

# AVALIAÇÃO DO SUCO RUMINAL DE BOVINOS “A FRESCO” E APÓS 12 HORAS DE CONSERVAÇÃO

NAIDA CRISTINA BORGES<sup>1</sup>, LUIZ ANTÔNIO FRANCO SILVA<sup>2</sup>, MARIA CLORINDA SOARES FIORAVANTI<sup>2</sup>, PAULO HENRIQUE JORGE DA CUNHA<sup>2</sup>, ROSANA REZENDE MORAES<sup>3</sup>, PATRÍCIA LORENA GUIMARÃES<sup>4</sup> E MÁRCIO EDUARDO PEREIRA MARTINS<sup>5</sup>

1. Médica Veterinária, Professora MSc., Diretora do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. Caixa Postal 131, CEP 74001 – 970. Goiânia – Go. naida@vet.ufg.br
2. Médicos Veterinários, Professores Doutores do Departamento de Medicina Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás.
3. Médica Veterinária, MSc, Ministério da Agricultura. Brasília, DF.
4. Médica Veterinária, MSc. Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás.
5. Aluno de Graduação do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás.

## RESUMO

Avaliaram-se no presente estudo os parâmetros físicos (cor, odor, consistência e tempo de sedimentação e flotação), químicos (pH, e tempo de redução do azul de metileno) e biológicos (avaliação dos protozoários *in vitro*, contagem de infusórios e percentagem de protozoários viáveis) do suco ruminal de 50 fêmeas bovinas adultas clinicamente saudáveis, imediatamente após a colheita e ao final de 12 horas de armazenamento em garrafas térmicas comuns. Utilizaram-se animais em lactação, da raça Girolando, e alimentados a pasto de *Brachiaria decumbens*. As análises foram realizadas em uma amostra individual de, aproximadamente, 400 ml de suco ruminal, colhida com sonda oro-esofágica do tipo Schambye e Sorensen. Os resultados foram avaliados por meio de estatística descritiva e teste “t”

de student para amostras pareadas ( $P < 0,05$ ). Os aspectos físicos, a avaliação *in vitro* dos infusórios e o número de protozoários por mililitro encontravam-se dentro dos padrões de normalidade na primeira avaliação, porém, após 12 horas de conservação, foram observadas alterações sugestivas de modificações na microbiota do suco ruminal. Constataram-se, após conservação, reduções estatísticas significativas em relação ao pH, percentual de protozoários viáveis e aumento no tempo de redução do azul de metileno (PRAM). Conclui-se que a garrafa térmica comum pode ser usada como opção na conservação de suco ruminal de bovinos em situações de clínica de campo, porém a análise no momento da colheita apresenta resultados mais fidedignos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bovinos, fluido ruminal, métodos de conservação, pH, protozoários.

## SUMMARY

### BOVINE RUMINAL FLUID ANALYSIS “IN FRESH” AND AFTER 12 HOURS OF CONSERVATION

This research had as objective to analyze the physical (color, smell, consistence and sedimentation/flotation test - TAS), chemicals (pH and methylene blue reduction test) and biological aspects (in vitro protozoa examination, infusoria counts and percentual of living protozoa) of ruminal fluid from 50 adult and healthy females Girolando cows immediately after and 12 hours after collection and storage in vacuum bottle. The animals were in lactation period and grazing *Brachiaria decumbens*. The samples of ruminal fluid contained nearly 400 ml and were collected through Schambye and Sorensen esophageal probe. The results were

statistically analyzed through descriptive statistic and “t” test ( $P < 0.05$ ). Although the first evaluation of ruminal fluid was normal for physical aspects, in vitro evaluation of infusoria counts, and for the number of protozoa per ml after 12 hours, some alterations were verified. Significant differences were observed in decreasing of pH, percentual of live protozoa and increasing in the time of methylene blue reduction test. Therefore the thermal bottle is a good option to conserve ruminal fluid but better results can be found when the ruminal fluid is analyzed immediately after the collection.

**KEY WORDS:** Bovine, conservation methods, pH, protozoa, ruminal fluid.

## INTRODUÇÃO

A explosão demográfica dos bovídeos ocorreu, concomitantemente, com mudanças significativas na forma de arraçamento desses animais. Surgiram novas variedades de forrageiras, a quantidade

estabelecida para cada refeição foi modificada e, de uma maneira geral, maiores volumes são oferecidos objetivando uma maior produtividade.

Apesar de menos frequentes, não é incomum diagnosticar distúrbios gástricos em bovinos criados em regime de criação extensiva. Esses problemas

geralmente ocorrem quando os animais são suplementados em períodos de estiagem ou entressafra, em consequência da ingestão acidental de plantas tóxicas ou em bovinos manejados em lavouras de milho, soja, arroz ou sorgo após a colheita. De acordo com Russell & Rychlik (2001), os ruminantes criados nos países em desenvolvimento são, em sua maioria, alimentados com rações deficientes em fibra, gerando transtornos nos mecanismos fisiológicos e homeostáticos do rúmen, declínios no pH e alterações de microbiota, o que torna esses animais susceptíveis a desordens metabólicas e doenças infecciosas.

A análise do fluido ruminal é de indiscutível valor no diagnóstico de enfermidades ligadas ao aparelho digestivo dos ruminantes, especialmente aquelas dos compartimentos pré-gástricos, pois a microbiota do rúmen é altamente sensível às alterações externas e internas às quais rotineiramente estão submetidos os animais. De acordo com Costa (1992), o conhecimento dos aspectos relacionados ao conteúdo ruminal de bovinos tem sido limitado, em especial no que se refere às alterações clínicas, químicas e biológicas. Esse autor acrescenta que o conhecimento desses valores é de fundamental importância na elucidação diagnóstica dos transtornos digestivos, frequentemente encontrados também na clínica bovina realizada a campo.

A análise do suco ruminal é um procedimento relativamente simples e fornece ao veterinário informações importantes sobre o trato digestivo superior dos bovinos. Várias técnicas foram desenvolvidas para se proceder a uma avaliação precisa e segura. Segundo Souza (1990), Costa (1992), Rings & Rings (1993) e Dirksen (1993), o conteúdo do rúmen pode ser verificado quanto aos aspectos físicos (cor, odor, consistência e tempo de sedimentação e flotação); quanto às características químicas (o pH, a fermentação de glicose, a redução de nitritos e o tempo de redução do azul de metileno); e quanto aos parâmetros biológicos (avaliação de bactérias e de protozoários).

De acordo com Souza (1990), o suco ruminal pode ser utilizado na terapêutica dos problemas digestivos e o recomendam nas indigestões primárias de origem alimentar e como auxiliar no tratamento de

doenças metabólicas que alterem as funções dos pré-estômagos. O autor descreve ainda que observaram que a administração oral de três a cinco litros de suco de rúmen, em três a quatro aplicações, foi decisiva para a melhora de 31 bovinos que apresentaram inatividades crônicas da microbiota ruminal.

A conservação do suco ruminal, quando existe a necessidade de transportá-lo por certas distâncias para ser administrado e/ou analisado, ainda constitui um desafio. Souza (1990) adicionou água de coco, solução de açúcar e ovo integral a diferentes amostras de fluido ruminal e submeteu-as às temperaturas ambiente, de geladeira e de *freezer*, na tentativa de verificar o melhor método de conservação.

No Brasil, especialmente na Região Centro-Oeste, as grandes distâncias entre as propriedades rurais e destas com os centros urbanos, aliado ao tipo de bovinocultura que vem sendo implantado na região, exigem do médico veterinário, que exerce suas atividades a campo, cada vez mais conhecimento e criatividade. Um desses desafios são a conservação e o transporte adequados do suco de rúmen para fins diagnósticos e terapêuticos. Acrescenta-se a carência de parâmetros analíticos das atividades ruminais para a região, em bovinos mestiços e alimentados a pasto.

Este trabalho propõe-se a avaliar os parâmetros físicos, químicos e biológicos do suco de rúmen imediatamente após a colheita e após 12 horas de armazenamento em garrafas térmicas comuns.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em cinco propriedades rurais do Estado de Goiás distando em média 60 km de Goiânia. As fazendas foram selecionadas aleatoriamente e levou-se em consideração o fato de possuírem um rebanho médio de 100 vacas em lactação. Estabeleceu-se que seriam escolhidas amostras aleatórias de 10% do rebanho perfazendo um total de 50 fêmeas bovinas adultas clinicamente saudáveis, da raça Girolando, submetidas exclusivamente ao regime de pasto (*Brachiaria decumbens*) e sal mineral *ad libitum*, durante o período de abril a maio de 1998.

Colheu-se uma amostra de, aproximadamente, 400 ml de suco ruminal de cada bovino por meio de sonda oroesofágica tipos Schambye e Sorensen e, imediatamente, avaliaram-se os seguintes parâmetros: aspectos organolépticos (cor, odor, consistência), avaliação *in vitro* dos infusórios (densidade, motilidade e tamanho dos protozoários), pH, tempo de sedimentação e flotação (TAS), prova de redução do azul de metileno (PRAM), contagem de infusórios e percentual de protozoários viáveis, de acordo com metodologia descrita por Dirksen (1993).

Aproximadamente 250 ml do fluido foram acondicionados em garrafas térmicas de igual volume e reavaliados após 12 horas de conservação, no Laboratório de Patologia Clínica da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. Nas duas avaliações, o pH foi medido com potenciômetro, e a contagem de protozoários foi feita em câmara de Fuchs-Roshental.

Os resultados referentes às duas primeiras provas foram analisados por meio de estatística descritiva, e os dados referentes ao pH, TAS, PRAM, número de infusórios e percentual de protozoários viáveis foram comparados estatisticamente pelo teste

“t” de student para amostras pareadas, a um nível de significância de 5% de acordo com Sampaio (1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise organoléptica do suco ruminal a fresco (Tabela 1) apresentou em sua maioria padrões de normalidade quanto à cor, odor e consistência, o que está de acordo com as citações de Dirksen (1981), Garry (1990), Souza (1990), Costa (1992) e Dirksen (1993), para animais que têm como única fonte de alimentação as gramíneas. Após 12 horas de conservação esses parâmetros sofreram alterações significativas; a cor tornou-se verde-escura, o odor levemente ácido e a consistência densa, sugerindo modificações na microbiota ruminal. Variações na cor, odor e consistência do líquido ruminal também foram constatadas por Souza (1990) quando manteve o fluido ruminal à temperatura ambiente. De acordo com Campos Neto (1977) e Dirksen (1993), o odor torna-se ácido por causa do aumento de produtos finais ácidos. Garry (1993) afirma que o aumento de viscosidade do fluido ruminal ocorre à medida que a flora ruminal perde sua atividade.

**TABELA 1.** Avaliação organoléptica do fluido ruminal a fresco e após 12 horas de conservação em garrafa térmica, obtido de fêmeas bovinas adultas, da raça Girolando, submetidas exclusivamente ao regime de pasto (*Brachiaria decumbens*) e sal mineral *ad libitum*, no período de abril a maio de 1998.

Caracteres	A fresco		Após 12 horas de conservação em garrafa térmica	
	Nº de animais	%	Nº de animais	%
Cor				
Verde-oliva	34	68	7	14
Verde-escuro-acastanhado	14	28	43	86
Verde-claro-amarelado	2	4	0	0
Odor				
Aromático	50	100	3	6
Levemente ácido	0	0	47	94
Consistência				
Fluida	2	4	0	0
Normal	39	78	2	4
Viscosa	9	18	0	0
Densa	0	0	48	96

Nota-se na Tabela 2 que no exame a fresco os protozoários apresentaram densidade e motilidade muito boas, ocorrendo redução nesses parâmetros após 12 horas de conservação. Esses achados são corroborados por Souza (1990), que observou excelente motilidade dos infusórios no primeiro momento e uma tendência clara e progressiva de

diminuição com o tempo de conservação. Verifica-se também que na primeira análise houve predominância dos médios e grandes. Entretanto, ocorre o inverso após a conservação, com morte principalmente dos grandes e médios protozoários, como cita Dirksen (1981 e 1993).

**TABELA 2.** Avaliação *in vitro* dos infusórios do fluido ruminal, a fresco e após 12 horas de conservação em garrafa térmica, em fêmeas bovinas adultas, da raça Girolando, submetidas exclusivamente ao regime de pasto (*Brachiaria decumbens*) e sal mineral *ad libitum*, no período de abril a maio de 1998.

Caracteres	A fresco		Após 12 horas de conservação em garrafa térmica	
	Nº de animais	%	Nº de animais	%
Densidade				
Reduzida (+)	4	8	26	52
Moderada (++)	21	42	20	40
Abundante (+++)	25	50	4	8
Motilidade				
Reduzida (+)	1	2	19	38
Moderada (++)	18	36	16	32
Abundante (+++)	31	62	2	4
Ausente	0	0	13	26
Distribuição				
P *	0	0	25	50
PM **	26	52	16	32
PMG ***	24	48	9	18

\* protozoários pequenos

\*\* protozoários pequenos e médios

\*\*\* protozoários pequenos, médios e grandes

A variação média do pH ruminal foi de 7,05 na avaliação a fresco e de 6,86 após a conservação, sendo esses resultados estatisticamente significativos (Tabela 3), porém estão dentro dos limites de normalidade considerados por Campos Neto et al. (1976), Ortolani et al. (1982), Garry (1990), Costa (1992), Dirksen (1993), Rings & Rings (1993) e Moraes (2000).

Acredita-se que uma provável contaminação pela saliva no momento da colheita tenha sido responsável pelo maior valor de pH no momento da colheita. Hofirek & Haas (2001), comparando dois métodos de colheita de suco ruminal, por sonda oro-

esofágica e por punção *per cutânea*, encontrou valores de pH mais elevados no primeiro método e relacionou tal achado ao fato de o tubo oral alcançar apenas o saco cranial do rúmen, mais rico em saliva e soluções tamponantes. Em relação aos menores valores obtidos para o pH por ocasião da segunda avaliação, argumenta-se que foram devidos à excessiva produção de ácido láctico e como resultado da possível putrefação e decomposição de proteínas, como citam Campos Neto (1977) e Rosemberger (1963).

Com a conservação do suco ruminal houve uma redução significativa no percentual de protozoários viáveis, de 75,60% para 16,88%, concordando com

Souza (1990), que encontrou valores oscilando de 30% a 100%. Houve ainda uma tendência clara de diminuição no número desses microrganismos, já que inicialmente era de 281.688 a fresco, e reduzindo para 254.900 após conservação (Tabela 3). Tais achados são compatíveis com os resultados obtidos por Dirksen & Wolf (1963) e Souza (1990), que também verificaram uma relação indireta entre a atividade dos infusórios e o período de conservação.

A prova de redução do azul de metileno (PRAM) aplicada ao suco ruminal a fresco apresentou resultado, significativamente, menor do que o obtido após a conservação (Tabela 3), sendo respectivamente de 173,30 segundos (2,89 minutos) e 361,30 segundos (6,02 minutos). Achados equivalentes também foram obtidos por Souza (1990), 2,6 minutos no momento da colheita, diferindo no período de 24 horas, em que verificou 3,4 minutos. Apesar de os

valores obtidos neste estudo encontrarem-se dentro dos padrões de normalidade, conforme Garry (1990), Dirksen (1993) e Rings & Rings (1993), eles, no entanto, indicam uma perda de atividade bacteriana com o passar do tempo de colheita.

Ainda na Tabela 3, verifica-se que o tempo de sedimentação e flotação (TAS) foi ligeiramente menor após a conservação do fluido ruminal, porém não houve diferença significativa. Tais valores estão de acordo com os citados por Garry (1990) e Dirksen (1993), porém estiveram abaixo dos achados de Garry (1993) e Moraes (2000) em animais recebendo apenas algum tipo de alimentação volumosa. A redução no TAS em relação ao tempo de colheita também foi observada por Souza (1990) e Garry (1993) e deveu-se provavelmente à diminuição da atividade microbiana.

**TABELA 3.** Valores médios e desvio-padrão da avaliação do fluido ruminal a fresco e após 12 horas de conservação em garrafa térmica, em fêmeas bovinas adultas, da raça Girolanda, submetidas ao regime de pasto (*Brachiaria decumbens*) e sal mineral *ad libitum*, no período de abril a maio de 1998, quanto aos aspectos pH, percentual de protozoários viáveis, número de infusórios, PRAM (prova de redução do azul de metileno) e TAS (tempo de sedimentação e flotação).

Grupos	pH -	Protozoário viável (%)	Número de infusórios (cel/ml)	PRAM (seg)	TAS (seg)
A fresco	7,05 <sup>a</sup> ±0,43	75,60 <sup>a</sup> ±24,07	281688 <sup>a</sup> ±2008,75	173,30 <sup>a</sup> ±108,32	331,98 <sup>a</sup> ±146,99
Após 12 horas de conservação	6,86 <sup>b</sup> ±0,43	16,88 <sup>b</sup> ±22,14	254900 <sup>a</sup> ±1938,94	361,30 <sup>b</sup> ±165,23	279,80 <sup>a</sup> ±174,12

\* Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente a nível de 5%

Avaliando-se as provas funcionais em conjunto e comparativamente notaram-se pequenas alterações nos aspectos organolépticos e na qualidade dos protozoários além de uma leve acidificação do fluido com redução no TAS, morte de protozoários e alteração da atividade bacteriana. Mudanças semelhantes foram observadas por Souza (1990), quando utilizou diferentes formas de conservação do fluido ruminal. O autor aponta a necessidade de descartar o material após três dias de conservação, pois não mais responde às provas funcionais, provavelmente, devido à invasão do meio por bactérias proteolíticas.

Garry (1993) argumenta que mudanças na viscosidade do líquido ruminal e no tempo de sedimentação e flotação são originados de fatores como inatividade da flora microbiana, acidose e anorexia prolongada.

É pertinente sugerir o uso da garrafa térmica por um período de até 12 horas, porque, apesar do leve declínio da atividade microbiana constatada, os resultados obtidos encontram-se dentro dos padrões citados por Dirksen (1981), Garry (1990), Dirksen (1993), Rings & Rings (1993) e Moraes (2000). Além disso, a garrafa térmica é de fácil obtenção e

apresenta pequeno volume, o que facilita o seu transporte. Por essas vantagens, pode ser utilizada como uma opção não apenas para conduzir suco ruminal para exames laboratoriais mas também para otimizar a transfaunação. É possível inferir ainda algumas outras vantagens para o uso da garrafa térmica na conservação e transporte de suco ruminal de bovinos, como a manutenção do material em anaerobiose e a uma temperatura próxima da encontrada no ambiente de origem. Como resultado haverá a preservação de dois importantes elementos do nicho retículo-ruminal, considerados por Hungate (1966), Acuri & Matos (1992) e Russell & Rychlik (2001) como fundamentais para os ruminantes.

Considerando-se que na literatura consultada (Campos Neto, 1977; Ortolani et al., 1982; Souza, 1990; Costa, 1992) não foram encontradas informações relativas aos vasilhames utilizados no transporte de suco ruminal, apenas descrição da forma de conservação, deduz-se que os resultados obtidos neste estudo sirvam como incremento importante nas soluções dos problemas de clínica assistidas a distância. Apesar de não constar dos objetivos propostos por esse estudo, acredita-se que os valores obtidos possam ter contribuído no estabelecimento de parâmetros para bovinos alimentados a pasto dessa região.

### CONCLUSÕES

Os testes organolépticos (cor, odor e consistência), a avaliação *in vitro* dos infusórios (densidade, motilidade e tamanho dos protozoários) e as provas funcionais do suco ruminal variaram com o tempo de conservação de 12 horas em garrafa térmica, porém mantiveram-se dentro dos padrões de normalidade.

A análise do fluido ruminal com fins diagnósticos deve ser efetuada no momento da colheita para que se tenham resultados mais fiéis.

A garrafa térmica é uma boa opção no armazenamento e transporte do fluido ruminal em situações de clínica de campo.

### REFERÊNCIAS

- ACURI, P. B.; MATOS, L. L. de Microbiologia do rúmen. *Informe Agropecuário*, v.16, n.175, p.5-8, 1992.
- CAMPOS NETO, O.; BARROS, H. M.; FERREIRA NETO, J. M. Novo método de mensuração do pH do conteúdo ruminal de bovinos da raça holandesa. *Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG*, v. 28, n. 1, p. 79-85, 1976.
- CAMPOS NETO, O. *Aspectos físico-químicos do conteúdo do rúmen e suas implicações na patogenia das enfermidades deste órgão*. São Paulo: Esc. de Med. Vet. e Zootec. de São Paulo, 1977. p. 7-81. Comunicado científico, 1.
- COSTA, N. A. *Estudo clínico do suco de rúmen de bovinos normais em diferentes manejos de arraçoamento com palma forrageira (Palma gigante-Opuntia ficus indicata)*. 1992, 57p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- DIRKSEN, G. *Indigestions en el bovino*. Konstanz: Schnetzton Verlag, 1981. 16p.
- DIRKSEN, G. Sistema digestivo. In: ROSENBERGER, G. *Exame clínico dos bovinos*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993, p. 166-175. Cap. 7.
- GARRY, F. B. Diagnosing and treating indigestion caused by fermentative disorders. *Veterinary Medicine*, v. 85, n. 6, p. 660-670, 1990.
- GARRY, F. B. Indigestões em ruminantes. In: SMITH, B. P. *Tratado de medicina interna de grandes animais: moléstias de eqüinos, bovinos, ovinos e caprinos*. São Paulo: Manole, 1993. p.750-783.
- HOFIREK, B.; HAAS, D. Comparative studies of ruminal fluid collected by tube or by puncture of the caudoventral ruminal sac. *Acta Veterinaria*, v. 70, n. 1, p. 27-33, 2001.

- HUNGATE, R. E. *The rumen and its microbes*. New York: Academic Press Inc., 1966. 533p.
- MORAES, R. R. *Caracterização clínica, laboratorial e anatomopatológica da fase inicial da inflamação do tecido interdigital de bovinos da raça Girolanda*. 2000, 110 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- ORTOLANI, E. L.; BIGEL, E. H.; ARAÚJO, L. M. Comportamento do pH do suco de rúmen dos bovinos *in vitro*. *Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG.*, v. 32, n. 2, p. 217-223, 1980.
- ORTOLANI, E. L.; SOUZA, R.; BENESI, F. J. The pH of the bovine ruminal fluid as influenced by species and diet. *Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG.*, v. 34, n. 1, p. 23-32, 1982.
- RINGS, D. M.; RINGS, M. B. Rumen fluid analysis. *Agri-Practice*, v. 14, n. 9, p. 26-9, 1993.
- RUSSELL, J. B.; RYCHLIK, J. L. Factors that alter rumen microbial ecology. *Science*, v. 11, n. 292, p. 1119-1122, 2001.
- SAMPAIO, I. B. M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.
- SOUZA, P. M. *Conservação de suco de rúmen: avaliação das características macroscópicas, microscópicas e de determinadas provas funcionais*. 1990, 87p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.