinical utility. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 18, n. 2, p. 123–132, 2008.
- ALMEIDA, M. Z. P. R. B. *et al.* Estudo clínico, hematológico e bioquímico em caprinos submetidos à acidose láctica ruminal induzida experimentalmente. **Veterinária e Zootecnia**, v. 15, n. 1, p. 100–113, 2008.
- ANDERSON, D. E. *et al.* Assessment of Blood Concentration of Cardiac Troponin I (cTnI) in Healthy Calves and Stocker Calves Effected with Bovine Respiratory Disease Complex. **Journal of Veterinary Science and Animal Husbandry**, v. 5, n. 2, 2017.
- ANTMAN, E. M. Decision Making with Cardiac Troponin Tests. **New England Journal of Medicine**, v. 346, n. 26, p. 2079–2082, 2002.
- APPLE, F. S. Tissue specificity of cardiac troponin I, cardiac troponin T and creatine kinase-MB. **Clinica Chimica Acta**, v. 284, n. 2, p. 151–159, 1999.
- ARCHER, J. Cardiac biomarkers: A review. **Comparative Clinical Pathology**, v. 12, n. 3, p. 121–128, 2003.
- ARGIROUDIS, S. A.; KENT, J. E.; BLACKMORE, D. J. Observations on the isoenzymes of creatine kinase in equine serum and tissues. **Equine Veterinary Journal**, v. 14, n. 4, p. 317–



321, 1982.

ASLANI, M. R.; MOHRI, M.; MOVASSAGHI, A. R. Serum troponin I as an indicator of myocarditis in lambs affected with foot and mouth disease. **Veterinary research forum : an international quarterly journal**, v. 4, n. 1, p. 59–62, 2013.

ATAOLLAHI, F.; MOHRI, M.; SEIFI, H. A. Diagnostic value of cardiac troponin i (cTnI), creatine kinase (CK), and aspartate amino transferase (AST) in selenium deficiency in lambs. **Revue de Medecine Veterinaire**, v. 164, n. 4, p. 207–211, 2013.

AYDOGDU, U. *et al.* Cardiac biomarkers in premature calves with respiratory distress syndrome. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 64, n. 1, p. 38–46, 2016.

BAKKER, J.; NIJSTEN, M. W. N.; JANSEN, T. C. Clinical use of lactate monitoring in critically ill patients. **Annals of Intensive Care**, v. 3, n. 1, p. 1–8, 2013.

BASAK, H. *et al.* Cardiac troponin-i concentration in weaned calves with bovine respiratory disease. **Acta Veterinaria**, v. 65, n. 4, p. 454–462, 2015.

BAŞBUĞAN, Y.; YÜKSEK, N.; ALTUĞ, N. Significance of homocysteine and cardiac markers in cattle with hypocalcemia. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 39, n. 6, p. 699–704, 2015.

BATISTA, N. L.; SOUZA, B. B. Caprinovincultura no semiárido brasileiro - fatores limitantes e ações de mitigação. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 11, n. 2, p. 01–09, 2015.

BOSWOOD, A. Editorial: The rise and fall of the cardiac biomarker. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 18, n. 6, p. 797–799, 2004.

BUCZINSKI, S.; BÉLANGER, A. M. Bovine tricuspid endocarditis as a cause of increased serum concentration of cardiac troponins. **Canadian Veterinary Journal**, v. 51, n. 2, p. 195–197, 2010.

BUSTAMANTE, H. A. *et al.* Stress and pain response after oligofructose induced-lameness in dairy heifers. **Journal of Veterinary Science**, v. 16, n. 4, p. 405, 2015.

CÂMARA, A. *et al.* Efeito da salinomicina na prevenção da acidose láctica ruminal experimental em ovinos. **Ciencia Animal Brasileira**, v. 14, n. 1, p. 65–73, 2013.

CAO, G. R. *et al.* Experimentally induced lactic acidosis in the goat. **Australian veterinary journal**, v. 64, n. 12, p. 367–370, 1987.

CARLSON, G. P.; BRUSS, M. Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Balance. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. (Eds.). **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Elsevier, 2008. Cap. 17, p. 529–559.

CHALMEH, A. *et al.* Correlations among cardiac biomarkers in sheep with experimentally induced endotoxaemia. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 16, n. 2, p. 123–132, 2013.

CHALMEH, Al. *et al.* Alterations in electrocardiographic parameters and serum cardiac biomarkers in an ovine experimental endotoxemia model. **Istanbul Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi**, v. 40, n. 2, p. 211–219, 2014.

COLLINSON, P. O. Cardiac markers into the new millennium. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 37, n. 2, p. 109–113, 2000.

CONSTABLE, P. *et al.* **Veterinary Medicine - A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 11. ed. St. Louis: Elsevier, 2017.

COŞKUN, A. *et al.* Hematologic, blood gas, cardiac biomarkers and serum biochemical parameters in Calves with Atresia Coli and theirs relationship with prognosis. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, n. 346, p. 7–12, 2017.

CUMMINS, B.; AUCKLAND, M. L.; CUMMINS, P. Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. **American Heart Journal**, v. 113, n. 6, p. 1333–1344, 1987.

DEHKORDI, A. J.; DEHKORDI, Z. K. Occurrence of metabolic alkalosis in rumen lactic acidosis: A review article. **Comparative Clinical Pathology**, v. 20, n. 1, p. 1–3, 2011.

DÍAZ, O. M. S. *et al.* Cardiac troponin I concentrations in horses with colic. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 245, n. 1, p. 118–125, 2014.

DIRKSEN, G. Sistema Digestivo. In: DIRKSEN, G.; GÜNDER, H. D.; STÖBER, M. (Eds.). **Rosenberger Exame Clínico dos Bovinos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. Cap. 7, p. 163–224.

DSHUROV, A. Pathomorphologic changes in the ruminal acidosis of sheep. **Archiv fur experimentelle Veterinarmedizin**, v. 30, n. 6, p. 881–887, 1976.

DUTRA, L. C. *et al.* Estudo retrospectivo da acidose láctica ruminal em pequenos ruminantes atendidos na Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns/UFRPE. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 12, sup. 1, p. 67, 2018.

EL-BAHR, S. M.; EL-DEEB, W. M. Oxidative stress and cardiac biomarkers in lambs affected with enzootic ataxia: The diagnostic and prognostic significance. **Veterinarski Arhiv**, v. 87, n. 3, p. 259–271, 2017.

ERICKSON, G. E. *et al.* Interaction between bunk management and monensin concentration on finishing performance, feeding behavior, and ruminal metabolism during an acidosis challenge with feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 11, p. 2869–2879, 2003.

FAKOUR, S.; ALIMOHAMMADZADEH, P.; VAZIRY, A. Evaluation of cardiac troponin I (cTnI), electrocardiography, creatine kinase (CK) and aspartate aminotransferase (AST) in diagnosis of selenium deficiency in Markhoz goat kids breed. **Iranian Journal of Veterinary Medicine**, v. 11, n. 2, p. 125–133, 2017.

FARTASHVAND, M. *et al.* Elevated Serum Cardiac Troponin I in Cattle with Theileriosis.

**Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 1, p. 194–199, 2013.

FARTASHVAND, M.; HAJI-SADEGHI, Y. Evaluation of serum cardiac biomarkers in sheep with acute lactic acidosis. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**, v. 68, n. 2, p. 219–224, 2017.

FIGUEIREDO, M. D. *et al.* Prognostic value of plasma L-lactate concentration measured cow-side with a portable clinical analyzer in holstein dairy cattle with abomasal disorders. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, n. 6, p. 1463–1470, 2006.

FONFARA, S. *et al.* Cardiac troponin I as a marker for severity and prognosis of cardiac disease in dogs. **Veterinary Journal**, v. 184, n. 3, p. 334–339, 2010.

FREDERICKS, S. *et al.* Cardiac troponins and creatine kinase content of striated muscle in common laboratory animals. **Clinica Chimica Acta**, v. 304, n. 1–2, p. 65–74, 2001.

GODOY, M. F.; BRAILE, D. M.; PURINI NETO, J. A troponina como marcador de injúria celular miocárdica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 71, n. 4, p. 629–633, 1998.

GOFF, J. P. The Endocrine System. In: REECE, W. O. *et al.* (Eds.). **Dukes' Physiology of Domestic Animals**. 13. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2015. Cap. 51, p. 617–653.

HAJI HAJIKOLAEI, M. R. *et al.* Effects of experimentally induced ruminal lactic acidosis on blood pH, bicarbonate and pCO<sub>2</sub> in the sheep. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 9, n. 10, p. 2003–2005, 2006.

HAJIMOHAMMADI, A. *et al.* Serum cardiac troponin I as a biomarker in cardiac degeneration following experimental salinomycin toxicosis in sheep. **Veterinarski Arhiv**, v. 84, n. 1, p. 41–51, 2014.

HERNÁNDEZ, J. *et al.* Ruminal acidosis in feedlot: From aetiology to prevention. **Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.

HOFFMANN, W. E.; SOLTER, P. F. Diagnostic Enzymology of Domestic Animals. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds.). **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008. Cap. 12, p. 351–378.

JAFARI-DEHKORDI, A.; HAJI-HAJIKOLAEI, M. R.; KARIMI-DEHKORDI, Z. ECG Changes in Acute Experimental Ruminal Lactic Acidosis in Sheep. **Veterinary Research Forum**, v. 2, n. 3, p. 203–208, 2011.

JARAMILLO-LÓPEZ, E. *et al.* Ruminal acidosis: Strategies for its control. **Austral journal of veterinary sciences**, v. 49, n. 3, p. 139–148, 2017.

JIA, Y. Y. *et al.* High concentrate-induced subacute ruminal acidosis (SARA) increases plasma acute phase proteins (APPs) and cortisol in goats. **Animal**, v. 8, n. 9, p. 1433–1438, 2014.

JOSHI, V. *et al.* Evaluation of oxidant-antioxidant status, serum cytokine levels and some cardiac injury biomarkers in acute ruminal lactic acidosis in goats. **Small Ruminant**

**Research**, v. 149, p. 6–10, 2017.

KARAPINAR, T. *et al.* High cardiac troponin I plasma concentration in a calf with myocarditis. **Canadian Veterinary Journal**, v. 51, n. 4, p. 397–399, 2010.

KATRUKHA, I. A. Human cardiac troponin complex. structure and functions. **Biochemistry (Moscow)**, v. 78, n. 13, p. 1447–1465, 2013.

KAWASE, T. *et al.* Validation of lactate level as a predictor of early mortality in acute decompensated heart failure patients who entered intensive care unit. **Journal of Cardiology**, v. 65, n. 2, p. 164–170, 2015.

KILINC, O. O. *et al.* Relationship between cardiac injury, selected biochemical parameters, DIG, and hemogram levels in cattle with theileriosis. **Medycyna Weterynaryjna**, v. 74, n. 6, p. 383–386, 2018.

KIRBAS, A. *et al.* Evaluation of serum cardiac troponin I concentration in sheep with acute ruminal lactic acidosis. **Veterinarski Arhiv**, v. 84, n. 4, p. 355–364, 2014a.

KIRBAS, A. *et al.* Status of lipid peroxidation and some antioxidants in sheep with acute ruminal lactic acidosis. **Medycyna Weterynaryjna**, v. 70, n. 6, p. 357–361, 2014b.

KLEIN, B. G. **Cunningham Tratado de fisiologia veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

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

LAZZERI, C. *et al.* Troponin I in the intensive care unit setting: From the heart to the heart. **Internal and Emergency Medicine**, v. 3, n. 1, p. 9–16, 2008.

LAZZERI, C. *et al.* Lactate in the acute phase of ST-elevation myocardial infarction treated with mechanical revascularization: A single-center experience. **American Journal of Emergency Medicine**, v. 30, n. 1, p. 92–96, 2012.

LEE, D. Y.; KIM, E.; CHOI, M. H. Technical and clinical aspects of cortisol as a biochemical marker of chronic stress. **BMB Reports**, v. 48, n. 4, p. 209–216, 2015.

LIRA, M. A. A. *et al.* Doenças do sistema digestório de caprinos e ovinos no semiárido do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 193–198, 2013.

LOBETTI, R.; DVIR, E.; PEARSON, J. Cardiac troponins in canine babesiosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, n. 1, p. 63–68, 2002.

MACEDO, A. T. M. *et al.* Proteinograma de cabras acometidas por toxemia da prenhez. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 23, n. 1–2, p. 18–22, 2016.

MADEN, M. *et al.* Acute-Phase Proteins, Oxidative Stress and Enzyme Activities of Blood Serum and Peritoneal Fluid in Cattle with Abomasal Displacement. **Journal of Veterinary**

**Internal Medicine**, v. 26, n. 6, p. 1470–1475, 2012.

MAHMOOD, A. K. *et al.* Lactic acidosis in goats: Prevalence, intra-ruminal and haematological investigations. **Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 23, n. 6, p. 1527–1531, 2013.

MARÍN-GARCÍA, J. Cardiomyopathies: A Comparative Analysis of Phenotypes and Genotypes. In: MARÍN-GARCÍA, J. (Ed.). **Post-Genomic Cardiology**. 2. ed. Cambridge: Academic Press, 2014. Cap. 12, p. 363–426.

MARUTA, C. A.; ORTOLANI, E. L. Susceptibilidade De Bovinos Das Raças Jersey E Gir À Acidose Láctica Ruminal: II - Acidose Metabólica e Metabolização Do Lactato-L. **Ciência Rural**, v. 32, n. 1, p. 61–65, 2002.

MEIJ, B. P.; MOL, J. A. Adrenocortical Function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds.). **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008. Cap. 19, p. 605–623.

MELLANBY, R. J. *et al.* Serum cardiac troponin I concentrations in cattle with pericarditis. **Veterinary Record**, v. 161, n. 13, p. 454–455, 2007.

MELLANBY, R. J. *et al.* Serum cardiac troponin I concentrations in cattle with cardiac and noncardiac disorders. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 4, p. 926–930, 2009.

MEYER, N. F.; BRYANT, T. C. Diagnosis and Management of Rumen Acidosis and Bloat in Feedlots. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 33, n. 3, p. 481–498, 2017.

MIRANDA NETO, E. G. De *et al.* Aspectos clínicos e a bioquímica ruminal de caprinos submetidos à acidose láctica experimental e suplementados ou não com monensina sódica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 5, p. 416–424, 2011.

MIRANDA NETO, E. G. *et al.* Estudo clínico e características do suco ruminal de caprinos com acidose láctica induzida experimentalmente. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 2, p. 73–78, 2005.

MØLLER, P. D. *et al.* Absorption and fate of L- and D-lactic acid in ruminants. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Physiology**, v. 118, n. 2, p. 387–388, 1997.

NAGARAJA, T. G. *et al.* Effect of Lasalocid, Monensin or Thiopeptin on Lactic Acidosis in Cattle. **Journal of Animal Science**, v. 54, n. 3, p. 649–658, 1982.

NAGARAJA, T. G.; LECHTENBERG, K. F. Acidosis in Feedlot Cattle. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 23, n. 2, p. 333–350, 2007a.

NAGARAJA, T. G.; LECHTENBERG, K. F. Liver Abscesses in Feedlot Cattle. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 23, n. 2, p. 351–369, 2007b.

NIKOLOV, Y. Clinical experimental studies on acute rumen acidosis in buffaloes (*Bubalus*

*bubalis* L.). IV. Influence of acidosis on blood, rumen liquid and urine electrolytes. **Veterinarski Arhiv**, v. 68, n. 1, p. 1–9, 1998.

O'BRIEN, P. J. *et al.* Cardiac troponin I is a sensitive, specific biomarker of cardiac injury in laboratory animals. **Laboratory Animals**, v. 40, n. 2, p. 153–171, 2006.

O'BRIEN, P. J. *et al.* Cardiac Troponin T is a Sensitive, Specific Biomarker of Cardiac Injury in Laboratory Animals. **Laboratory Animals**, v. 47, n. 5, p. 486–495, 1997.

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

ORUNÇ KILINÇ, Ö. *et al.* Determination of serum cardiac biomarkers and plasma D-dimer levels in anemic sheep with babesiosis. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 39, n. 5, p. 606–610, 2015.

OWENS, F. N. *et al.* Acidosis in Cattle: A Review. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 1, p. 275–286, 1998.

OYAMA, M. A.; SISSON, D. D. Cardiac troponin-I concentration in dogs with cardiac disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 18, n. 6, p. 831–839, 2004.

PEEK, S. F. *et al.* Cardiac isoenzymes in healthy Holstein calves and calves with experimentally induced endotoxemia. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 72, n. 4, p. 356–361, 2008.

RADCLIFFE, R. M. *et al.* Evaluation of L-lactate and cardiac troponin I in horses undergoing emergency abdominal surgery. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 22, n. 3, p. 313–319, 2012.

RADCLIFFE, R. M. *et al.* The clinical value of whole blood point-of-care biomarkers in large animal emergency and critical care medicine. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 25, n. 1, p. 138–151, 2015.

RANGEL, A. H. N. *et al.* Utilização de ionóforos na produção de ruminantes. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, n. 1, p. 264–273, 2008.

REECE, W. O. Fundamentals of Acid–Base Balance. In: REECE, W. O. *et al.* (Eds.). **Dukes' Physiology of Domestic Animals**. 13. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2015. Cap. 13, p. 137–148.

REIS, L. F. *et al.* Comparative assessment of probiotics and monensin in the prophylaxis of acute ruminal lactic acidosis in sheep. **BMC Veterinary Research**, v. 14, n. 1, p. 1–8, 2018.

REYNOLDS, T. *et al.* Raised serum cardiac troponin i concentrations predict hospital mortality in intensive care unit patients. **British Journal of Anaesthesia**, v. 109, n. 2, p. 219–224, 2012.

SABES, A. F. *et al.* Acid-base balance in sheep with experimentally induced acute ruminal

lactic acidosis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 3, p. 637–643, 2017.

SALLES, M. S. V.; LUCCHI, C. S. Monensina para Bezerros Ruminantes em Crescimento Acelerado. 2. Digestibilidade e Parâmetros Ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 2, p. 582–588, 2000a.

SALLES, M. S. V.; LUCCHI, C. S. Monensina para Bezerros Ruminantes em Crescimento Acelerado. 1. Desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 2, p. 573–581, 2000b.

SCHOBBER, K. E. *et al.* Serum cardiac troponin I and cardiac troponin T. **Journal of the American Veterinary Medical Association (JAVMA)**, v. 221, n. 3, p. 381–8, 2002.

SEESUPA, S.; WACHIRAPAKORN, C.; AIUMLAMAI, S. Effects of induced subacute ruminal acidosis and laminitis on lipopolysaccharide binding protein, cortisol and progesterone levels in dairy heifers. **Thai Journal of Veterinary Medicine**, v. 47, n. 4, p. 501–511, 2017.

SERRA, M. *et al.* Veterinary and toxicological applications for the detection of cardiac injury using cardiac troponin. **Veterinary Journal**, v. 185, n. 1, p. 50–57, 2010.

SHARKEY, L. C.; WELLMAN, M. L. Use of Lactate in Small Animal Clinical Practice. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 35, n. 3, p. 567–577, 2015.

SILVA, N. V. *et al.* Alimentação de ovinos em regiões semiáridas do Brasil. **Acta Veterinária Brasilica**, v. 4, n. 4, p. 233–241, 2010.

SILVA, S. T. G. *et al.* Avaliação clínico-laboratorial do emprego da monensina sódica na prevenção da acidose láctica ruminal em caprinos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 35, n. 1, p. 76–84, 2013.

SINGH, T. P. *et al.* Cardiac biomarkers: When to test? - physician perspective. **Journal, Indian Academy of Clinical Medicine**, v. 12, n. 2, p. 117–121, 2011.

SINGH, V. *et al.* Cardiac biomarkers - The old and the new: A review. **Coronary Artery Disease**, v. 21, n. 4, p. 244–256, 2010.

SNYDER, E.; CREDILLE, B. Diagnosis and Treatment of Clinical Rumen Acidosis. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 33, n. 3, p. 451–461, 2017.

SOARES, G. S. L. *et al.* Cardiac biomarkers and blood metabolites in cows with clinical ketosis Biomarcadores cardíacos e metabólitos sanguíneos em vacas com cetose clínica. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 6, p. 3525–3540, 2019.

SOUZA, L. M. *et al.* Cardiac Biomarkers Troponin I and Ck-Mb in Ewes Affected By Pregnancy Toxemia. **Small Ruminant Research**, v. 177, p. 97–102, 2019.

STEELE, M. A. *et al.* Ruminal acidosis and the rapid onset of ruminal parakeratosis in a mature dairy cow: a case report. **Acta veterinaria Scandinavica**, v. 51, p. 39, 2009.

STOCK, R. A. *et al.* Effect of monensin and monensin and tylosin combination on feed intake variation of feedlot steers. **Journal of animal science**, v. 73, n. 1, p. 39–44, 1995.

SURACHETPONG, S. D.; VICHIT, P.; HUNPRASIT, V. Measurements of cardiac troponin I and creatine kinase myocardium isoform in dogs with diabetic ketoacidosis. **Comparative Clinical Pathology**, v. 25, n. 6, p. 1185–1191, 2016.

SUZUKI, K. *et al.* Cardiac Troponin I in Calves with Congenital Heart Disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 26, n. 4, p. 1056–1060, 2012.

THARWAT, M.; AL-SOBAYIL, F.; AL-SOBAYIL, K. The cardiac biomarkers troponin I and CK-MB in nonpregnant and pregnant goats, goats with normal birth, goats with prolonged birth, and goats with pregnancy toxemia. **Theriogenology**, v. 78, n. 7, p. 1500–1507, 2012.

TUNCA, R. *et al.* Determination of cardiac troponin i in the blood and heart of calves with foot-and-mouth disease. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 20, n. 5, p. 598–605, 2008.

UNDHAD, V. V. *et al.* Cardiac troponin: An emerging cardiac biomarker in animal health. **Veterinary World**, v. 5, n. 8, p. 508–511, 2012.

VALBERG, S. J. Skeletal Muscle Function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds.). **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008. Cap. 15, p. 459–484.

VARGA, A. *et al.* Correlation of serum cardiac troponin I and myocardial damage in cattle with monensin toxicosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 5, p. 1108–1116, 2009.

VARGA, A. *et al.* Preliminary investigation of cardiac troponin i concentration in cows with common production diseases. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 6, p. 1613–1621, 2013.

VARSHNEY, J. Evaluation of Myocardial Damage in Dogs with Heat Stroke. **Journal of Animal Research**, v. 7, n. 5, p. 973, 2017.

VIEIRA, A. C. S. *et al.* Estudo retrospectivo da acidose láctea em caprinos e ovinos atendidos na Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns/UFRPE. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 1, n. 1, p. 97–101, 2006.

VIEIRA, A. C. *et al.* Perfil hematológico e bioquímico de ovinos suplementados com salinomicina submetidos à acidose láctica ruminal. **Ciencia Animal Brasileira**, v. 13, n. 2, p. 259–271, 2012.

WELSH, T. M.; KUKES, G. D.; SANDWEISS, L. M. Differences of creatine kinase MB and cardiac troponin I concentrations in normal and diseased human myocardium. **Annals of Clinical and Laboratory Science**, v. 32, n. 1, p. 44–49, 2002.



WHITE, H. D. Pathobiology of troponin elevations. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 57, n. 24, p. 2406–2408, 2011.

WU, T. T. *et al.* Cardiac troponin I levels are a risk factor for mortality and multiple organ failure in noncardiac critically ill patients and have an additive effect to the APACHE II score in outcome prediction. **Shock**, v. 22, n. 2, p. 95–101, 2004.

YAMOUT, S. Z. *et al.* Peritoneal and Plasma d-lactate Concentrations in Horses with Colic. **Veterinary Surgery**, v. 40, n. 7, p. 817–824, 2011.

YONEZAWA, L. A. *et al.* Marcadores cardíacos na medicina veterinária. **Ciencia Rural**, v. 40, n. 1, p. 1–9, 2010.

YONEZAWA, L. A. *et al.* Metabolismo oxidativo e cardíaco de equinos submetidos a exercício de baixa intensidade antes e após suplementação com antioxidante. **Ciencia Rural**, v. 44, n. 6, p. 1060–1065, 2014.

## 4 ARTIGOS CIENTÍFICOS

### 4.1 ARTIGO 1<sup>#</sup>

#### CARDIAC BIOMARKERS IN GOATS WITH EXPERIMENTAL RUMINAL LACTIC ACIDOSIS AND SUPPLEMENTED WITH MONENSIN SODIUM

Biomarcadores cardíacos em caprinos com acidose láctica ruminal experimental e suplementados com monensina sódica

Ana Clara SARZEDAS RIBEIRO<sup>1\*</sup>, Gliére Silmara LEITE SOARES<sup>2</sup>, Saulo de Tarso GUSMÃO DA SILVA<sup>3</sup>, Eldinê Gomes de MIRANDA NETO<sup>4</sup>, Rebeka MENEZES PONTES<sup>2</sup>, Pierre CASTRO SOARES<sup>5</sup>, Carla LOPES DE MENDONÇA<sup>6</sup>, José Augusto BASTOS AFONSO<sup>6</sup>

#### Abstract

Aimed to evaluate creatine kinase MB (CK-MB) and cardiac troponin I (cTnI) in goats with experimental ruminal lactic acidosis (RLA) and supplemented with monensin sodium (MS). Twenty goats were divided into control group (CG) and treatment group (TG) supplemented with 33mg/animal/day of MS. The RLA was induced (10g/Kg body weight of sucrose) and before and post-induction clinical data, ruminal fluid and blood were collected. All animals presented mild RLA, with minimal ruminal pH at 8h post-induction. CK-MB and cTnI were higher in the CG and TG, respectively, without differ between moments. MS at the dose used did not prevent RLA whose severity was not sufficient to cause cardiac injury.

**Keywords:** Cardiac troponin I, creatine kinase MB, ionophores, myocardial injury, ruminal acidosis

#### Resumo

Objetivou-se avaliar a creatina quinase MB (CK-MB) e troponina I cardíaca (cTnI) em caprinos com acidose láctica (ALR) experimental e suplementados com monensina sódica (MS). Vinte caprinos foram divididos em grupo controle (GC) e grupo tratamento (GT) suplementado com 33mg/animal/dia de MS. A ALR foi induzida (10g/Kg de peso corporal de sacarose) e, antes e pós-indução, foram coletados dados clínicos, fluído ruminal e sangue. Todos os animais apresentaram ALR leve, com pH ruminal mínimo 8 horas pós-indução. CK-MB e cTnI foram maiores no GC e GT, respectivamente, sem diferença entre os momentos. A MS na dose utilizada não preveniu a ALR cuja gravidade não foi suficiente para causar lesão cardíaca.

**Palavras-chave:** Troponina cardíaca I, creatina quinase MB, ionóforos, lesão miocárdica, acidose ruminal

<sup>#</sup> Artigo publicado na Revista Agrária Acadêmica, v. 3, n. 1, p. 7–16, jan/fev 2020.

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes, Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Garanhuns/PE – Brasil. ORCID: 0000-0003-0747-4826. E-mail: ac\_sarzedas@id.uff.br

\* Corresponding author

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife/PE – Brasil. ORCID: 0000-0003-1488-0523, 0000-0002-8844-3011. E-mail: glieresoares87@gmail.com, rebekampontes@gmail.com

<sup>3</sup> Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Garanhuns/PE – Brasil. ORCID: 0000-0002-4906-1854. E-mail: stdetarso@hotmail.com

<sup>4</sup> Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Patos/PB – Brasil. ORCID: 0000-0002-9181-1129. E-mail: eldinemneto@hotmail.com

<sup>5</sup> Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife/PE – Brasil. ORCID: 0000-0002-5680-3940. E-mail: pcastro.pe@gmail.com

<sup>6</sup> Clínica de Bovinos de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Garanhuns/PE – Brasil. ORCID: 0000-0002-4985-4985, 0000-0002-6558-644X. E-mail: carlalopes.mendonca@gmail.com, afonsojab@oi.com.br

## Introduction

Ruminal lactic acidosis (RLA) is a nutritional and metabolic disorder of ruminants caused by excessive and unadapted ingestion of non-structural carbohydrates. After consumption in large quantities, these carbohydrates are fermented by amylolytic ruminal bacteria and lactic acid producing bacteria, especially *Streptococcus bovis* and *Lactobacillus* spp., which precipitate increased production and accumulation of volatile fatty acids (VFA) and lactic acid, causing a decrease in ruminal pH. The accumulation of lactic acid in the rumen and its excessive absorption into the bloodstream triggers, beyond the fermentative disorder, a metabolic acidosis, as well as several potentially fatal secondary processes. The severity of the clinical presentation varies according to the amount of carbohydrates ingested, the amount of lactate generated in the rumen, and the individual susceptibility (JARAMILLO-LÓPEZ et al., 2017; NAGARAJA; LECHTENBERG, 2007; OWENS et al., 1998; SNYDER; CREDILLE, 2017).

It is hypothesized that acid-base and electrolyte disturbances and secondary complications associated with RLA cause cardiovascular injury. Recently, cardiac injury biomarkers have been used in studies seeking to evaluate the association between myocardial injury and ruminal acidosis in small ruminants (FARTASHVAND; HAJI-SADEGHI, 2017; JOSHI et al., 2017; KIRBAS et al., 2014a) however, this relationship is still not fully understood.

Blood cardiac biomarkers, especially creatine kinase MB isoenzyme (CK-MB) and cardiac troponin I (cTnI), have been widely used in human medicine in the diagnosis of patients with heart disease and other critical diseases, allowing the establishment of therapy and prognosis, with greater accuracy in a shorter time (ALATASSI et al., 2018; ANTMAN, 2002; SINGH et al., 2010). In veterinary medicine, these markers have been used to determine the presence of myocardial injury in animals affected by primary cardiac diseases and non-cardiac disorders, being related to severity and prognosis (CUMMINS; AUCKLAND; CUMMINS, 1987; MELLANBY et al., 2007; RADCLIFFE et al., 2015; VARGA et al., 2013; YONEZAWA et al., 2010).

The preventive measures adopted for RLA include the gradual supply of carbohydrates in the diet and the use of food additives that regulate the ruminal environment, such as the ionophore antibiotics that selectively inhibit Gram-positive ruminal bacteria, among them the main producers of lactic acid, favoring the growth of Gram-negative bacteria (NAGARAJA; LECHTENBERG, 2007; RANGEL et al., 2008). Monensin sodium has been widely used in the diet of confined cattle to improve food efficiency and prevent the occurrence of acute ruminal lactic acidosis (NAGARAJA et al., 1982; SALLES; LUCCI, 2000a, 2000b) and its efficiency in the prevention of RLA has also been studied in goats, through clinical and laboratory observations, with inconsistent results (MIRANDA NETO et al., 2011).

There are very few studies on the use of blood cardiac biomarkers as a criterion for cardiac injury in goats with RLA, especially supplemented with ionophore, and if this preventive measure is effective. Thus, the objective of this study was to evaluate the serum concentrations of cTnI and CK-MB in goats with experimental RLA, which received monensin sodium in their diet.

## Materials and methods

The experimental design was submitted and approved by the Ethics Committee on the Use of Animals of the Federal Rural University of Pernambuco (CEUA/UFRPE) under license number 066/2018. The study was conducted in the Garanhuns Bovine Clinic (CBG), Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE) *Campus*, Garanhuns, PE, Brazil. Twenty male, castrated, crossbred Anglo Nubian and Saanen goats were used, with an average age of two years, average body weight of 30Kg and clinically healthy. The animals were submitted to surgical intervention for the implantation of permanent ruminal cannulas (REICHERT NETO, 1996). A 40-day postoperative interval was established for complete recovery, as well as adaptation to the environment and feed management. During the adaptation period and the experimental phase, the goats received soybean meal (300g/animal/day), grasses *Pennisetum purpureum*, *Cynodon* spp., and *Brachiaria decumbens*, mineral salt and water *ad libitum*.

The goats were randomly divided into two groups of 10 animals, a control group (CG) and a treatment group (TG) which received 33mg/animal/day of monensin sodium (Rumesin 100, Elanco Química) through the ruminal cannula during the adaptation period and the experimental phase (BROWN; HOGUE, 1985). Ruminal acidosis was induced by intraruminal sucrose administration at a dose of 10g/Kg body weight (CAKALA; BORKOWSKI; ALBRYCHT, 1974; CAO et al., 1987). Before induction, characterizing the control moment (CM), and at the intervals of 4h, 8h, 12h, 24h, 32h, 48h, and 72h post-induction (PI), a clinical examination was performed and samples of ruminal fluid and blood were collected.

The clinical examination followed the recommendation by Smith; Sherman (2009) and characteristics such as attitude, behavior, appetite, heart and respiratory rate, reticulum-ruminal motility, rectal temperature and appearance of feces were evaluated.

Ruminal fluid samples were collected through the cannula and processed in the Clinical Laboratory of CBG/UFRPE, following the guidelines of Dirksen (1993). Immediately after collection, the physical characteristics such as color, odor and consistency were evaluated, as well the ruminal pH, using a digital pH meter (pH-100, PHTEK).

Blood samples were collected by jugular venipuncture in sterile vacuum tubes (BD Vacutainer, Becton Dickinson Ind. Cir. Ltda.), without anticoagulant and with sodium

fluoride/potassium oxalate, to obtain serum and plasma, respectively. The samples were aliquoted and stored in a freezer at  $-80^{\circ}\text{C}$  for further laboratory processing.

The analyzes of the biochemical blood variables were performed at the Clinical Laboratory of CBG/UFRPE; in the Research Support Center (CENAPESQ) and in the Laboratory of Nutritional and Metabolic Diseases of Ruminants, UFRPE, Recife, PE. The serum activity of the enzyme creatine kinase (CK-NAC Liquiform, Labtest Diagnóstica S.A.) and the plasma concentration of L-lactate were evaluated (Lactato Enzimático, Labtest Diagnóstica S.A.) in a semiautomatic analyzer (BIO 2000/Labquest, Bioplus Produtos Para Laboratórios Ltda.). The serum activity of the creatine kinase MB isoenzyme (CK-MB Liquiform, Labtest Diagnostica S.A.) was determined in an automatic biochemical analyzer (Labmax 240, Labtest Diagnóstica S.A.). Serum concentrations of cTnI (Access AccuTnI, Beckman Coulter) and cortisol (Access Cortisol, Beckman Coulter) were determined by chemiluminescence immunoassay (Access 2 Immunoassay System, Beckman Coulter). As recommended by the manufacturer and considering the linearity of the test of 0.01-100ng/mL, in the samples for which cTnI values were below the minimum detection limit of the assay, the results were recorded as  $<0.01\text{ng/mL}$ .

For statistical analysis, the data were initially tested for normality of distribution using the Kolmogorov-Smirnov test. The variables that did not meet the normality assumptions were submitted to log-transformation ( $\log_{10}$ ) or square root transformation ( $x+1$ ). Data were then submitted to analysis of variance (ANOVA two way) using the General Linear Model (GLM) procedure of the MINITAB18 statistical program. If significance was observed in the ANOVA F Test, the contrast between the means was performed by the least significant difference (l.s.d.) of the Tukey test. The significance level of 5% was considered for all analyzes.

## Results

The experimental intake of 10g/Kg body weight of sucrose caused mild ruminal lactic acidosis in both groups. The clinical examination revealed alterations, mainly between 4h and 24h PI, such as sternal decubitus, apathy, moderate dehydration, anorexia or inappetence, abdominal distension, reduction in ruminal motility, loss of rumen stratification, and pasty or diarrheic feces, blackened and fetid. There was an increase ( $P<0.05$ ) in the heart rate between 4h and 8h PI and the rectal temperature at 8h PI, however these variables remained within the normal range for the species. The respiratory rate did not change ( $P>0.05$ ) throughout the experimental period (Table 1). Clinical reestablishment occurred from 48h PI in both groups and no animal died, in addition to which there was no need for therapeutic intervention.

**Table 1.** Heart rate, respiratory rate, and rectal temperature (mean  $\pm$  standard error) of goats submitted to experimental induction of ruminal lactic acidosis and supplemented with monensin sodium.

	Group	CM	4h	8h	12h	24h	32h	48h	72h	OM
HR (bpm)	CG	109.60 $\pm$ 10.63	129.20 $\pm$ 8.74	117.20 $\pm$ 7.35	110.20 $\pm$ 9.16	107.00 $\pm$ 5.51	106.00 $\pm$ 6.00	102.40 $\pm$ 6.69	95.20 $\pm$ 5.52	109.60 <sup>A</sup>
	TG	98.80 $\pm$ 6.93	119.00 $\pm$ 7.11	116.00 $\pm$ 5.66	101.60 $\pm$ 6.68	108.60 $\pm$ 6.41	103.80 $\pm$ 4.35	111.20 $\pm$ 6.97	91.40 $\pm$ 6.10	106.30 <sup>A</sup>
	OM	104.20 <sup>ab</sup>	124.10 <sup>a</sup>	116.60 <sup>a</sup>	105.90 <sup>ab</sup>	107.80 <sup>ab</sup>	104.90 <sup>ab</sup>	106.80 <sup>ab</sup>	93.30 <sup>b</sup>	
RR (rmpm)	CG	32.10 $\pm$ 5.83	27.60 $\pm$ 2.56	29.60 $\pm$ 3.64	22.80 $\pm$ 1.47	22.00 $\pm$ 1.23	24.40 $\pm$ 2.10	23.60 $\pm$ 2.02	24.90 $\pm$ 1.77	25.87 <sup>A</sup>
	TG	30.00 $\pm$ 6.65	30.00 $\pm$ 4.59	47.00 $\pm$ 12.13	23.40 $\pm$ 2.63	28.80 $\pm$ 2.44	39.20 $\pm$ 10.22	26.80 $\pm$ 2.92	26.00 $\pm$ 2.88	31.40 <sup>A</sup>
	OM	31.05 <sup>a</sup>	28.80 <sup>a</sup>	38.30 <sup>a</sup>	23.10 <sup>a</sup>	25.40 <sup>a</sup>	31.80 <sup>a</sup>	25.20 <sup>a</sup>	25.45 <sup>a</sup>	
Temperature ( $^{\circ}$ C)	CG	38.82 $\pm$ 0.15	38.79 $\pm$ 0.15	39.32 $\pm$ 0.12	39.29 $\pm$ 0.16	38.76 $\pm$ 0.11	39.38 $\pm$ 0.21	38.98 $\pm$ 0.19	38.66 $\pm$ 0.15	39.00 <sup>A</sup>
	TG	38.86 $\pm$ 0.15	38.73 $\pm$ 0.14	39.45 $\pm$ 0.15	38.89 $\pm$ 0.15	38.67 $\pm$ 0.17	39.16 $\pm$ 0.14	38.39 $\pm$ 0.15	38.28 $\pm$ 0.18	38.80 <sup>B</sup>
	OM	38.84 <sup>bcd</sup>	38.76 <sup>cd</sup>	39.38 <sup>a</sup>	39.09 <sup>abc</sup>	38.71 <sup>cd</sup>	39.27 <sup>ab</sup>	38.68 <sup>cd</sup>	38.47 <sup>d</sup>	

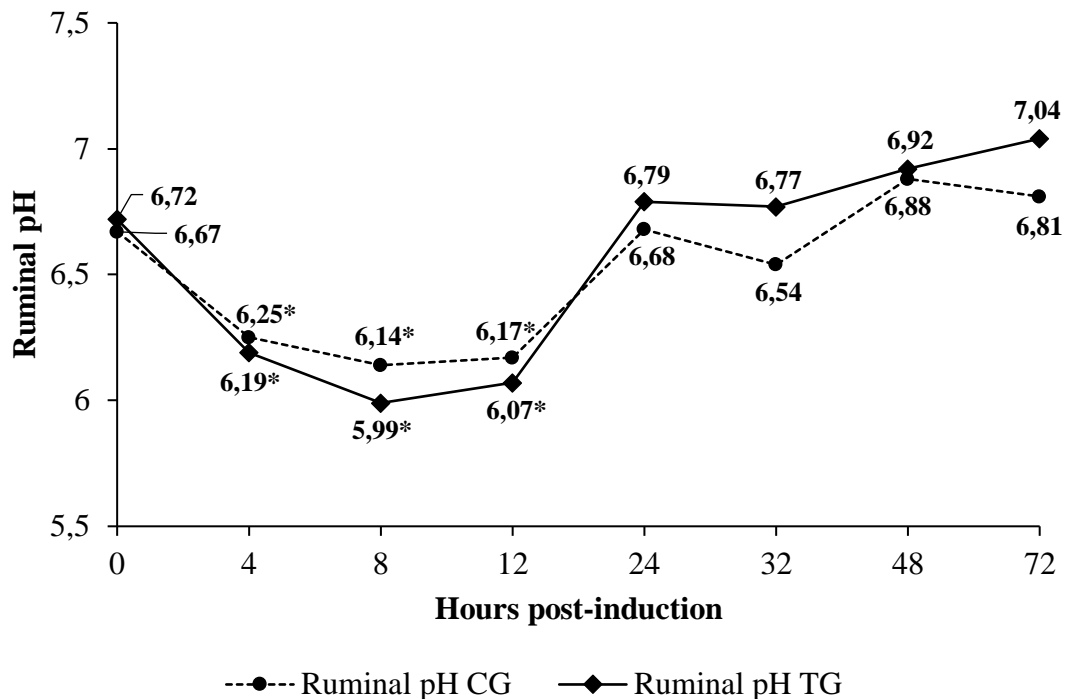
HR, heart rate; bpm, beats per minute; RR, respiratory rate; rmpm, respiratory movements per minute; CG, control group; TG, treatment group; OM, over mean; CM, control moment. <sup>A,B</sup>Different capital letters in the same column indicate significant differences ( $P<0.05$ ) between groups. <sup>a,b,c,d</sup>Different lowercase letters on the same line indicate significant differences ( $P<0.05$ ) between moments.

**Table 2.** Serum biochemical variables (mean  $\pm$  standard error) of goats submitted to experimental induction of ruminal lactic acidosis and supplemented with monensin sodium.

	Group	CM	4h	8h	12h	24h	32h	48h	72h	OM
L-lactate (mmol/L)	CG	0.86 $\pm$ 0.11	0.85 $\pm$ 0.10	1.10 $\pm$ 0.09	1.11 $\pm$ 0.18	0.93 $\pm$ 0.17	0.89 $\pm$ 0.16	0.70 $\pm$ 0.06	0.63 $\pm$ 0.08	0.88 <sup>B</sup>
	TG	0.90 $\pm$ 0.17	1.40 $\pm$ 0.20	1.46 $\pm$ 0.20	1.07 $\pm$ 0.09	1.10 $\pm$ 0.15	1.26 $\pm$ 0.23	0.89 $\pm$ 0.16	1.40 $\pm$ 0.20	1.10 <sup>A</sup>
	OM	0.88 <sup>abc</sup>	1.12 <sup>ab</sup>	1.28 <sup>a</sup>	1.09 <sup>ab</sup>	1.02 <sup>abc</sup>	1.08 <sup>abc</sup>	0.80 <sup>bc</sup>	0.65 <sup>c</sup>	
Cortisol (nmol/L)	CG	13.21 $\pm$ 1.94	17.11 $\pm$ 4.72	25.04 $\pm$ 4.83	24.53 $\pm$ 3.97	16.15 $\pm$ 2.31	16.45 $\pm$ 2.34	8.96 $\pm$ 1.59	10.32 $\pm$ 2.74	16.47 <sup>A</sup>
	TG	12.90 $\pm$ 3.55	11.12 $\pm$ 2.29	24.53 $\pm$ 8.07	21.46 $\pm$ 3.92	14.65 $\pm$ 3.50	11.95 $\pm$ 3.10	13.48 $\pm$ 3.46	8.65 $\pm$ 2.13	14.82 <sup>A</sup>
	OM	13.05 <sup>ab</sup>	14.12 <sup>ab</sup>	24.79 <sup>a</sup>	23.00 <sup>a</sup>	15.40 <sup>ab</sup>	14.28 <sup>ab</sup>	11.06 <sup>b</sup>	9.49 <sup>b</sup>	
CK (U/L)	CG	14.09 $\pm$ 1.07	12.28 $\pm$ 0.96	13.43 $\pm$ 0.94	12.63 $\pm$ 1.01	13.36 $\pm$ 1.16	14.78 $\pm$ 1.37	12.93 $\pm$ 1.64	13.48 $\pm$ 1.41	13.37 <sup>B</sup>
	TG	16.75 $\pm$ 1.55	19.06 $\pm$ 1.71	18.94 $\pm$ 1.57	17.24 $\pm$ 1.32	17.24 $\pm$ 1.16	16.51 $\pm$ 1.44	14.81 $\pm$ 1.22	14.08 $\pm$ 1.48	16.83 <sup>A</sup>
	OM	15.42 <sup>a</sup>	15.67 <sup>a</sup>	16.19 <sup>a</sup>	14.93 <sup>a</sup>	15.30 <sup>a</sup>	15.65 <sup>a</sup>	13.87 <sup>a</sup>	13.78 <sup>a</sup>	
CK-MB (U/L)	CG	212.56 $\pm$ 24.72	277.08 $\pm$ 25.90	258.98 $\pm$ 23.21	252.24 $\pm$ 23.04	256.17 $\pm$ 23.18	244.66 $\pm$ 23.06	222.83 $\pm$ 19.56	187.46 $\pm$ 19.96	239.00 <sup>A</sup>
	TG	151.44 $\pm$ 31.00	174.72 $\pm$ 29.56	165.29 $\pm$ 30.18	162.83 $\pm$ 29.70	155.49 $\pm$ 20.70	147.06 $\pm$ 22.00	139.26 $\pm$ 19.77	139.04 $\pm$ 11.93	154.39 <sup>B</sup>
	OM	182.00 <sup>a</sup>	225.90 <sup>a</sup>	212.14 <sup>a</sup>	207.54 <sup>a</sup>	205.83 <sup>a</sup>	195.86 <sup>a</sup>	181.04 <sup>a</sup>	163.25 <sup>a</sup>	
cTnI (ng/mL)	CG	0.013 $\pm$ 0.004	0.013 $\pm$ 0.002	0.018 $\pm$ 0.005	0.021 $\pm$ 0.005	0.013 $\pm$ 0.003	0.014 $\pm$ 0.004	0.010 $\pm$ 0.001	0.009 $\pm$ 0.000	0.014 <sup>B</sup>
	TG	0.030 $\pm$ 0.007	0.030 $\pm$ 0.006	0.040 $\pm$ 0.009	0.030 $\pm$ 0.010	0.020 $\pm$ 0.007	0.030 $\pm$ 0.009	0.030 $\pm$ 0.015	0.040 $\pm$ 0.014	0.030 <sup>A</sup>
	OM	0.024 <sup>a</sup>	0.020 <sup>a</sup>	0.028 <sup>a</sup>	0.025 <sup>a</sup>	0.018 <sup>a</sup>	0.021 <sup>a</sup>	0.019 <sup>a</sup>	0.023 <sup>a</sup>	

CG, control group; TG, treatment group; OM, over mean; CM, control moment. <sup>A,B</sup>Different capital letters in the same column indicate significant differences ( $P<0.05$ ) between groups. <sup>a,b,c</sup>Different lowercase letters on the same line indicate significant differences ( $P<0.05$ ) between moments.

The ruminal fluid examination revealed alterations in color, odor, and consistency from 4h PI, with the exception of the color, which in the TG was altered at 8h PI. In both groups, the ruminal fluid coloration of the goats became milky green, the odor changed from aromatic to acidic, and the consistency became aqueous. After 48 hours PI, normality in these characteristics of the ruminal fluid had been restored in almost all the animals. The ruminal pH reduced significantly ( $P<0.05$ ) from 4h PI, reaching the minimum threshold at 8h PI with a mean of 6.07 and returning to basal values at 24h PI. There was no significant difference ( $P>0.05$ ) in this variable between the groups studied (Figure 1).



**Figure 1.** Mean ruminal pH values of goats submitted to experimental induction of ruminal lactic acidosis and supplemented with monensin sodium. CG, control group; TG, treatment group. \*Significant difference ( $P<0.05$ ) between moments.

The results of the blood metabolites are described in Table 2. Plasma concentrations of L-lactate presented maximum values at 8h PI and when the two groups were compared, values were higher in the TG ( $P<0.05$ ). The highest serum concentrations of cortisol were recorded between 8h and 12h PI, returning to baseline values after this time, with no significant differences ( $P>0.05$ ) between the groups studied. Serum creatine kinase (CK) activity was higher in the TG ( $P<0.05$ ) with no significant differences ( $P>0.05$ ) between the moments. Regarding cardiac biomarkers, concentrations of CK-MB and cTnI were higher ( $P<0.05$ ) in the CG and TG, respectively, but there were no significant differences ( $P>0.05$ ) between the studied moments.

## Discussion

The clinical observations in the goats of the two groups in this study was characteristic of RLA and the intensity of the clinical manifestations coincided with the decrease in ruminal pH, corroborating with other authors who evaluated the disease in this species under experimental conditions (CAO et al., 1987; MIRANDA NETO et al., 2005) and cases of natural occurrence (JOSHI et al., 2017). The majority of the animals in the two groups presented clinical reestablishment 48h after induction, differing from other authors who observed in sheep experimentally submitted to ruminal acidosis, early recovery in animals receiving monensin sodium in the diet, when compared to the control group, allowing the authors to infer that supplementation with ionophore contributed to faster recovery of the ruminal environment, reducing the severity of the clinical presentation (AFONSO et al., 2005; REIS et al., 2018a).

The sudden supply of carbohydrates, followed by fermentation of this substrate by the amylolytic and lactic acid producing ruminal bacteria, causes accumulation of VFA and lactic acid in the rumen, reducing ruminal pH and substantially increasing the osmolarity of ruminal fluid, which becomes hypertonic in relation to the plasma, causing infusion of water from the intra and extracellular compartments into the organ. These factors contribute to the establishment of metabolic acidosis and secondary processes responsible for the alterations observed in the clinical examination of the animals in this study (NAGARAJA; LECHTENBERG, 2007; OWENS et al., 1998; SNYDER; CREDILLE, 2017).

Alterations in the physical characteristics of the ruminal fluid observed in the two groups, such as milky color, acid odor, and aqueous consistency, are related to the accumulation of organic acids and consequent increase in ruminal osmolarity (CAO et al., 1987) and were similar to those described in natural cases of the disease by Joshi et al. (2017) and under experimental conditions by Miranda Neto et al. (2005), who also observed the beginning of these alterations from 4h PI and re-establishment of these characteristics concomitantly with the elevation in the ruminal pH and the clinical recovery of the animals.

The significant reduction in ruminal pH observed in both groups from 4h after induction of the fermentative disorder was similar to that observed in other models when different doses of sucrose and animal species were used (CAO et al., 1987; HAJI HAJIKOLAEI et al., 2006; MIRANDA NETO et al., 2005). These authors reported ruminal pH values lower than 5.0 between 12h and 36h after induction of RLA and reestablishment of this variable from 48h. This difference in relation to the present study, in which the minimum ruminal pH values were close to 6.0, can be attributed to the lower dose of the substrate used to induce the disease, which also allowed the early return to basal ruminal pH values from 24h PI. The re-establishment of ruminal pH in a shorter time after RLA



induction was reported in sheep supplemented with monensin sodium when compared to the control group (AFONSO et al., 2002, 2005), but this difference was not observed between groups in the present study. For the authors, this fact was related to the lower concentration of lactic acid in the ruminal fluid of the animals that received the ionophore antibiotic, since it has an inhibitory effect on Gram-positive rumen microbiota, the main producer of lactic acid and responsible for the decline in ruminal pH during the course of the disease.

The elevation of plasma L-lactate coincided with the lowest ruminal pH values recorded during the experiment, corroborating with the findings of Patra; Lal; Swarup (1996). In RLA the digestion of non-structural carbohydrates produces a significant amount of lactic acid that dissociates into lactate and H<sup>+</sup> ions, which are absorbed into the bloodstream through the ruminal epithelium, causing consumption of bicarbonate reserves and lowering of blood pH (MØLLER et al., 1997; SNYDER; CREDILLE, 2017). Elevations in ruminal lactic acid and systemic metabolic acidosis, characterized by hyperlactatemia and concomitant reduction in blood pH, have been reported in other studies with experimental ruminal acidosis in small ruminants (AFONSO et al., 2002, 2005; CAO et al., 1987; REIS et al., 2018b). The higher values of L-lactate in the TG disagree with other studies that did not observe a significant difference in plasma lactate between animals supplemented or not with monensin sodium (AFONSO et al., 2002, 2005; REIS et al., 2018b).

The elevation in cortisol between 8h and 12h PI, periods of lower ruminal pH, may stem from the stress related to the painful and inflammatory condition associated with the disease. This hormone has been used as an indicator of stress and pain in livestock animals and an increase in serum cortisol has been reported in different species affected by acute and subacute ruminal acidosis (AFONSO et al., 2002; BUSTAMANTE et al., 2015; JIA et al., 2014; SEESUPA; WACHIRAPAKORN; AIUMLAMAI, 2017), suggesting that these animals experienced a state of stress during the illness.

The serum activity of CK, although higher in the TG since the control moment, did not present alterations between the moments studied, corroborating with the results of Almeida et al. (2008). On the other hand, Lal et al. (1991) and Patra; Lal; Swarup (1996) observed increased activity of this enzyme after induction of ruminal acidosis in sheep and goats, respectively, suggesting the occurrence of musculoskeletal damage associated with the disease, probably related to the severity of the clinical signs presented by the animals in these studies.

Although the serum CK-MB activity and serum cTnI concentration were higher in the CG and TG, respectively, these cardiac injury biomarkers remained within the normal range, not varying after induction of the disease, disagreeing with the reports of Fartashvand; Haji-Sadeghi (2017), Kirbas et al. (2014b), and Joshi et al. (2017) who showed elevation in cTnI and CK-MB in sheep and goats clinically affected by RLA, suggesting some degree of myocardial injury in these animals which presented severe clinical manifestations and a high mortality rate. Possible reasons for the occurrence

of cardiac damage in ruminal acidosis include: metabolic acidosis; severe dehydration; oxidative stress, with excessive production of reactive oxygen species; endotoxemia; increased synthesis and release of inflammatory cytokines (CHALMEH et al., 2014; FARTASHVAND; HAJI-SADEGHI, 2017; JOSHI et al., 2017; KATRUKHA, 2013; KIRBAS et al., 2014a, 2014b). Fartashvand; Haji-Sadeghi (2017) indicated a relation between cTnI and the prognosis in ruminal acidosis, finding that animals with more critical ruminal pH values presented the highest concentrations of this biomarker and died acutely. The fact that CK-MB and cTnI concentrations were not elevated in the present study may be related to the milder clinical manifestations and lower decline in ruminal pH presented by the goats during the experimental course of the disease.

## Conclusion

The experimental model used induced mild clinical manifestations and alterations in ruminal fluid and blood metabolites characteristic of ruminal lactic acidosis. Monensin sodium, at a dose of 33mg/animal/day, did not prevent the onset of the fermentative disturbance in goats. There were no alterations in blood cardiac biomarker concentrations, suggesting that the severity of the disease was not sufficient to cause myocardial injury. However, CK-MB and cTnI may represent important prognostic indicators in animals with ruminal acidosis, although additional studies are needed to support this hypothesis.

## Acknowledgements

The authors would like to thank the Foundation for Support to Science and Technology of the State of Pernambuco (FACEPE) for financial support (APQ-0282-05.05/15) and the Research Support Center of the Federal Rural University of Pernambuco (CENAPESQ/UFRPE) for performing the chemiluminescence immunoassay.

## References

- AFONSO, J. A. B. et al. Metabolismo oxidativo dos neutrófilos de ovinos tratados com monensina sódica e experimentalmente submetidos à acidose ruminal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, n. 4, p. 129–134, 2002.
- AFONSO, J. A. B. et al. Avaliação do uso da monensina sódica na prevenção da acidose láctica ruminal experimental em ovinos. **Veterinária Notícias**, v. 11, n. 1, p. 35–43, 2005.
- ALATASSI, A. et al. Association between troponin-I levels and outcome in critically ill patients

admitted to non-cardiac intensive care unit with high prevalence of cardiovascular risk factors.

**BMC Anesthesiology**, v. 18, n. 1, p. 1–11, 2018.

ALMEIDA, M. Z. P. R. B. et al. Estudo clínico, hematológico e bioquímico em caprinos submetidos à acidose láctica ruminal induzida experimentalmente. **Veterinária e Zootecnia**, v. 15, n. 1, p. 100–113, 2008.

ANTMAN, E. M. Decision Making with Cardiac Troponin Tests. **New England Journal of Medicine**, v. 346, n. 26, p. 2079–2082, 2002.

BROWN, D. L.; HOGUE, D. E. Effects of Feeding Monensin Sodium to Lactating Goats: Milk Composition and Ruminal Volatile Fatty Acids. **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 5, p. 1141–1147, 1985.

BUSTAMANTE, H. A. et al. Stress and pain response after oligofructose induced-lameness in dairy heifers. **Journal of Veterinary Science**, v. 16, n. 4, p. 405–411, 2015.

CAKALA, S.; BORKOWSKI, T.; ALBRYCHT, A. Ruminal acidosis in Sheep induced with different doses of saccharose. **Polskie Archiwum Weterynaryjne**, v. 17, n. 1, p. 117–130, 1974.

CAO, G. R. et al. Experimentally induced lactic acidosis in the goat. **Australian veterinary journal**, v. 64, n. 12, p. 367–370, 1987.

CHALMEH, A. et al. Alterations in electrocardiographic parameters and serum cardiac biomarkers in an ovine experimental endotoxemia model. **Istanbul Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi**, v. 40, n. 2, p. 211–219, 2014.

CUMMINS, B.; AUCKLAND, M. L.; CUMMINS, P. Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. **American Heart Journal**, v. 113, n. 6, p. 1333–1344, 1987.

DIRKSEN, G. Sistema Digestivo. In: DIRKSEN, G.; GÜNDER, H. D.; STÖBER, M. (Eds.). **Rosenberger Exame Clínico dos Bovinos**. 3. ed. Rio de Janeiro, RJ, Brasil: Guanabara Koogan, 1993. p. 163–224.

FARTASHVAND, M.; HAJI-SADEGHI, Y. Evaluation of serum cardiac biomarkers in sheep with acute lactic acidosis. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**, v. 68, n. 2, p. 219–224, 2017.

HAJI HAJIKOLAEI, M. R. et al. Effects of experimentally induced ruminal lactic acidosis on blood pH, bicarbonate and pCO<sub>2</sub> in the sheep. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 9, n. 10, p. 2003–2005, 2006.

JARAMILLO-LÓPEZ, E. et al. Ruminal acidosis: Strategies for its control. **Austral journal of veterinary sciences**, v. 49, n. 3, p. 139–148, 2017.

JIA, Y. Y. et al. High concentrate-induced subacute ruminal acidosis (SARA) increases plasma acute phase proteins (APPs) and cortisol in goats. **Animal**, v. 8, n. 9, p. 1433–1438, 2014.

- JOSHI, V. et al. Evaluation of oxidant-antioxidant status, serum cytokine levels and some cardiac injury biomarkers in acute ruminal lactic acidosis in goats. **Small Ruminant Research**, v. 149, p. 6–10, 2017.
- KATRUKHA, I. A. Human cardiac troponin complex. structure and functions. **Biochemistry (Moscow)**, v. 78, n. 13, p. 1447–1465, 2013.
- KIRBAS, A. et al. Evaluation of serum cardiac troponin I concentration in sheep with acute ruminal lactic acidosis. **Veterinarski Arhiv**, v. 84, n. 4, p. 355–364, 2014a.
- KIRBAS, A. et al. Status of lipid peroxidation and some antioxidants in sheep with acute ruminal lactic acidosis. **Medycyna Weterynaryjna**, v. 70, n. 6, p. 357–361, 2014b.
- LAL, S. B. et al. Biochemical alterations in serum and cerebrospinal fluid in experimental acidosis in goats. **Research in Veterinary Science**, v. 50, n. 2, p. 208–210, 1991.
- MELLANBY, R. J. et al. Serum cardiac troponin I concentrations in cattle with pericarditis. **Veterinary Record**, v. 161, n. 13, p. 454–455, 2007.
- MIRANDA NETO, E. G. et al. Aspectos clínicos e a bioquímica ruminal de caprinos submetidos à acidose láctica experimental e suplementados ou não com monensina sódica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 5, p. 416–424, 2011.
- MIRANDA NETO, E. G. et al. Estudo clínico e características do suco ruminal de caprinos com acidose láctica induzida experimentalmente. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 2, p. 73–78, 2005.
- MØLLER, P. D. et al. Absorption and fate of L- and D-lactic acid in ruminants. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Physiology**, v. 118, n. 2, p. 387–388, 1997.
- NAGARAJA, T. G. et al. Effect of Lasalocid, Monensin or Thiopeptin on Lactic Acidosis in Cattle. **Journal of Animal Science**, v. 54, n. 3, p. 649–658, 1982.
- NAGARAJA, T. G.; LECHTENBERG, K. F. Acidosis in Feedlot Cattle. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 23, n. 2, p. 333–350, 2007.
- OWENS, F. N. et al. Acidosis in Cattle: A Review. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 1, p. 275–286, 1998.
- PATRA, R. C.; LAL, S. B.; SWARUP, D. Biochemical profile of rumen liquor, blood and urine in experimental acidosis in sheep. **Small Ruminant Research**, v. 19, n. 2, p. 177–180, 1996.
- RADCLIFFE, R. M. et al. The clinical value of whole blood point-of-care biomarkers in large animal emergency and critical care medicine. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 25, n. 1, p. 138–151, 2015.
- RANGEL, A. H. N. et al. Utilização de ionóforos na produção de ruminantes. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, n. 1, p. 264–273, 2008.
- REICHERT NETO, N. C. Fistulação ruminal em ovinos. In: ANAIS DO 15º CONGRESSO

- PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS 1996, Campo Grande, MS. **Anais...** Campo Grande, MS: CBC - Cia Brasileira de Comunicações, 1996.
- REIS, L. F. et al. Prevention of acute ruminal lactic acidosis in sheep by probiotic or monensin supplementation: Clinical aspects. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 4, p. 1575–1583, 2018a.
- REIS, L. F. et al. Comparative assessment of probiotics and monensin in the prophylaxis of acute ruminal lactic acidosis in sheep. **BMC Veterinary Research**, v. 14, n. 1, p. 1–8, 2018b.
- SALLES, M. S. V.; LUCCI, C. S. Monensina para Bezerros Ruminantes em Crescimento Acelerado. 1. Desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 2, p. 573–581, 2000a.
- SALLES, M. S. V.; LUCCI, C. S. Monensina para Bezerros Ruminantes em Crescimento Acelerado. 2. Digestibilidade e Parâmetros Ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 2, p. 582–588, 2000b.
- SEESUPA, S.; WACHIRAPAKORN, C.; AIUMLAMAI, S. Effects of induced subacute ruminal acidosis and laminitis on lipopolysaccharide binding protein, cortisol and progesterone levels in dairy heifers. **Thai Journal of Veterinary Medicine**, v. 47, n. 4, p. 501–511, 2017.
- SINGH, V. et al. Cardiac biomarkers - The old and the new: A review. **Coronary Artery Disease**, v. 21, n. 4, p. 244–256, 2010.
- SMITH, M. C.; SHERMAN, D. M. **Goat Medicine**. 2. ed. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2009.
- SNYDER, E.; CREDILLE, B. Diagnosis and Treatment of Clinical Rumen Acidosis. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 33, n. 3, p. 451–461, 2017.
- VARGA, A. et al. Preliminary investigation of cardiac troponin i concentration in cows with common production diseases. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 6, p. 1613–1621, 2013.
- YONEZAWA, L. A. et al. Marcadores cardíacos na medicina veterinária. **Ciência Rural**, v. 40, n. 1, p. 1–9, 2010.

1 4.2 ARTIGO 2<sup>1</sup>2  
3 **Hemogasometry, cardiac biomarkers and blood metabolites in goats with experimentally**  
4 **induced acute ruminal lactic acidosis**5  
6 Ana Clara Sarzedas Ribeiro<sup>a,\*</sup>, Ângela Imperiano da Conceição<sup>a</sup>, Gliére Silmara Leite Soares<sup>b</sup>,  
7 Felipe Rosendo Correia<sup>b</sup>, José Paes de Oliveira-Filho<sup>c</sup>, Pierre Castro Soares<sup>d</sup>, Carla Lopes de  
8 Mendonça<sup>e</sup>, José Augusto Bastos Afonso<sup>e</sup>9  
10 *<sup>a</sup> Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE), Garanhuns Academic Unit,*  
11 *Postgraduate Program in Sanity and Reproduction of Production Animals, Av. Bom Pastor,*  
12 *s/n, Garanhuns, PE, 55292-272, Brazil*13 *<sup>b</sup> Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE), Postgraduate Program in Veterinary*  
14 *Medicine, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Campus Dois Irmãos, Recife, PE, 52171-900,*  
15 *Brazil*16 *<sup>c</sup> Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Department of Clinical*  
17 *Veterinary Sciences, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Campus de*  
18 *Botucatu, Rua Prof. Dr. Walter Maurício Correa, s/n, Botucatu, SP, 18618-681, Brazil*19 *<sup>d</sup> Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE), Department of Veterinary Medicine,*  
20 *Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Campus Dois Irmãos, Recife, PE, 52171-900, Brazil*21 *<sup>e</sup> Garanhuns Bovine Clinic, Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE), Av. Bom*  
22 *Pastor, s/n, CP 152, Garanhuns, PE, 55292-272, Brazil*23 *\*Corresponding Author.*24 *E-mail: ac\_sarzedas@id.uff.br (A.C.S. Ribeiro).*

---

<sup>1</sup> O artigo foi submetido à revista Small Ruminant Research.

25 **Highlights**

- 26 • Supplying 15g/Kg live weight of sucrose induces acute ruminal lactic acidosis in  
27 goats.
- 28 • The fall in ruminal pH below five led to manifestations of clinical signs and alterations  
29 in blood metabolites characteristic of the disease.
- 30 • Goats with acute ruminal lactic acidosis presented transient metabolic alkalosis and,  
31 subsequently, metabolic acidosis.
- 32 • The severity of the disease presented was not sufficient to cause cardiac injury or  
33 elevation in CK-MB and cTnI biomarkers.

**34 Abstract**

35 Considering that the metabolic disorders associated with acute ruminal lactic acidosis (ARLA)  
36 may cause some degree of cardiovascular injury, the present study aimed to evaluate the  
37 hemogasometry, concentrations of the creatine kinase isoenzyme MB (CKMB), cardiac  
38 troponin I (cTnI), and blood variables in goats with experimental ARLA. The disease was  
39 induced in five goats through intraruminal supply of 15g sucrose/Kg live weight. Before  
40 induction and 4h, 8h, 12h, 24h, 48h, 72h, and 168h post-induction (PI), clinical examination,  
41 ruminal fluid analysis, hemogasometry analysis, and measurement of AST, CK, CK-MB, cTnI,  
42 GGT, LDH, and L-lactate in the blood of these animals were performed. The goats  
43 demonstrated clinical presentation of ALRA; the ruminal pH decreased from 4h to 48h PI, with  
44 the lowest mean at 12h PI. Acid-base and electrolyte imbalances occurred, with transient  
45 metabolic alkalosis preceding a metabolic acidosis presentation. Serum sodium concentration  
46 increased, and potassium presented an initial elevation followed by hypokalemia. L-lactate and  
47 LDH increased and there were no alterations in cTnI or CK-MB biomarker concentrations after  
48 induction. The evaluation of blood biochemistry aided in the diagnosis and monitoring of  
49 ALRA in goats and the severity of the clinical condition induced by this experimental model  
50 did not cause cardiac injury.

51

52 *Key-words:* Acid-base balance, Blood gas, Cardiac troponin I, Creatine kinase MB,  
53 Electrolytes, Ruminal acidosis



## 54 **Introduction**

55           Goat farming has been consolidating as a source of income for small and large  
56 producers, especially in semiarid regions. To reach the high production rates and demands of  
57 the consumer market, the feed management of these animals has been modified, especially  
58 during periods of drought and food shortage, exposing them to the risk of disease development  
59 due to inadequate feed supplementation, with inadequate raw material, abusively or without  
60 adaptation, highlighting in this context the occurrence of rumen lactic acidosis (Batista and  
61 Souza, 2015; Silva et al., 2010; Vieira et al., 2006).

62           Acute ruminal lactic acidosis (ALRA) is a nutritional and metabolic disorder caused by  
63 excessive consumption of easily fermentable carbohydrates, abruptly and without prior  
64 adaptation. The fermentation of these carbohydrates in the rumen by amylolytic bacteria and  
65 lactic acid producing bacteria, mainly *Streptococcus bovis* and *Lactobacillus* spp., causes  
66 increased production and accumulation of volatile fatty acids (VFAs) and lactic acid, resulting  
67 in a drop in ruminal pH to critical values (Jaramillo-López et al., 2017; Nagaraja and  
68 Lechtenberg, 2007; Owens et al., 1998; Snyder and Credille, 2017).

69           Excessive absorption of rumen lactic acid into the bloodstream and alterations in fluid  
70 and electrolyte balance associated with ARLA trigger metabolic acidosis, characterized by  
71 decreased pH and blood bicarbonate concentration (Cao et al., 1987; Haji Hajikolaei et al.,  
72 2006; Sabes et al., 2017). Measurement of blood gases and electrolytes provides important  
73 information for the diagnosis, prognosis, and treatment of animals suffering from ruminal  
74 acidosis (Carlson and Bruss, 2008).

75           Acid-base and electrolyte disturbances and other secondary complications of ALRA  
76 also appear to be associated with some degree of cardiovascular injury. Recent studies have  
77 sought to evaluate the relationship between cardiac injury and ruminal acidosis in small  
78 ruminants by measuring blood cardiac biomarkers in animals affected by the disease

79 (Fartashvand and Haji-Sadeghi, 2017; Joshi et al., 2017; Kirbas et al., 2014a), however, this  
80 hypothesis is not yet completely elucidated.

81 Blood biomarkers of cardiac injury, such as creatine kinase isoenzyme MB (CK-MB)  
82 and cardiac troponin I (cTnI), are used in human medicine for diagnosis, therapeutic evaluation,  
83 and prognostic determination in patients with heart disease or other critical illnesses (Alatassi  
84 et al., 2018; Antman, 2002; Singh et al., 2010). The diagnostic value of the measurement of  
85 these markers has been consolidated in veterinary medicine and they have been used to evaluate  
86 the presence of myocardial injury in ruminants affected by primary heart disease or non-cardiac  
87 disorders, demonstrating a relationship with severity and prognosis (Chalmeh et al., 2013;  
88 Maden et al., 2012; Soares et al., 2019; Souza et al., 2019; Suzuki et al., 2012; Varga et al.,  
89 2013, 2009).

90 Experimental studies addressing the consequences of ALRA in goats are scarce in the  
91 literature, especially about the presence of cardiac injury related to acid-base and electrolyte  
92 imbalances. Therefore, the aim of the present study was to evaluate alterations in  
93 hemogasometry analysis, blood metabolite concentration, and CK-MB and cTnI biomarkers in  
94 goats with experimental ALRA.

95

## 96 **Materials and methods**

97

### 98 *Experimental design*

99 The experimental design was submitted to and approved by the Ethics Committee on  
100 the Use of Animals of the Federal Rural University of Pernambuco (CEUA/UFRPE) under  
101 license number 14/2019. The study was conducted in the experimental pen for small ruminants  
102 of the Garanhuns Bovine Clinic (CBG), UFRPE *Campus*, Garanhuns, PE, Brazil. Laboratory  
103 analyzes were performed at the Clinical Laboratory of CBG/UFRPE, at the Research Support

104 Center (CENAPESQ) and at the Laboratory of Nutritional and Metabolic Diseases of  
105 Ruminants, Department of Veterinary Medicine, UFRPE, Recife, PE.

106 Five male castrated goats, Anglo Nubian and Saanen crossbreeds, with a mean body  
107 weight of 35 kg, clinically healthy, and with permanent ruminal cannulas were used. A period  
108 of 30 days was instituted to adapt the animals to the experimental conditions. During this period  
109 and the entire experimental phase the goats received a daily diet based on grasses (*Pennisetum*  
110 *purpureum* and *Cynodon* spp.), 300g of commercial pellet feed (Max Caprino Crescimento,  
111 DuRancho Nutrição Animal, Brazil), mineral salt (Caprinofós, Tortuga, Brazil), and water *ad*  
112 *libitum*.

113 Ruminal acidosis was induced through intraruminal administration of sucrose at a dose  
114 of 15g/Kg live weight (Cakala et al., 1974). Twenty-four hours prior to induction, constituting  
115 the basal moment (MB), and at intervals of 4h, 8h, 12h, 24h, 48h, 72h, and 168h post-induction  
116 (PI), clinical examination and collection of ruminal fluid and blood samples were performed.

117

#### 118 *Clinical examination*

119 The clinical examination was performed according to Smith and Sherman (2009) and  
120 characteristics such as attitude, behavior, mucosal color, degree of dehydration, rectal  
121 temperature, heart and respiratory rates, appetite, reticulum-ruminal motility, and feces  
122 appearance were evaluated.

123

#### 124 *Ruminal fluid analysis*

125 Samples of approximately 200mL of ruminal fluid were obtained through the ruminal  
126 cannula with the aid of a flexible plastic tube, packed in isothermal bottles, and immediately  
127 sent for analysis. Following the guidelines of Miranda Neto et al. (2005), the population of  
128 rumen protozoa, physical characteristics such as color, odor, and consistency, the methylene

129 blue reduction test (MBRT), and pH, using a digital pH meter, (pH-100, PHTEK) were  
130 evaluated.

131

### 132 *Hemogasometry*

133 For hemogasometry analysis, whole blood samples were collected by jugular  
134 venipuncture using a 25mm x 0.8mm disposable needle coupled to a 1mL plastic syringe, as  
135 described by Sucupira and Ortolani (2003). Measurements of pH, oxygen partial pressure (pO<sub>2</sub>),  
136 carbon dioxide partial pressure (pCO<sub>2</sub>), total carbon dioxide (tCO<sub>2</sub>), bicarbonate concentration  
137 (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), base excess/deficit (BE), oxygen saturation (sO<sub>2</sub>), Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, ionized calcium (iCa) were  
138 performed immediately after collection, using a portable hemogasometry analysis device  
139 (iStat®, Abbot Diagnósticos, São Paulo, Brazil), with a commercial cartridge (CG8+®, Abbot  
140 Diagnósticos, São Paulo, Brazil), and following the manufacturer's recommendations.

141

### 142 *Blood biochemistry*

143 Venous blood samples were obtained in sterile vacuum tubes (BD Vacutainer, Becton  
144 Dickinson Ind. Cir. Ltda.) with sodium fluoride/potassium oxalate and without anticoagulant  
145 to obtain plasma and serum, respectively. These samples were stored in a freezer at -80°C for  
146 further laboratory processing.

147 Serum creatine kinase enzymes activity (CK-NAC Liquiform, Labtest Diagnostics  
148 S.A.), aspartate aminotransferase (AST/GOT Liquiform, Labtest Diagnostics S.A.), gamma  
149 glutamyltransferase (Gama GT Liquiform, Labtest Diagnostics S.A.), lactate dehydrogenase  
150 (LDH Liquiform, Labtest Diagnostics S.A.), and L-lactate plasma concentration (Lactato  
151 Enzimático, Labtest Diagnostics S.A.) were evaluated in a semi-automatic analyzer (BIO  
152 2000/Labquest, Bioplus Produtos Para Laboratórios Ltda.). Serum creatine kinase isoenzyme  
153 MB activity (CK-MB Liquiform, Labtest Diagnostics S.A.) was determined using an automated

154 biochemical analyzer (Labmax 240, Labtest Diagnostics S.A.) and cTnI serum concentration  
155 (Access AccuTnI, Beckman Coulter) was determined by chemiluminescent immunoassay  
156 (Access 2 Immunoassay System, Beckman Coulter).

157

### 158 *Statistical analysis*

159 For statistical analysis, data were initially tested for normal distribution using the  
160 Kolmogorov-Smirnov test. Variables that did not meet the normality assumptions were  
161 submitted to logarithmic ( $\log_{10}$ ) or radical ( $x+1$ ) transformation. Next, the data were submitted  
162 to analysis of variance (ANOVA) using the General Linear Model (GLM) procedure of the  
163 MINITAB 18 statistical program. If the ANOVA F test was significant, the contrast between  
164 the means was performed by the minimum significant difference (m.s.d.) of the Tukey test. A  
165 significance level of 5% was considered for all analyzes.

166

### 167 **Results**

168 ALRA induction with 15g sucrose/Kg live weight caused alterations in clinical signs  
169 from 4h PI, mainly from 8h to 24h PI. At these moments, the animals presented sternal  
170 decubitus, apathy, capricious to absent appetite, moderate to severe dehydration, enophthalmia,  
171 and polypnea. The respiratory rate presented no significant differences between the moments  
172 ( $P>0.05$ ). Heart rate increased ( $P=0.0106$ ) at 12 and 24h PI and rectal temperature increased  
173 ( $P=0.0441$ ) at 8h PI (Table 1). Examination of the rumen revealed reduced motility or atony, a  
174 predominance of the liquid stratum and tympanism, and the feces became pasty or diarrheal.  
175 Four animals presented signs of laminitis, with increased sensitivity and hyperthermia of  
176 hooves with lameness and reluctance to walk. Clinical recovery occurred from 72h and at 168h  
177 all clinical parameters were physiological for the species; no animals died.

178 Examination of the ruminal fluid revealed alterations in physical characteristics from 4h  
179 PI, especially from 8h to 48h PI, when the appearance became milky, with an acid odor and  
180 aqueous consistency. The percentage of live infusoria decreased from 4h, with the absence of  
181 infusoria at 8h and 12h PI. MBRT did not occur within 15 minutes from 8h to 24h. Ruminal  
182 pH decreased ( $P<.0001$ ) from 4h to 48h PI, with the lowest mean value of 4.70 at 12h PI (Figure  
183 1). At 72h PI the ruminal fluid characteristics had returned to normal, except for the percentage  
184 of live infusoria which was still low in most animals up to 168h PI.

185 With respect to hemogasometric variables, blood pH increased at 4h and 8h PI, however,  
186 at 12h PI there was a significant reduction ( $P=0.0093$ ), with subsequent return to baseline  
187 values. The  $p\text{CO}_2$  significantly reduced ( $P=0.0029$ ) at 24h PI. There was an increase at 4h PI,  
188 followed by a significant reduction at 12h and 24h PI in the variables  $\text{HCO}_3^-$  ( $P=0.0045$ ), BE  
189 ( $P=0.0055$ ), and  $t\text{CO}_2$  ( $P=0.0053$ ). The blood concentration of  $\text{Na}^+$  was increased ( $P<.0001$ ) at  
190 4h and 8h PI, while the concentration of  $\text{K}^+$  was increased at 8h and 12h PI and decreased  
191 ( $P=0.0025$ ) at 48h and 72h PI. No alterations were observed in the values of  $p\text{O}_2$ ,  $s\text{O}_2$ , or  $i\text{Ca}$   
192 ( $P>0.05$ ) during the period studied (Table 2).

193 After ALRA induction, plasma L-lactate ( $P=0.0039$ ) and LDH ( $P=0.0005$ ) increased,  
194 both with maximum values at 24h PI. Serum concentrations of cTnI, CK-MB, creatine kinase  
195 (CK), AST, and GGT presented no significant alterations ( $P>0.05$ ) between the studied  
196 moments (Table 3).

197

## 198 Discussion

199 The clinical signs presented after sucrose administration characterized an acute ruminal  
200 lactic acidosis. These signs coincided with the decline in ruminal pH to values  $<5.0$ ,  
201 corroborating the findings of other experimental studies (Câmara et al., 2013; Miranda Neto et  
202 al., 2005; Reis et al., 2018a; Silva et al., 2013). This condition is due to the accumulation of

203 lactic acid in the rumen, resulting from the fermentation of the supplied substrate by rumen  
204 bacteria, which causes a drop in pH, increased ruminal osmolarity, and, consequently, inflow  
205 of intra and extravascular fluids to the rumen. Associated with this, there is absorption into the  
206 bloodstream of lactate and bacterial endotoxins present in the rumen (Nagaraja and  
207 Lechtenberg, 2007; Owens et al., 1998). This clinical status, characterized by hydroelectrolytic  
208 imbalance, endotoxemia, and metabolic acidosis determines the clinical manifestations  
209 observed in goats in the current study. The onset of clinical recovery followed the return of  
210 ruminal pH to baseline, occurring in a similar time to that reported by Afonso et al. (2005) and  
211 higher than that reported by Miranda Neto et al. (2005), who used the same sucrose dose to  
212 induce ALRA in sheep and goats, respectively.

213         The findings from the ruminal fluid examination after ALRA induction are  
214 characteristic of the disease and alterations in the physical properties of ruminal fluid are related  
215 to lactic acid accumulation and increased osmolarity (Miranda Neto et al., 2011, 2005).  
216 Changes in the rumen environment also compromise its microbiota, especially when the pH  
217 drops below 5.0. Under these conditions there is microbial inactivity and death of all protozoa,  
218 as observed in the current study in which retardation of MBRT and the absence of live infusoria  
219 were observed at moments with ruminal pH <5.0. Significant reduction in ruminal pH between  
220 4h and 48h PI corroborates the results of other authors (Afonso et al., 2005; Cao et al., 1987;  
221 Haji Hajikolaei et al., 2006). The increase in ruminal pH to basal values allowed the gradual  
222 restoration of the ruminal environment and return to normality of the other ruminal fluid  
223 characteristics after 72h PI, except for the protozoan population, which remained reduced until  
224 the end of the observations, as also reported by Miranda Neto et al. (2005).

225         In the hemogasometry evaluation, it was found that 4h PI there was metabolic alkalosis  
226 with elevation of blood pH,  $\text{HCO}_3^-$ , and BE. However, this status was transient and from 12h  
227 PI began a metabolic acidosis, with significant reduction in the values of these variables and

228 recovery from 24h PI. Other authors have reported the occurrence of metabolic alkalosis  
229 preceding metabolic acidosis in studies on ALRA induction in small ruminants (Cao et al.,  
230 1987; Haji Hajikolaei et al., 2006; Sabes et al., 2017).

231 In ALRA, digestion of easily fermentable carbohydrates produces large amounts of  
232 lactic acid that dissociate into lactate and  $H^+$ , which are absorbed into the bloodstream (Maruta  
233 and Ortolani, 2002; Møller et al., 1997). In the first hours after the onset of the disorder, the  
234 absorbed rumen lactate is metabolized by the liver into  $HCO_3^-$ , increasing the concentration of  
235 this ion in the blood. However, if the amount of lactate absorbed exceeds the hepatic  
236 metabolism capacity, this acid accumulates, causing a reduction in blood pH (Cao et al., 1987;  
237 Dehkordi and Dehkordi, 2011). The  $H^+$  that accumulates in the blood is initially buffered by  
238  $HCO_3^-$  and other buffers, producing  $CO_2$  and increasing  $tCO_2$ . In this process, there is  
239 consumption of reserves of  $HCO_3^-$  and reduction in blood pH, characterizing metabolic acidosis  
240 (Klein, 2014), as observed in the current study.

241 The reduction in  $pCO_2$  at 24h PI is due to the decline in blood pH, which stimulates  
242 respiratory compensation mechanisms, increasing alveolar ventilation and the elimination of  
243  $CO_2$  from the lungs. As a result, there is a decrease in  $pCO_2$  and  $tCO_2$ , and pH normalization  
244 (Reece et al., 2017). After blood pH had been restored, this mechanism ceased and  $pCO_2$   
245 returned to basal values, similar to that observed by Haji Hajikolaei et al. (2006) and Sabes et  
246 al. (2017). The values of  $pO_2$  and  $sO_2$  did not change after disease induction, however,  
247 hemogasometry variables were obtained in venous blood (Sucupira and Ortolani, 2003).

248 Metabolic acidosis occurred at the moments when the animals had lower ruminal pH  
249 values, reinforcing that the association of these variables is responsible for the systemic  
250 alterations and clinical signs observed in goats, which were also more severe at these moments.

251 The transient hypernatremia observed in the early moments of ALRA has also been  
252 reported in other experimental goat studies (Cao et al., 1987; Gupta et al., 2012) and is related



253 to severe dehydration associated with the disease, resulting from fluid mobilization to the  
254 gastrointestinal tract (Carlson and Bruss, 2008).

255 There is an interrelation between the ions  $H^+$  and  $K^+$  in acid-base homeostasis. In  
256 metabolic acidosis, to compensate for excessive elevation of  $H^+$ , this ion moves into the cells,  
257 replacing the  $K^+$  which goes out into the extracellular space and can cause hyperkalemia. When  
258 acidosis is compensated, the opposite process occurs, however the extracellular potassium  
259 reserve may not be able to supply the intracellular deficit of this ion, resulting in hypokalemia  
260 (Klein, 2014; Reece et al., 2017). This corroborates the findings of the current study, in which  
261 there was an increase in the concentrations of  $K^+$  at 8h and 12h and hypokalemia at 48h and  
262 72h PI.

263 Anorexia and loss of potassium to the gastrointestinal tract due to diarrhea may also  
264 have contributed to the occurrence of hypokalemia (Carlson and Bruss, 2008). Other authors  
265 have also reported hypokalemia in animals with ALRA (Gupta et al., 2012; Minuti et al., 2014;  
266 Nikolov, 1998). The concentrations of  $iCa$  remained constant throughout the study,  
267 corroborating the findings of Cao et al. (1987).

268 Plasma L-lactate elevation accompanied ruminal pH reduction, which has also been  
269 reported in other studies (Patra et al., 1996; Reis et al., 2018b). Hyperlactatemia results from  
270 the absorption of this lactate isomer into the bloodstream, produced in large quantities in the  
271 rumen during the disease (Maruta and Ortolani, 2002). The intense sequestration of fluid into  
272 the rumen that occurs during the course of the disease causes diarrhea, severe dehydration, and  
273 tissue hypoxia secondary to hypoperfusion. Consequently, anaerobic cellular metabolism may  
274 occur in the peripheral tissues, which also contributes to hyperlactatemia (Allen and Holm,  
275 2008; Snyder and Credille, 2017).

276 Elevation in serum LDH activity after ALRA induction may be related to excessive  
277 blood lactate concentrations and their detrimental effects on skeletal and cardiac muscles (Lal

278 et al., 1991). In the current study, both LDH and L-lactate were elevated at 24h, strengthening  
279 this hypothesis. However, LDH is a highly nonspecific enzyme with great activity in different  
280 tissues such as skeletal muscle, myocardium, liver, erythrocytes, kidneys, bones, and lungs and  
281 only the measurement of its isoenzymes, which is not used in the veterinary routine, could  
282 precisely clarify the origin of the lesions (Allison, 2015; González and Silva, 2017; Valberg,  
283 2008).

284 The serum activity of the enzymes CK, AST, and GGT did not alter during the  
285 experimental period. These findings corroborate those found by Vieira et al. (2012) and  
286 Almeida et al. (2008) in sheep and goats affected by ALRA, respectively. On the other hand,  
287 other authors (Chehreh and Fartashvand, 2014; Lal et al., 1991; Patra et al., 1996) reported  
288 elevation of these enzymes in animals with ALRA, suggesting muscle and liver injuries  
289 associated with the disease, which was not found in the current study.

290 Serum biomarkers of cardiac injury did not change after disease induction, disagreeing  
291 with other authors (Fartashvand and Haji-Sadeghi, 2017; Joshi et al., 2017; Kirbas et al., 2014a)  
292 who reported cTnI and CK-MB elevation in goats and sheep with a severe clinical presentation  
293 of ALRA, suggesting cardiac injury in these animals. Possible causes of myocardial injury in  
294 ALRA-affected animals include severe dehydration, systemic metabolic acidosis, endotoxemia,  
295 exacerbated production of reactive oxygen species, and inflammatory cytokines (Chalmeh et  
296 al., 2013; Jafari-dehkordi et al., 2011; Joshi et al., 2017; Kirbas et al., 2014a, 2014b).

297 Induction of disease in goats at a dose of 10g sucrose/Kg live weight caused a mild  
298 rumen lactic acidosis, which was not sufficient to elevate cTnI and CK-MB (Ribeiro et al.,  
299 2020). The use of a higher dose (15g sucrose/Kg live weight) in the present study also did not  
300 increase the concentrations of these biomarkers, although it did cause a decrease in ruminal pH  
301 to critical values below 5.0 and a more severe clinical presentation compared to the previous  
302 study. Thus, there seems to be a relationship between the severity of ALRA and the occurrence

303 of cardiac injury as observed in the study by Fartashvand and Haji-Sadeghi (2017) in which  
304 sheep which presented the highest cTnI concentrations also presented a ruminal pH <4.5, and  
305 acute death. Joshi et al. (2017) and Kirbas et al. (2014a) also observed mortality greater than  
306 30% in their studies, reinforcing the hypothesis that elevation in cardiac biomarkers in ALRA  
307 is associated with extremely severe clinical presentation and an unfavorable prognosis.

308

### 309 **Conclusion**

310 The experimental model used induced acute ruminal lactic acidosis, as well as metabolic  
311 acidosis and electrolyte imbalance, however no alterations in the values of the biomarkers CK-  
312 MB and cTnI were observed, demonstrating that the intensity of the clinical manifestation  
313 presented by goats was not sufficient to cause cardiac injury. Thus, the use of blood metabolites  
314 for the diagnosis and monitoring of ruminal acidosis proved to be efficient and further studies  
315 may reinforce the hypothesis that CK-MB and cTnI are potential prognostic indicators in this  
316 disease.

317

### 318 **Acknowledgements**

319 The authors would like to thank the Coordination for the Improvement of Higher  
320 Education Personnel (CAPES) and Science and Technology Support Foundation of  
321 Pernambuco State (FACEPE) for the financial support and post-graduate grant.

322

### 323 **References**

324 Afonso, J.A.B., Rubens, M.G.K., Pereira, L.Z.F., Braga, C.L., Kohayagawa, A., Lopes, C.M.,  
325 Kiomi, R.T., 2005. Avaliação do uso da monensina sódica na prevenção da acidose  
326 láctica ruminal experimental em ovinos. *Veterinária Notícias* 11, 35–43.  
327 Alatassi, A., Habbal, M., Tamim, H., Sadat, M., Al Qasim, E., Arabi, Y.M., 2018. Association

- 328 between troponin-I levels and outcome in critically ill patients admitted to non-cardiac  
329 intensive care unit with high prevalence of cardiovascular risk factors. *BMC*  
330 *Anesthesiol.* 18, 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12871-018-0515-7>
- 331 Allen, S.E., Holm, J.L., 2008. Lactate: Physiology and clinical utility. *J. Vet. Emerg. Crit.*  
332 *Care* 18, 123–132. <https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.2008.00286.x>
- 333 Allison, R.W., 2015. Detecção Laboratorial das Lesões Musculares, in: Thrall, M.A., Weiser,  
334 G., Allison, R.W., Campbell, T.W. (Eds.), *Hematologia e Bioquímica Clínica*  
335 *Veterinária*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, pp. 412–415.
- 336 Almeida, M.Z.P.R.B., Mendonça, C.L., Afonso, J.A.B., Miranda Neto, E.G., 2008. Estudo  
337 clínico, hematológico e bioquímico em caprinos submetidos à acidose láctica ruminal  
338 induzida experiment almente. *Veterinária e Zootec.* 15, 100–113.
- 339 Antman, E.M., 2002. Decision Making with Cardiac Troponin Tests. *N. Engl. J. Med.* 346,  
340 2079–2082. <https://doi.org/10.1056/NEJMe020049>
- 341 Batista, N.L., Souza, B.B., 2015. Caprinovinocultura no semiárido brasileiro - fatores  
342 limitantes e ações de mitigação. *Agropecuária Científica no Semiárido* 11, 01–09.  
343 <https://doi.org/dx.doi.org/10.30969/acsa.v11i1.522>
- 344 Cakala, S., Borkowski, T., Albrycht, A., 1974. Rumen acidosis in Sheep induced with  
345 different doses of saccharose. *Pol. Arch. Weter.* 17, 117–130.
- 346 Câmara, A., Afonso, J.A.B., Mendonça, C.L., Vieira, A.C.S., 2013. Efeito da salinomicina na  
347 prevenção da acidose láctica ruminal experimental em ovinos. *Cienc. Anim. Bras.* 14,  
348 65–73. <https://doi.org/10.5216/cab.v14i1.3792>
- 349 Cao, G.R., English, P.B., Filippich, L.J., Inglis, S., 1987. Experimentally induced lactic  
350 acidosis in the goat. *Aust. Vet. J.* 64, 367–370. [https://doi.org/10.1111/j.1751-](https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1987.tb09605.x)  
351 [0813.1987.tb09605.x](https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1987.tb09605.x)
- 352 Carlson, G.P., Bruss, M., 2008. Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Balance, in: Kaneko, J.J.,

- 353 Harvey, J.W., Bruss, M.. (Eds.), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Elsevier,  
354 San Diego, pp. 529–559. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370491-7.X0001-3>
- 355 Chalmeh, A., Pourjafar, M., Badiei, K., Nazifi, S., 2013. Correlations among cardiac  
356 biomarkers in sheep with experimentally induced endotoxaemia. *Bulg. J. Vet. Med.* 16,  
357 123–132.
- 358 Chehreh, H., Fartashvand, M., 2014. Evaluation of Hepatic Function Markers of Serum in  
359 Dairy Cattle With Lactic Acidosis 4, 455–460.
- 360 Dehkordi, A.J., Dehkordi, Z.K., 2011. Occurrence of metabolic alkalosis in rumen lactic  
361 acidosis: A review article. *Comp. Clin. Path.* 20, 1–3. [https://doi.org/10.1007/s00580-](https://doi.org/10.1007/s00580-010-1129-8)  
362 010-1129-8
- 363 Fartashvand, M., Haji-Sadeghi, Y., 2017. Evaluation of serum cardiac biomarkers in sheep  
364 with acute lactic acidosis. *J. Hell. Vet. Med. Soc.* 68, 219–224.  
365 <https://doi.org/10.12681/jhvms.15608>
- 366 González, F.H.D., Silva, S.C., 2017. *Introdução a Bioquímica Veterinária*, 3rd ed. Editora  
367 UFRGS, Porto Alegre.
- 368 Gupta, S.R., Yadav, R., Sharma, C.S., Gattani, A., 2012. Dietary induced metabolic acidosis  
369 in goats and its successful therapeutic management. *Vet. Pract.* 13, 312–314.
- 370 Haji Hajikolaei, M.R., Nouri, M., Saberi Afshar, F., Jafari Dehkordi, A., 2006. Effects of  
371 experimentally induced ruminal lactic acidosis on blood pH, bicarbonate and pCO<sub>2</sub> in  
372 the sheep. *Pakistan J. Biol. Sci.* 9, 2003–2005.  
373 <https://doi.org/10.3923/pjbs.2006.2003.2005>
- 374 Jafari-dehkordi, A., Haji-Hajikolaei, M.R., Karimi-Dehkordi, Z., 2011. ECG Changes in  
375 Acute Experimental Ruminal Lactic Acidosis in Sheep. *Vet. Res. Forum* 2, 203–208.
- 376 Jaramillo-López, E., Itza-Ortiz, M.F., Peraza-Mercado, G., Carrera-Chávez, J.M., 2017.  
377 Ruminal acidosis: Strategies for its control. *Austral J. Vet. Sci.* 49, 139–148.

- 378 <https://doi.org/10.4067/S0719-81322017000300139>
- 379 Joshi, V., Dimri, U., Gopalakrishnan, A., Ajith, Y., Alam, S., Gupta, V.K., Raguvaran, R.,  
380 2017. Evaluation of oxidant-antioxidant status, serum cytokine levels and some cardiac  
381 injury biomarkers in acute ruminal lactic acidosis in goats. *Small Rumin. Res.* 149, 6–10.  
382 <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.01.003>
- 383 Kirbas, A., Baydar, E., Kizil, O., Kandemir, F.M., Dorman, E., Yildirim, B.A., 2014a.  
384 Evaluation of serum cardiac troponin I concentration in sheep with acute ruminal lactic  
385 acidosis. *Vet. Arh.* 84, 355–364.
- 386 Kirbas, A., Yildirim, B.A., Baydar, E., Kandemir, F.M., 2014b. Status of lipid peroxidation  
387 and some antioxidants in sheep with acute ruminal lactic acidosis. *Med. Weter.* 70, 357–  
388 361.
- 389 Klein, B.G., 2014. *Cunningham Tratado de fisiologia veterinária*, 5th ed. Elsevier, Rio de  
390 Janeiro.
- 391 Lal, S.B., Swarup, D., Dwivedi, S.K., Sharma, M.C., 1991. Biochemical alterations in serum  
392 and cerebrospinal fluid in experimental acidosis in goats. *Res. Vet. Sci.* 50, 208–210.  
393 [https://doi.org/10.1016/0034-5288\(91\)90108-Z](https://doi.org/10.1016/0034-5288(91)90108-Z)
- 394 Maden, M., Ozturk, A.S., Bulbul, A., Avci, G.E., Yazar, E., 2012. Acute-Phase Proteins,  
395 Oxidative Stress and Enzyme Activities of Blood Serum and Peritoneal Fluid in Cattle  
396 with Abomasal Displacement. *J. Vet. Intern. Med.* 26, 1470–1475.  
397 <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.01018.x>
- 398 Maruta, C.A., Ortolani, E.L., 2002. Susceptibilidade de bovinos das raças jersey e gir à  
399 acidose láctica ruminal: II - Acidose metabólica e metabolização do lactato-L. *Ciência*  
400 *Rural* 32, 61–65. <https://doi.org/10.1590/s0103-84782002000100011>
- 401 Minuti, A., Ahmed, S., Trevisi, E., Piccioli-Cappelli, F., Bertoni, G., Jahan, N., Bani, P.,  
402 Ahmed, S., 2014. Experimental acute rumen acidosis in sheep: Consequences on clinical,

- 403 rumen, and gastrointestinal permeability conditions and blood chemistry. *J. Anim. Sci.*  
404 92, 3966–3977. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-7594>
- 405 Miranda Neto, E.G., Silva, S.T.G., Mendonça, C.L., Drummond, A.R.F., Afonso, J.A.B.,  
406 2011. Aspectos clínicos e a bioquímica ruminal de caprinos submetidos à acidose láctica  
407 experimental e suplementados ou não com monensina sódica. *Pesqui. Veterinária Bras.*  
408 31, 416–424. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2011000500009>
- 409 Miranda Neto, E.G., Afonso, J.A.B., Mendonça, C.L., Almeida, M.Z.P.R.B., 2005. Estudo  
410 clínico e características do suco ruminal de caprinos com acidose láctica induzida  
411 experimentalmente. *Pesqui. Veterinária Bras.* 25, 73–78. [https://doi.org/10.1590/S0100-](https://doi.org/10.1590/S0100-736X2005000200002)  
412 [736X2005000200002](https://doi.org/10.1590/S0100-736X2005000200002)
- 413 Møller, P.D., Diernæs, L., Sehested, J., Hyldgaard-Jensen, J., Skadhauge, E., 1997.  
414 Absorption and fate of L- and D-lactic acid in ruminants. *Comp. Biochem. Physiol. - A*  
415 *Physiol.* 118, 387–388. [https://doi.org/10.1016/S0300-9629\(96\)00325-8](https://doi.org/10.1016/S0300-9629(96)00325-8)
- 416 Nagaraja, T.G., Lechtenberg, K.F., 2007. Acidosis in Feedlot Cattle. *Vet. Clin. North Am. -*  
417 *Food Anim. Pract.* 23, 333–350. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.04.002>
- 418 Nikolov, Y., 1998. Clinical experimental studies on acute rumen acidosis in buffaloes  
419 (*Bubalus bubalis* L.). IV. Influence of acidosis on blood, rumen liquid and urine  
420 electrolytes. *Vet. Arh.* 68, 1–9.
- 421 Owens, F.N., Secrist, D.S., Hill, W.J., Gill, D.R., 1998. Acidosis in Cattle: A Review. *J.*  
422 *Anim. Sci.* 76, 275–286. <https://doi.org/10.2527/1998.761275x>
- 423 Patra, R.C., Lal, S.B., Swarup, D., 1996. Biochemical profile of rumen liquor, blood and urine  
424 in experimental acidosis in sheep. *Small Rumin. Res.* 19, 177–180.  
425 [https://doi.org/10.1016/0921-4488\(95\)00743-1](https://doi.org/10.1016/0921-4488(95)00743-1)
- 426 Reece, W.O., Erickson, H.H., Goff, J.P., Uemura, E.E. (Eds.), 2017. *Dukes Fisiologia dos*  
427 *Animais Domésticos*, 13th ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

- 428 Reis, L.F., Araujo, C.A.S.C., Sousa, R.S., Minervino, A.H.H., Oliveira, F.L.C., Rodrigues,  
429 F.A.M.L., Souza Meira-Júnior, E.B., Júnior, R.A.B., Mori, C.S., Ortolani, E.L., 2018a.  
430 Prevention of acute ruminal lactic acidosis in sheep by probiotic or monensin  
431 supplementation: Clinical aspects. *Semin. Agrar.* 39, 1575–1583.  
432 <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n4p1575>
- 433 Reis, L.F., Sousa, R.S., Oliveira, F.L.C., Rodrigues, F.A.M.L., Araújo, C.A.S.C., Meira-  
434 Júnior, E.B.S., Barrêto-Júnior, R.A., Mori, C.S., Minervino, A.H.H., Ortolani, E.L.,  
435 2018b. Comparative assessment of probiotics and monensin in the prophylaxis of acute  
436 ruminal lactic acidosis in sheep. *BMC Vet. Res.* 14, 1–8. [https://doi.org/10.1186/s12917-](https://doi.org/10.1186/s12917-017-1264-4)  
437 [017-1264-4](https://doi.org/10.1186/s12917-017-1264-4)
- 438 Ribeiro, A.C.S., Soares, G.S.L., Silva, S.T.G., Miranda Neto, E.G., Pontes, R.M., Soares,  
439 P.C., Mendonça, C.L., Afonso, J.A.B., 2020. Cardiac biomarkers in goats with  
440 experimental ruminal lactic acidosis and supplemented with monensin sodium. *Rev.*  
441 *Agrar. Acad.* 3, 7–16. <https://doi.org/10.32406/v3n12020/7-16/agrariacad>
- 442 Sabes, A.F., Girardi, A.M., Filho, D.Z., Bueno, G.M., Oliveira, J.A., Marques, L.C., 2017.  
443 Acid-base balance in sheep with experimentally induced acute ruminal lactic acidosis.  
444 *Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec.* 69, 637–643. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9218>
- 445 Silva, N.V., Costa, R.G., Freitas, C.R.G., Galindo, M.C.T., Silva, L.S., 2010. Alimentação de  
446 ovinos em regiões semiáridas do Brasil. *Acta Vet. Bras.* 4, 233–241.
- 447 Silva, S.T.G., Miranda Neto, E.G., Mendonça, C.L., Carvalho, C.C.D., Afonso, J.A.B., 2013.  
448 Avaliação clínico-laboratorial do emprego da monensina sódica na prevenção da acidose  
449 láctica ruminal em caprinos. *Rev. Bras. Med. Veterinária* 35, 76–84.
- 450 Singh, V., Martinezclark, P., Pascual, M., Shaw, E.S., O'Neill, W.W., 2010. Cardiac  
451 biomarkers - The old and the new: A review. *Coron. Artery Dis.* 21, 244–256.  
452 <https://doi.org/10.1097/MCA.0b013e328338cd1f>



- 453 Smith, M.C., Sherman, D.M., 2009. *Goat Medicine*, 2nd ed. Wiley-Blackwell, Oxford, UK.  
454 <https://doi.org/10.1002/9780813818825>
- 455 Snyder, E., Credille, B., 2017. Diagnosis and Treatment of Clinical Rumen Acidosis. *Vet.*  
456 *Clin. North Am. - Food Anim. Pract.* 33, 451–461.  
457 <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2017.06.003>
- 458 Soares, G.S.L., Ribeiro, A.C.S., Cajueiro, J.F.P., Souto, R.J.C., Oliveira Filho, E.F., Soares,  
459 P.C., Mendonça, C.L., Afonso, J.A.B., 2019. Cardiac biomarkers and blood metabolites  
460 in cows with clinical ketosis. *Semin. Ciências Agrárias* 40, 3525–3540.  
461 <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n6Supl3p3525>
- 462 Souza, L.M., Mendonça, C.L., Assis, R.N., Oliveira Filho, E.F., Araújo, D.N.G., Souto,  
463 R.J.C., Soares, P.C., Afonso, J.A.B., 2019. Cardiac Biomarkers Troponin I and Ck-Mb in  
464 Ewes Affected By Pregnancy Toxemia. *Small Rumin. Res.* 177, 97–102.  
465 <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.06.020>
- 466 Sucupira, M.C.A., Ortolani, E.L., 2003. Uso de sangue arterial e venoso no exame do  
467 equilíbrio ácido-básico de novilhos normais ou com acidose metabólica. *Ciência Rural*  
468 33, 863–868. <https://doi.org/10.1590/s0103-84782003000500011>
- 469 Suzuki, K., Uchida, E., Schober, K.E., Niehaus, A., Rings, M.D., Lakritz, J., 2012. Cardiac  
470 Troponin I in Calves with Congenital Heart Disease. *J. Vet. Intern. Med.* 26, 1056–1060.  
471 <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.00953.x>
- 472 Valberg, S.J., 2008. Skeletal Muscle Function, in: Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M. L.  
473 (Eds.), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Elsevier, San Diego, pp. 459–484.  
474 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370491-7.X0001-3>
- 475 Varga, A., Angelos, J.A., Graham, T.W., Chigerwe, M., 2013. Preliminary investigation of  
476 cardiac troponin i concentration in cows with common production diseases. *J. Vet.*  
477 *Intern. Med.* 27, 1613–1621. <https://doi.org/10.1111/jvim.12213>

- 478 Varga, A., Schober, K.E., Holloman, C.H., Stromberg, P.C., Lakritz, J., Rings, D.M., 2009.  
479 Correlation of serum cardiac troponin I and myocardial damage in cattle with monensin  
480 toxicosis. *J. Vet. Intern. Med.* 23, 1108–1116. [https://doi.org/10.1111/j.1939-](https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0355.x)  
481 [1676.2009.0355.x](https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0355.x)
- 482 Vieira, A.C., Câmara, A.C., Mendonça, C.L., Afonso, J.A.B., 2012. Perfil hematológico e  
483 bioquímico de ovinos suplementados com salinomicina submetidos à acidose láctica  
484 ruminal. *Cienc. Anim. Bras.* 13, 259–271. <https://doi.org/10.5216/cab.v13i2.17263>
- 485 Vieira, A.C.S., Mendonça, J.A.B., Mendonça, C.L., Costa, N.A., Souza, M.I., 2006. Estudo  
486 retrospectivo da acidose láctea em caprinos e ovinos atendidos na Clínica de Bovinos,  
487 Campus Garanhuns/UFRPE. *Rev. Bras. Ciências Agrárias - Brazilian J. Agric. Sci.* 1,  
488 97–101. <https://doi.org/10.5039/agraria.v1i1a59>

489 **Table 1.** Clinical parameters (mean  $\pm$  standard error) in goats with experimentally induced acute ruminal lactic acidosis.

Item	Hours post-induction								<i>P</i>
	MB	4h	8h	12h	24h	48h	72h	168h	
<b>HR (bpm)</b>	91.2 $\pm$ 6.86ab	107.2 $\pm$ 6.62ab	114.4 $\pm$ 2.04ab	121.6 $\pm$ 6.01a	122.4 $\pm$ 10.78a	108.8 $\pm$ 9.24ab	103.2 $\pm$ 8.14ab	85.2 $\pm$ 6.56b	0.0106
<b>RR (mrpm)</b>	24.0 $\pm$ 3.35	32.8 $\pm$ 5.71	32.8 $\pm$ 4.63	31.20 $\pm$ 5.12	28.8 $\pm$ 5.85	26.4 $\pm$ 3.49	23.2 $\pm$ 2.65	24.8 $\pm$ 3.20	0.7553
<b>Temperature (<math>^{\circ}</math>C)</b>	37.98 $\pm$ 0.21b	38.6 $\pm$ 0.20ab	38.96 $\pm$ 0.14a	38.52 $\pm$ 0.29ab	38.68 $\pm$ 0.17ab	38.24 $\pm$ 0.05ab	38.14 $\pm$ 0.10ab	38.22 $\pm$ 0.35ab	0.0441

490 HR, heart rate; bpm, beats per minute; RR, respiratory rate; mrpm, respiratory movements per minute; MB, basal moment.

491 a,b,c Different lowercase letters on the same line indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) between moments.

492 Table 2. Hemogasometric variables (mean  $\pm$  standard error) in goats with experimentally induced acute ruminal lactic acidosis.

Item	Hours post-induction								<i>P</i>
	MB	4h	8h	12h	24h	48h	72h	168h	
<b>Blood pH</b>	7.42 $\pm$ 0.02ab	7.46 $\pm$ 0.03a	7.45 $\pm$ 0.01a	7.32 $\pm$ 0.01b	7.34 $\pm$ 0.02ab	7.41 $\pm$ 0.04ab	7.42 $\pm$ 0.04ab	7.41 $\pm$ 0.04ab	0.0093
<b>pCO<sub>2</sub> (mmHg)</b>	38.80 $\pm$ 0.97a	37.42 $\pm$ 1.06a	34.80 $\pm$ 0.67ab	35.14 $\pm$ 0.82ab	31.92 $\pm$ 1.17b	35.18 $\pm$ 1.45ab	37.34 $\pm$ 1.30a	37.06 $\pm$ 0.91a	0.0029
<b>pO<sub>2</sub> (mmHg)</b>	29.4 $\pm$ 1.08	29.2 $\pm$ 1.66	30.4 $\pm$ 1.12	32.2 $\pm$ 0.37	31.0 $\pm$ 1.67	30.6 $\pm$ 1.33	29.8 $\pm$ 0.73	29.4 $\pm$ 2.09	0.7807
<b>BE (mmol/L)</b>	0.80 $\pm$ 0.58ab	3.60 $\pm$ 2.36a	0.20 $\pm$ 0.80ab	-8.0 $\pm$ 1.30b	-8.0 $\pm$ 1.38b	-2.0 $\pm$ 2.95ab	0.60 $\pm$ 3.22ab	-0.60 $\pm$ 2.94ab	0.0045
<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (mmol/L)</b>	25.16 $\pm$ 0.31ab	27.12 $\pm$ 1.96a	24.16 $\pm$ 0.66ab	18.16 $\pm$ 0.96b	17.54 $\pm$ 1.12b	22.66 $\pm$ 2.46ab	25.14 $\pm$ 2.71ab	23.94 $\pm$ 2.43ab	0.0055
<b>tCO<sub>2</sub> (mmol/L)</b>	26.4 $\pm$ 0.24ab	28.4 $\pm$ 1.86a	25.2 $\pm$ 0.73ab	19.2 $\pm$ 0.97b	18.6 $\pm$ 1.17b	23.6 $\pm$ 2.56ab	26.2 $\pm$ 2.75ab	25.0 $\pm$ 2.47ab	0.0053
<b>sO<sub>2</sub> (%)</b>	57.4 $\pm$ 3.20	59.0 $\pm$ 2.66	62.2 $\pm$ 3.09	57.2 $\pm$ 0.86	56.2 $\pm$ 3.18	59.2 $\pm$ 4.16	58.4 $\pm$ 0.93	56.2 $\pm$ 4.63	0.8932
<b>Na<sup>+</sup> (mmol/L)</b>	146.2 $\pm$ 0.73bc	155.8 $\pm$ 0.73a	152.6 $\pm$ 1.29a	150.4 $\pm$ 1.69ab	145.8 $\pm$ 1.24bc	145.2 $\pm$ 1.16bc	143.8 $\pm$ 1.66c	145.4 $\pm$ 0.60bc	<.0001
<b>K<sup>+</sup> (mmol/L)</b>	3.92 $\pm$ 0.18ab	3.70 $\pm$ 0.22ab	4.0 $\pm$ 0.16a	4.16 $\pm$ 0.12a	3.4 $\pm$ 0.17ab	2.92 $\pm$ 0.17b	2.92 $\pm$ 0.36b	3.42 $\pm$ 0.35ab	0.0025
<b>iCa (mmol/L)</b>	1.06 $\pm$ 0.05	0.95 $\pm$ 0.04	0.99 $\pm$ 0.05	1.12 $\pm$ 0.05	0.97 $\pm$ 0.07	0.92 $\pm$ 0.08	0.98 $\pm$ 0.07	1.16 $\pm$ 0.06	0.0700

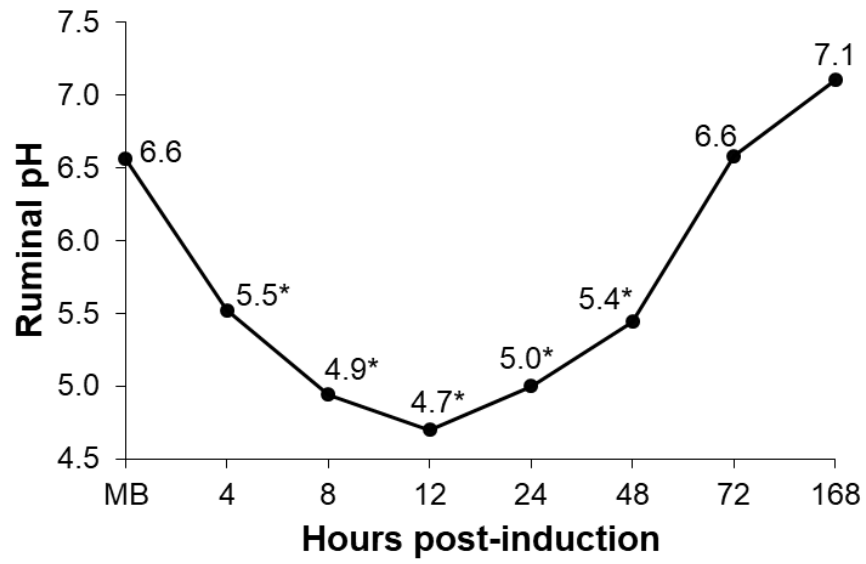
493 pO<sub>2</sub>, oxygen partial pressure; pCO<sub>2</sub>, carbon dioxide partial pressure; tCO<sub>2</sub>, total carbon dioxide; HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, bicarbonate concentration; BE, base excess/deficit; sO<sub>2</sub>,  
494 oxygen saturation; Na<sup>+</sup>, sodium concentration; K<sup>+</sup>, potassium concentration; iCa, ionized calcium; MB, basal moment.  
495 a,b,c Different lowercase letters on the same line indicate significant differences (P<0.05) between moments.

496 Table 3. Blood metabolites (mean  $\pm$  standard error) in goats with experimentally induced acute ruminal lactic acidosis.

Item	Hours post-induction							<i>P</i>	
	MB	4h	8h	12h	24h	48h	72h		168h
AST (U/L)	79.62 $\pm$ 4.51	86.95 $\pm$ 4.26	80.67 $\pm$ 3.55	91.14 $\pm$ 3.92	90.10 $\pm$ 8.52	81.70 $\pm$ 8.85	75.43 $\pm$ 8.21	66.0 $\pm$ 5.64	0.1382
CK (U/L)	101.99 $\pm$ 11.90	97.13 $\pm$ 7.68	97.13 $\pm$ 7.68	87.42 $\pm$ 5.95	111.71 $\pm$ 14.57	92.28 $\pm$ 14.16	101.99 $\pm$ 9.08	101.99 $\pm$ 14.16	0.8570
CK-MB (U/L)	132.64 $\pm$ 20.79	122.71 $\pm$ 11.98	120.62 $\pm$ 11.65	121.70 $\pm$ 9.35	173.31 $\pm$ 19.54	152.93 $\pm$ 17.93	165.95 $\pm$ 18.64	152.09 $\pm$ 24.66	0.2235
cTnI (ng/mL)	0.04 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.02	0.06 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.01	0.9513
GGT (U/L)	42.84 $\pm$ 4.59	44.37 $\pm$ 3.75	44.37 $\pm$ 3.75	45.9 $\pm$ 3.42	50.49 $\pm$ 4.59	44.37 $\pm$ 3.75	42.84 $\pm$ 4.59	41.31 $\pm$ 3.90	0.8556
LDH (U/L)	891.68 $\pm$ 40.27abc	938.0 $\pm$ 42.51abc	926.44 $\pm$ 36.57abc	966.94 $\pm$ 54.58ab	1036.56 $\pm$ 130.3a	735.4 $\pm$ 72.44bc	654.34 $\pm$ 26.85c	665.92 $\pm$ 43.90c	0.0005
L-lactate (mmol/L)	0.62 $\pm$ 0.07b	0.79 $\pm$ 0.09b	0.95 $\pm$ 0.14ab	0.85 $\pm$ 0.19ab	1.97 $\pm$ 0.47a	1.21 $\pm$ 0.23ab	0.81 $\pm$ 0.12b	0.65 $\pm$ 0.10b	0.0039

497 AST, aspartate aminotransferase; CK, creatine kinase; CK-MB, creatine kinase isoenzyme MB; cTnI, cardiac troponin I; GGT, gamma glutamyltransferase; LDH,  
 498 lactate dehydrogenase; MB, basal moment.

499 a,b,c Different lowercase letters on the same line indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) between moments.



500

501 **Figure 1.** Mean ruminal pH values of goats submitted to experimental induction of rumen lactic  
502 acidosis. MB, basal moment. \*Significant difference ( $P < 0.0001$ ) between moments.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ambos os modelos experimentais induziram sinais clínicos, alterações nos metabólitos sanguíneos e no fluido ruminal característicos da acidose láctica ruminal, porém estes foram mais intensos quando utilizada a dose mais elevada de sacarose (15g/Kg de peso vivo). A suplementação com monensina sódica, na dose de 33mg/animal/dia, não apresentou eficácia preventiva e não interferiu na gravidade das manifestações clínicas. A avaliação hemogasométrica e da bioquímica sanguínea auxiliou no diagnóstico e monitoramento da enfermidade e a intensidade do quadro clínico induzido pelas diferentes doses do substrato não foi suficiente para causar lesão cardíaca e elevação dos biomarcadores CK-MB e cTnI. Essa diferença, quando comparado a outros estudos, pode relacionar-se à maior gravidade e evolução clínica desfavorável reportadas nos casos naturais, principalmente naqueles que evoluíram para o óbito. Neste sentido, estudos suplementares podem apoiar a hipótese de que estes biomarcadores são potenciais indicadores de gravidade e prognóstico nos casos de acidose láctica ruminal.

## ANEXOS

## ANEXO A – LICENÇA DA CEUA/UFRPE – Nº 66/2018



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n,  
Dois Irmãos - CEP: 52171-900 - Recife/PEAprovado em  
18/07/2018Validade  
18/07/2020

**Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA F-18**  
**Licença condicional para o uso de animais em experimentação e/ou ensino**

A Comissão de ética no uso de animais CEUA da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no uso de suas atribuições, autoriza a execução do projeto discriminado abaixo. O presente projeto também se encontra de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11794/2008.

Número da licença	66/2018
Número do processo	23082.009960/2018-13
Data de emissão da licença	18 de julho de 2018
Título do Projeto	AVALIAÇÃO DA TROPONINA I E CREATINA QUINASE MB EM CAPRINOS COM ACIDOSE LÁCTICA RUMINAL INDUZIDA E SUPLEMENTADOS OU NÃO COM MONENSINA SÓDICA
Finalidade (Ensino, Pesquisa, Extensão)	Pesquisa
Responsável pela execução do projeto	José Augusto Bastos Afonso da Silva
Colaboradores	Carla Lopes de Mendonça; Ana Clara Sarzedas Ribeiro
Tipo de animal e quantidade total autorizada	Caprino; 20 machos; total: 20

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marleyne Amorim  
Presidente CEUA/UFRPE  
SIAPE 384977

Prof.<sup>a</sup> Dra. Marleyne José Afonso Accioly Lins Amorim  
(Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA / UFRPE)



## ANEXO B – LICENÇA DA CEUA/UFRPE – Nº 014/2019



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n,  
Dois Irmãos - CEP: 52171-900 - Recife/PE



CEUA - UFRPE  
Aprovado em  
20/03/2019  
Validade  
20/03/2021

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA A -18  
Licença condicional para o uso de animais em experimentação e/ou ensino

A Comissão de ética no uso de animais CEUA da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no uso de suas atribuições, autoriza a execução do projeto discriminado abaixo. O presente projeto também se encontra de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11794/2008.

Número da licença	014/2019
Número do processo	23082.005530/2019-03
Data de emissão da licença	20 de março de 2019
Título do Projeto	“AVALIAÇÃO DA TROPONINA I E CK-MB EM CAPRINOS COM ACIDOSE LÁCTICA RUMINAL INDUZIDA”
Finalidade (Ensino, Pesquisa, Extensão).	Pesquisa
Responsável pela execução do projeto	José Augusto Bastos Afonso da Silva
Colaboradores	Carla Lopes de Mendonça, Ana Clara Sarzedas Ribeiro
Tipo de animal e quantidade total autorizada	Caprino macho 05. Total: 05

Profª Drª Marleyne Amorim  
Presidente CEUA/UFRPE

Profª Drª Marleyne José Afonso Accioly Lins Amorim  
(Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA /UFRPE)

## ANEXO C – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO – REVISTA AGRÁRIA ACADÊMICA<sup>1</sup>

A Revista Agrária Acadêmica publica trabalhos regionais, nacionais e internacionais ainda não publicados, nem encaminhados a outras revistas para o mesmo fim. Os artigos devem ser escritos em português (espanhol ou inglês) e enviados à Revista Agrária Acadêmica de forma eletrônica, diretamente para o e-mail da revista (agrariacad@gmail.com). No corpo do e-mail enviado deve constar o tipo de trabalho que está sendo submetido (Artigos de Revisão, Artigos Científicos, Educação Continuada, Relatos de Caso, Nota Prévia e Comunicação).

Os trabalhos devem apresentar as seguintes especificações: página A4, fonte Times New Roman, corpo 12, entrelinhas 1,5, com 2cm de margem superior, inferior, esquerda e direita.

**1.** Os trabalhos devem conter até 20 páginas, incluindo as referências bibliográficas.

**1.1.** Informar endereço completo, telefone e e-mail para contato futuro.

**2.** Serão aceitos trabalhos escritos nos seguintes idiomas: espanhol, inglês e português.

**3.** Apresentação dos trabalhos:

**3.1.** Título, identificação do(s) autor(es) e ORCID de, no mínimo, um dos autores.

**3.1.1** Título completo do artigo em LETRA MAIÚSCULA: em negrito, centralizado e fonte tamanho 12. Título em inglês completo do artigo em letra minúscula: centralizado e fonte tamanho 12

**3.1.2** Nome completo do(s) autor(es) (por extenso e apenas o SOBRENOME EM MAIÚSCULA): alinhado à esquerda, fonte tamanho 12, com indicação para nota de rodapé.

**3.1.3** Na nota de rodapé, deve constar filiação científica, na seguinte ordem: Departamento, Instituto ou Faculdade, Universidade – SIGLA – CIDADE/ESTADO – PAIS e endereço eletrônico, fonte tamanho 10.

**3.1.4** Entre o título e os dados de identificação do(s) autor(es), deve existir espaço de uma linha.

**3.1.5** Todos os subtítulos devem estar alinhados à esquerda, em negrito e fonte tamanho 12.

**3.2.** Resumo e Abstract

Resumo de, no máximo, 110 palavras com até cinco palavras-chave (termos ou expressões que identifiquem o conteúdo do trabalho). O título, o resumo e as palavras-chaves deverão ser no idioma do texto. O corpo do texto pertencente ao resumo deve estar em espaçamento entre

---

<sup>1</sup> Disponível em: <<https://agrariacad.wordpress.com/normas-para-publicacao/>>. Acesso em: 25 de novembro de 2019.

linhas simples e fonte tamanho 10. A seguir, deve constar o Abstract e Keywords, nos mesmos moldes do resumo.

### **3.3. Corpo do texto:**

**3.3.1** Subtítulos destacados em negrito, no mesmo corpo do texto, alinhados à esquerda.

**3.3.2** Texto contendo, sempre que possível:

a) Introdução (com objetivos e metodologia);

b) Desenvolvimento (corpo do texto, Material e Métodos, Resultados e Discussão),

c) Conclusão ou Considerações finais e Referências bibliográficas.

**Obs:** Os artigos que, por preferência do autor, não tenham a estrutura contida neste item não serão excluídos.

**3.3.3** Todo o corpo do texto deve estar em espaçamento 1,5, contendo sempre o espaço de uma linha entre os subtítulos e o texto.

**3.3.4** Notas de rodapé devem ser, na medida do possível, incluídas no corpo do texto.

**3.3.5** Tabelas e gráficos deverão ser numerados, sequencialmente, em algarismos arábicos e encabeçados por seus respectivos títulos.

**3.3.6** Fotografias e ilustrações poderão ser coloridas e deverão ser inseridas no corpo do texto, numeradas, sequencialmente, e com legendas logo após a imagem.

**3.3.7** Referências no corpo do texto deverão ser feitas pelo sobrenome do autor, entre parênteses e separado por vírgula da data de publicação e da(s) página(s) utilizada(s) tanto para citação direta como indireta. Ex: (SOUZA, 1998, p. 129). Caso o nome do autor esteja citado no texto, deverá ser acrescentada a data e paginação entre parênteses.

Por exemplo, “SOUZA (2016, p. 27) aponta...”. As citações de diversas obras de um mesmo autor, publicadas no mesmo ano, deverão ser discriminadas por letras minúsculas em ordem alfabética, após a data, sem espaçamento (SOUZA, 1988a; 1989b). Quando a obra tiver até três autores, estes deverão ser separados por ponto e vírgula (SOUZA; SOUZA, 2000). No caso de três ou mais, indica-se o primeiro, seguido da expressão “et al”. (SANTOS et al., 2017).

As citações literais, com mais de três linhas devem seguir este modelo, estando o texto entre linhas simples, com fonte tamanho 11, entre aspas e seguida da referência do autor, com nome, data e página referente” (SOUZA, 2001, p.38).

**3.3.8** Anexos e/ou Apêndices serão incluídos somente quando imprescindíveis à compreensão do texto.

**3.3.9** As linhas NÃO devem ser numeradas.

## **4. Referências bibliográficas:**

**4.1** As referências bibliográficas deverão ser arroladas no final do trabalho, pela ordem alfabética do sobrenome do(s) autor(es), obedecendo às normas mais recentes da ABNT.

**5.** Os trabalhos que não estiverem de acordo com estas normas de formatação serão devolvidos ao(s) autor(es); podendo ser refeitos e apresentados em outra oportunidade.

**6.** Os casos não previstos por estas Normas serão resolvidos pelo Conselho Editorial da Revista.

#### 7. Submissão dos manuscritos

O envio dos artigos deve ser realizado diretamente para o e-mail [agrariacad@gmail.com](mailto:agrariacad@gmail.com).

Informações sobre o pagamento da taxa de publicação serão enviadas ao autor para correspondência. Uma vez finalizado o processo, o artigo será enviado para publicação na edição mensal correspondente. Uma vez submetidos, os trabalhos são confidenciais até à sua publicação.

## ANEXO D – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO – SMALL RUMINANT RESEARCH<sup>2</sup>

**Type of article:** Original Research Papers (Regular Papers)

### **Language (usage and editing services)**

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's Author Services.

### **Submission**

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/rumin/>

### **Article structure**

Manuscripts should have numbered lines, with wide margins and double spacing throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc., should be numbered. However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.

### **Manuscripts in general should be organized in the following order:**

- Abstract
- Keywords (indexing terms), normally 3-6 items
- Introduction
- Material studied, area descriptions, methods, techniques
- Results
- Discussion
- Conclusion
- Acknowledgment and any additional information concerning research grants, etc.
- References

---

<sup>2</sup> Disponível em: <<https://www.elsevier.com/journals/small-ruminant-research/0921-4488/guide-for-authors>>. Acesso em: 25 de novembro de 2019.

### **Essential title page information**

- *Title*. Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- *Author names and affiliations*. Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- *Corresponding author*. Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.
- *Present/permanent address*. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

### **Highlights**

Highlights are mandatory for this journal as they help increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

### **Abstract**

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided,

but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

### **Formatting of funding sources**

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

### **Nomenclature and units**

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other quantities are mentioned, give their equivalent in SI. You are urged to consult IUB: Biochemical Nomenclature and Related Documents for further information.

Authors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the *International Code of Botanical Nomenclature*, the *International Code of Nomenclature of Bacteria*, and the *International Code of Zoological Nomenclature*.

All biotica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.

### **Math formulae**

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small

fractional terms, e.g.,  $X/Y$ . In principle, variables are to be presented in italics. Powers of  $e$  are often more conveniently denoted by  $\exp$ . Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Equations should be numbered serially at the right-hand side in parentheses. In general only equations explicitly referred to in the text need be numbered.

The use of fractional powers instead of root signs is recommended. Powers of  $e$  are often more conveniently denoted by  $\exp$ .

Levels of statistical significance which can be mentioned without further explanation are \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  and \*\*\* $P < 0.001$ .

In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g.  $\text{Ca}^{2+}$ , not as  $\text{Ca}^{++}$ .

Isotope numbers should precede the symbols, e.g.  $^{18}\text{O}$ .

The repeated writing of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full. Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g. phosphate as  $\text{P}_2\text{O}_5$ ).

## **Footnotes**

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

## **Artwork**

### ***Electronic artwork***

#### ***General points***

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.



- Submit each illustration as a separate file.
- Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired color vision.

A detailed guide on electronic artwork is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

### ***Formats***

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

### ***Please do not:***

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

### ***Color artwork***

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

### ***Figure captions***

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

### **Tables**

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

### **References**

#### ***Web references***

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

#### ***Data references***

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

#### ***Reference management software***

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley. Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as

shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. More information on how to remove field codes from different reference management software.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/small-ruminant-research>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

### ***Reference style***

*Text: All citations in the text should refer to:*

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;
3. *Three or more authors:* first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references can be listed either first alphabetically, then chronologically, or vice versa.

*Examples:* 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999)... Or, as demonstrated (Jones, 1999; Allan, 2000)... Kramer et al. (2010) have recently shown ...'

*List:* References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

*Examples:*

*Reference to a journal publication:*

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

*Reference to a journal publication with an article number:*

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2018. The art of writing a scientific article. *Heliyon.* 19, e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

*Reference to a book:*

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

*Reference to a chapter in an edited book:*

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), Introduction to the Electronic Age. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

*Reference to a website:*

Cancer Research UK, 1975. Cancer statistics reports for the UK.

<http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/> (accessed 13 March 2003).

*Reference to a dataset:*

[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. Mendeley Data, v1.

<https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.