

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia



Dissertação

**Desenvolvimento de uma solução oral
hidroeletrolítica e energética para neonatos bovinos**

Uriel Secco Londero

Pelotas, 2017

Uriel Secco Londero

**Desenvolvimento de uma solução oral hidroeletrolítica e energética para
neonatos bovinos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área do Conhecimento: Reprodução Animal e Transtornos Metabólicos).

Orientador: Dr. Marcio Nunes Corrêa
Coorientadores: Dra. Viviane Rohrig Rabassa
Dr. Rubens Alves Pereira

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

L847d Londero, Uriel Secco

Desenvolvimento de uma solução oral hidroeletrolítica e energética para neonatos bovinos / Uriel Secco Londero ; Marcio Nunes Corrêa, orientador ; Viviana Rohrig Rabassa, Rubens Alves Pereira, coorientadores. — Pelotas, 2017.

53 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Diarreia. 2. Reidratação. 3. Eletrólitos. 4. Energia. 5. Neonatos. I. Corrêa, Marcio Nunes, orient. II. Rabassa, Viviana Rohrig, coorient. III. Pereira, Rubens Alves, coorient. IV. Título.

CDD : 636.2089201

Elaborada por Ubirajara Buddin Cruz CRB: 10/901

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Francisco Augusto Burkert Del Pino (Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Zootecnia)

Prof. Dr. Martielo Ivan Gehrcke (Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Veterinária)

Dr^a. Josiane de Oliveira Feijó (Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Zootecnia)

Prof. Dr. Marcio Nunes Corrêa (Orientador, Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Clínicas Veterinárias)

Para meus pais, avó, tios e namorada com carinho e gratidão.

Dedico.

Agradecimentos

Aos meus pais Aldemir Davi Londero e Marghete Juliana Secco Londero, pelo apoio e pela dedicação que tiveram em todos os anos da minha criação, e por sempre estarem disponíveis para me ajudar, apoiar e a incentivar a conclusão deste sonho.

A minha irmã Talissa Secco Londero, por estar sempre torcendo pelo meu sucesso.

A meus familiares, por acreditarem, torcerem e me darem todo o apoio para continuar a buscar sempre meus sonhos.

A Fernanda Kegles, por me dar apoio, estar sempre ao meu lado, além de demonstrar como o amor é muito importante para a construção da vida.

Ao meu orientador, Marcio Nunes Corrêa, que tornou possível a elaboração deste projeto, por sempre acreditar em minha capacidade, além do incentivo para nunca desistir.

Aos meus coorientadores, Prof^a Viviane Rohrig Rabassa e Dr. Rubens Alves Pereira, pelo auxílio e por estarem sempre disponíveis a qualquer momento.

Ao grupo NUPEEC, por ser uma grande família, onde fiz grandes amigos que vou levar para o resto de minha vida, em especial para Rafael Prietsch, pelo auxílio no início do experimento e a Rafael Krusser, por ser um grande companheiro durante a fase experimental deste projeto, o qual sem sua ajuda não teria a devida excelência.

A agência de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo apoio financeiro

E a Deus, por me possibilitar a realização deste grande desafio e também pela possibilidade da conclusão deste trabalho.

Agradeço.

“Me esforçarei ainda mais para prosseguir com esta investigação, que confio que não será meramente especulativa, mas de suficiente motivação para inspirar a agradável esperança de que converterá em algo benéfico para a humanidade.”

Edward Jenner

Resumo

LONDERO, Uriel Secco. **Desenvolvimento de uma solução oral hidroeletrolítica e energética para neonatos bovinos.** 2017. 53f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A diarreia neonatal é uma doença multifatorial que afeta bovinos nas primeiras semanas de vida, podendo levar o animal à óbito dependendo da gravidade. Uma forma de reduzir os danos causados por esse transtorno é a utilização de soluções reidratantes orais, as quais são capazes de reidratar, repor eletrólitos e reduzir os gastos com o tratamento desses animais. Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma solução hidroeletrolítica e energética oral capaz de recompor os eletrólitos séricos, reidratar e prover energia para bovinos neonatos com diarreia naturalmente adquirida. Para isso, todos os neonatos de uma fazenda comercial foram acompanhados do nascimento até 28 dias de vida. Desses, 12 bezerras apresentaram diarreia e foram divididos em 4 grupos, cada um recebendo um tipo de solução desenvolvida: SB, SBB, SBF e SBBF. Esses animais recebiam a solução 2 vezes ao dia, junto a dieta líquida, por 3 dias. As coletas de sangue para a análise eram realizadas no momento do diagnóstico da diarreia, duas horas após o tratamento diário e 24 horas após a última dose de solução. Como resultado, as soluções tiveram a eficácia esperada, conseguindo repor os níveis de sódio, diminuir o hematócrito e aumentar a concentração sérica de glicose, além de regularização do pH e aumento nos níveis de bicarbonato. Visto isso, é possível afirmar que as soluções são capazes de reverter os danos causados por diarreia, auxiliando na resposta clínica à doença.

Palavras-chave: Diarreia, reidratação, eletrólitos, energia, neonatos.

Abstract

LONDERO, Uriel Secco. **Development of an oral hydroelectrolytic and energetic solution for calves**. 2017. 53f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Neonatal diarrhea is a multifactorial disease that affects cattle in the first weeks of life and can lead to death depending on severity. One way to reduce the damage caused by this disorder is to use oral rehydrating solutions, which are able to rehydrate, replenish electrolytes and reduce the costs of treating these animals. In this way, the aim of this study was to develop a oral hydroelectrolytic and energetic solution capable of recomposing serum electrolytes, rehydrate and provide energy for neonates with naturally acquired diarrhea. For this, all neonates of a commercial farm were accompanied by the birth until 28 days of life. Of these, 12 calves presented diarrhea and were divided into 4 groups, each receiving a type of developed solution: SB, SBB, SBF and SBBF. These animals received the solution twice daily, together with the liquid diet, for 3 days. Blood samples were collected at the time of diagnosis of diarrhea, two hours after daily treatment and 24 hours after the last dose of solution. As a result, the solutions had the expected efficacy, being able to restore sodium levels, decrease the hematocrit and increase serum glucose concentration, as well as regularization of pH and increase in bicarbonate levels. Given this, it is possible to affirm that the solutions are capable of reversing the damages caused by diarrhea, helping in the clinical response to the disease.

Keywords: Diarrhea, rehydration, electrolytes, energy, neonates.

Lista de Abreviaturas

AGNEs – Ácidos Graxos Não Esterificados

BHBA – β -Hidroxibutirato

Cl^- - Íon Cloro

CO_2 – Dióxido de Carbono

EDTA - ácido etilenodiamino tetra-acético

FAO – *Food and agriculture organization* (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura)

H^+ - Íon Hidrogênio

H_2O – Água

HCO_3^- - Íon Bicarbonato

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

Na^+ - Íon Sódio

$\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ - Bomba de Sódio-Potássio-Adenosina Tri-Fosfatase

NaHCO_3 – Bicarbonato de Sódio

USDA – *United States Department of Agriculture* (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 Diarreia neonatal.....	14
2.2 Transtornos hemogasométricos.....	15
2.3 Tratamentos de quadros de desequilíbrio hidroeletrolítico e energético	16
2.3.1 Fluidoterapia intravenosa.....	16
2.3.2 Fluidoterapia oral	17
3 HIPÓTESE E OBJETIVOS.....	20
3.1 Hipótese.....	20
3.2 Objetivo geral	20
3.3 Objetivos específicos	20
4 Patente.....	21
4.1 RELATÓRIO DESCRITIVO	21
4.1.1 TÍTULO:.....	21
4.1.2 SETOR TÉCNICO:	21
4.1.3 ESTADO DA TÉCNICA	22
4.1.4 DESCRIÇÃO DA ABORDAGEM DO PROBLEMA TÉCNICO E VANTAGENS.....	25
4.1.5 RELAÇÃO DAS FIGURAS	27
4.1.6 DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO.....	28
4.1.6.1 Exemplo.....	28
4.1.6.1.1 Metodologia empregada	28
4.1.6.1.1.1 Preparo das soluções.....	28
4.1.6.1.1.2 Ensaios pré-clínicos	29
4.1.6.1.1.3 Animais e manejos.....	29
4.1.6.1.1.4 Avaliações zootécnicas	30

4.1.6.1.1.5 Avaliações clínicas	31
4.1.6.1.1.6 Coletas de sangue para análises bioquímicas	32
4.1.6.1.1.7 Coletas de sangue para hemograma	33
4.1.6.1.1.8 Análise estatística	33
4.1.6.1.2 RESULTADOS	34
4.2 REIVINDICAÇÕES	38
4.3 DESENHOS	40
4.4 RESUMO	48
5 CONCLUSÃO GERAL.....	49
6 REFERÊNCIAS.....	50

1 INTRODUÇÃO GERAL

O mercado leiteiro é uma das atividades mais importantes para a economia brasileira, sendo o Brasil a sexta maior potência na produção leiteira mundial, que junto com a União Europeia, Índia, Estados Unidos, China e Paquistão detêm 65,4% de toda produção mundial (FAO, 2016). Entretanto, segundo o IBGE (2016), houve uma queda de 2,8% na aquisição de leite no ano de 2015 em relação ao ano anterior, sendo a primeira queda registrada desde o ano 2000, totalizando 24,05 bilhões de litros, com uma queda de cerca de 700 milhões de litros. Em âmbito nacional, apesar da queda de 2,8% na aquisição, o estado de Minas Gerais foi o maior produtor, com cerca de 26,8% da aquisição nacional; já o Rio Grande do Sul, segundo maior produtor, foi contra o âmbito nacional, tendo um aumento de cerca de 1,7%, chegando a 14,5% da aquisição nacional.

Neste contexto, a bovinocultura leiteira tem como um dos principais limitantes na produção e nos custos, a alta taxa de mortalidade de bezerros no primeiro mês de vida, devido à alta ocorrência de doenças, destacando-se os distúrbios gastrointestinais. Segundo o USDA (2007), 56% destas mortes são causadas por diarreia, sendo que somente esta enfermidade é responsável por cerca de 80% de todos os gastos com os bezerros devido a mortalidade, redução do ganho de peso diário, medicamentos, infecções oportunistas, atraso na 1ª concepção, além do difícil controle dos surtos (Virtala et al., 1996, VanAmburgh et al., 2014).

A diarreia neonatal é uma doença multifatorial, tendo como fatores de risco a colostragem com baixo nível de imunoglobulinas e baixa quantidade ingerida, o número de partos da vaca, superlotação dos alojamentos, altas temperaturas ambientais, qualidade da dieta e os cuidados dos criadores (Radostits et al., 2002), tendo como principais agentes a *Escherichia coli* enterotóxica, Rotavírus, Coronavírus e *Cryptosporidium parvum* (Meganck et al., 2015). Alguns patógenos causam uma elevada perda de sódio, cloro e água, isto devido a danos causados nas vilosidades da parede do intestino, ocasionando assim, uma má absorção de água, eletrólitos e nutrientes, sendo que casos não tratados podem levar a uma grave desidratação e acidose, devido à perda principalmente de bicarbonato e consequente aumento de D-lactato sérico (Smith, 2009).

Diversos estudos têm sido realizados a fim de minimizar os impactos causados por esta enfermidade, incluindo a busca de métodos preventivos, curativos e auxiliares

(Recca et al., 2003, Sayers et al., 2016, Ewaschuk et al., 2004). Dentro dos produtos auxiliares, destaca-se a fluidoterapia oral, por ser eficiente na reposição de eletrólitos, reidratação e na disponibilização de energia metabolizável para o animal. Uma solução ideal deve cumprir alguns requisitos como, por exemplo, ter uma osmolaridade entre 500-600 mOsm/L para evitar o mecanismo de contracorrente do intestino, ter sódio suficiente para normalizar seus níveis nos fluídos extracelulares, agentes que auxiliem a absorção de sódio, um agente alcalinizante para correção da acidose e também que provenha energia metabolizável (Jodal and Lundgren, 1986). Contudo, deve se evitar que esses componentes possam causar algum efeito deletério para o animal como, por exemplo, o bicarbonato, o qual pode alcalinizar o sistema gástrico, ocasionando um aumento nas populações de bactérias patogênicas (Martinsen et al., 2005, Zhu et al., 2006). Para tanto, se preconiza a utilização de fontes alcalinizantes provindas do acetato e propionato, as quais além de ter a capacidade de alcalinização do fluído extracelular sem prejuízo ao sistema gástrico, auxiliam na absorção do sódio e água, não interferem na coagulação do leite e podem também servir como fonte de energia para o animal (Smith, 2009).

No mercado atual, são encontrados diversos produtos contendo sódio, potássio, cloro e glicose, principais fontes de energia e eletrólitos, sendo que em alguns produtos ainda é possível encontrar maltodextrina e glicina, sendo estes, fonte de energia de longa duração e auxiliar na absorção de glicose, respectivamente. Entretanto, nenhum produto tem comercializado no país é de nossa tecnologia o que faz com que os custos como este produto sejam bastante elevados.

Sendo assim, seguindo a linha de pesquisa do Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC) e, pensando em criar um produto que consiga auxiliar no tratamento de quadros de diarreia, trabalhamos no desenvolvimento de uma solução com maiores benefícios em comparação as que são comercializadas até o momento, além de diminuir os custos desses produtos tendo em vista que está irá ser uma tecnologia nacional.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Diarreia neonatal

A diarreia neonatal é uma doença que atinge bovinos nas primeiras semanas de vida, sendo responsável por mais de 50% das mortes de bezerros em fazendas leiteiras (USDA, 2007). Além disso, os gastos com a doença podem alcançar níveis de até 80% do total para a criação de bezerros. Estes custos são explicados por diversos fatores, como o uso de medicamentos, maior tempo para o desmame, já que o animal tem um ganho de peso reduzido durante os surtos, com isso há um aumento no tempo para a 1ª concepção do animal (Van Amburgh et al., 2014, Virtala et al., 1996), além de que o controle em rebanhos epidêmicos ainda é bastante difícil (Radostits et al., 2002).

Esta doença ocorre devido a interação entre patógenos, falhas na imunidade colostrar do animal e efeitos do ambiente (Benesi, 1999). A má colostragem e, conseqüentemente, a baixa carga de imunoglobulinas séricas nos bezerros, a superlotação dos estabelecimentos, fêmeas de primeiro parto que normalmente têm colostro de mais baixa qualidade, a qualidade da dieta, alterações climáticas, principalmente em locais que são mais quentes e, principalmente os cuidados que o criador tem com os animais (Radostits et al., 2002), influenciam ainda mais na ocorrência dessa enfermidade.

A diarreia é caracterizada pelo aumento na frequência de defecação, fezes aguadas, rápida desidratação e acidose progressiva que, se não tratada em tempo hábil, pode levar o animal à óbito, sendo que os principais patógenos causadores da doença são: *Escherichia coli* enterotoxigênica, rotavírus, coronavírus e *Cryptosporidium parvum* (Radostits et al., 2002). Alguns desses patógenos podem causar diarreia secretória, fazendo com que o animal tenha graves perdas de sódio, cloro e água para o lúmen do intestino, outros ainda podem causar danos nas paredes intestinais, ocasionando uma redução na absorção de água e eletrólitos (Smith, 2009), além de redução na ingesta de leite e conseqüente hipoglicemia (Trefz et al., 2016).

Uma das principais conseqüências da diarreia é a acidose metabólica, podendo causar arritmia cardíaca, falha cardíaca por diminuição de potássio no miocárdio, aumento do potássio intracelular e desestruturação da membrana celular (Omole et al., 2001). Este estado é causado principalmente pela diminuição de bicarbonato por

perda fecal ou o aumento de D-lactato (Kasari, 1999). O aumento de lactato é causado pela hipoperfusão devido à desidratação e endotoxemia, com consequente glicólise anaeróbica e diminuição no metabolismo hepático do D-lactato (Naylor and Kronfeld, 1985, Naylor, 1987).

2.2 Transtornos eletrolíticos

Para que haja uma manutenção nos níveis de pH sanguíneo, o organismo desenvolveu diversos mecanismos de homeostase. Em situações normais, ácidos e bases geradas endogenamente, são tamponados por ácidos fracos ou compostos anfóteros, e excretados via urina e fezes, sendo os principais órgãos responsáveis por esses mecanismos os rins, intestinos, pulmões e fígado (Ortolani, 2003).

Uma das principais formas de tamponamento é pela formação de ácido carbônico, que rapidamente se transforma, o qual pode ser metabolizado em bicarbonato (HCO_3^-) e íon de hidrogênio (H^+) para combater acidoses, ou então em dióxido de carbono (CO_2) e água (H_2O) para combate de alcaloses (Atkinson and Camien, 1982). No caso de alguma dessas alterações, acompanhada de uma baixa eficiência ou então falha nos mecanismos de homeostase, os transtornos podem ser classificados como metabólicos, respiratórios ou mistos. Por ser de maior ocorrência, os mecanismos de controle de acidose são mais eficientes que os de controle de alcalose.

A partir do nascimento, intensas modificações hemogasométricas afligem o animal. As primeiras 24 horas de vida são de extrema importância para a sobrevivência, já que este passa por um estado de acidose mista, tanto metabólica quanto respiratória, entretanto, naturalmente este estado se estabiliza (Szenci et al., 1980). Após este período, algumas doenças, como é o caso da diarreia neonatal bovina, podem causar uma grande desidratação no animal, devido à perda de água e eletrólitos nas fezes (Constable et al., 1998). Esta enfermidade é caracterizada por elevada perda de H_2O , sódio (Na^+), cloro (Cl^-), HCO_3^- , aumento ou perda de potássio (K^+) e acidose metabólica progressiva (Dalton et al., 1965, Lorenz, 2009).

Este estado de desidratação é caracterizado por reduzir a irrigação sanguínea em tecidos periféricos como, por exemplo, a pele e o músculo, visando a suplementação para órgãos vitais. Esta falta de irrigação, ocasiona uma menor oxigenação nos tecidos, ocorrendo glicólise anaeróbica com produção excessiva de

ácido láctico (Lorenz, 2009), exacerbando o quadro de acidose metabólica. Além disso, a desidratação faz com que haja menor circulação sanguínea pelos rins, reduzindo produção de urina, causando uma menor excreção de H^+ (Vieira and Malnic, 1968).

Existem ainda alguns mecanismos compensatórios para a acidose, como: aumento na concentração de H^+ na urina (Elkinton et al., 1960), aumento da absorção de HCO_3^- pelos tubos renais (Soriano et al., 1967) e aumento na frequência respiratória (Salles et al., 2012). No entanto, no caso de pH extremamente baixos, o animal acaba por ter hipoventilação, que normalmente acaba com a morte do mesmo (Ortolani, 2003).

2.3 Tratamentos de quadros de desequilíbrio hidroeletrólítico e energético

2.3.1 Fluidoterapia intravenosa

Como principal forma de reversão de quadros de desequilíbrio hidroeletrólítico e energético se tem o uso de fluidoterapia intravenosa, atuando na reanimação do animal, caracterizada por ser uma terapia invasiva e de rápida correção da desidratação, desequilíbrios eletrólíticos e acidose, com consequente redução na concentração de D-lactato (Smith and Berchtold, 2014).

Atualmente, é possível encontrar no mercado diversos produtos para essa modalidade de terapia. Uma das principais soluções utilizadas são as isotônicas de bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$). Esta solução tem um alto poder alcalinizante por não ser metabolizada no fígado e ter um efeito alcalinizador direto no sangue (Naylor and Forsyth, 1986), além de aumento na pressão de dióxido de carbono e na osmolaridade (Bishop and Weisfeldt, 1976). Entretanto, a principal desvantagem da utilização desta, é o grande volume que deve ser administrado para a correção deste estado.

Como complemento, vem sendo bastante utilizada nos últimos anos as soluções hipertônicas de $NaHCO_3$. Esta pode aumentar imediatamente o pH, regularizando a acidose, a concentração de HCO_3^- , principal regulador do pH sanguíneo, e também aumento no excesso de bases, que normalmente estão baixos nos casos de acidemia (Coskun et al., 2010). Essa solução pode ser utilizada quando uma fluidoterapia de longa duração não é possível, entretanto, ela deve ser usada com cuidado pois pode causar diversos desequilíbrios como hiperosmolaridade do fluido extra celular e consequente hipocalemia, hipernatremia, hipocalcemia e acidose

do fluido intracelular (Berchtold, 2009). Ainda, a administração deste tipo de solução necessita de um controle mais rigoroso, pois em excesso pode desencadear uma inversão do quadro de acidose para uma alcalose.

Além dessas soluções existem outras, porém não são tão efetivas. É o caso do ringer lactato e acetato, solução hipertônica salina e solução de glicose. O ringer lactato é considerado um alcalinizante fraco, já que deve ser primeiramente metabolizado, não sendo indicado para o tratamento de acidoses severas (Kasari and Naylor, 1985). Outro problema é que a quantidade de D-lactato presente nesta solução pode exacerbar a acidose no animal (Lorenz and Vogt, 2006). Assim como o ringer lactato, o ringer acetato apresenta baixo poder alcalinizante, contudo não causa aumento na acidose (Smith and Berchtold, 2014).

As soluções hipertônicas salinas têm a capacidade de rapidamente expandir o plasma sanguíneo em animais que estão extremamente desidratados, mas não é capaz de reduzir a acidose (Leal et al., 2012). Já as soluções de dextrose, podem reduzir o desequilíbrio energético, entretanto não são capazes de corrigir a desidratação (Smith and Berchtold, 2014).

A utilização da fluidoterapia intravenosa é indicada quando o animal apresentar sinais de enoftalmia, fraqueza ou não conseguir ficar em pé, baixa ou ausência de sucção e hipotermia nas extremidades (Trefz et al., 2012). Contudo, quando o animal tiver seu quadro mais estabilizado ou em quadros iniciais, pode-se substituir o tratamento intravenoso pelo oral. É recomendado que as duas formas de terapia sejam utilizadas ao mesmo tempo, no entanto esse tratamento necessita de um profissional capacitado para realização do procedimento, além de um médico veterinário para indicar quais tipos de soluções devem ser utilizadas, o que não é uma realidade nos sistemas de produção leiteira. Estes problemas podem ser contornados com a utilização de terapias orais, as quais não precisam de mão-de-obra especializada, devido à sua fácil administração.

2.3.2 Fluidoterapia oral

Soluções de reidratação oral são uma forma de baixo custo e de fácil utilização nas fazendas para combater os sintomas de desidratação causadas pela diarreia. Sendo originalmente desenvolvido para humanos, os reidratantes orais são

considerados pela Organização Mundial da Saúde um dos principais avanços da medicina no último século (Michell, 1988).

Para Fayet (1971) e Phillips et al. (1971) uma solução oral deve apresentar quatro princípios: ter sódio suficiente para normalizar o volume do fluido extracelular; conter compostos que auxiliem na absorção de sódio e água do intestino como, por exemplo, glicose, propionato, acetato, glicina, entre outros; conter uma substância alcalinizante, para que combata a acidose metabólica progressiva no animal; disponibilize fontes de energia metabolizável, já que o animal normalmente passa por um balanço energético negativo. Entretanto, as indicações de soluções orais ainda são imprecisas, pois muitas vezes não levam em consideração os compostos e a condição clínica na qual deve ser utilizada (Michell et al., 1992).

O sódio é o principal regulador do volume do fluido extracelular, sendo assim uma solução de reidratação deve ter a capacidade de rapidamente repor a quantidade de sódio perdida durante o surto de diarreia (Smith, 2009). Para alguns pesquisadores (Michell et al., 1992, Brooks et al., 1996), altas concentrações de sódio em soluções são o ideal, com concentração de aproximadamente 120-133 mmol/L, entretanto, valores muito superiores a isso, podem causar um atraso no esvaziamento do abomaso pelo aumento na osmolaridade intestinal, podendo causar obstrução, e consequente problemas gastrointestinais (Sen et al., 2006).

A absorção de sódio que ocorre no intestino é um processo passivo, sendo que no intestino delgado é dependente de glicose e/ou aminoácidos para ser absorvido, responsável por aumentar a taxa de passagem pelo jejuno (Lorenz et al., 2011). A glicose pode servir de cotransportador do sódio, se utilizando o mecanismo da bomba $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{ATPase}$. Qualquer aumento intracelular de sódio, faz com que também haja um influxo para o fluido extracelular mediado também pela bomba $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{ATPase}$, tendo como resultado a reidratação do animal (Desjeux et al., 1977). Além da glicose, alguns aminoácidos neutros, apresentam os mesmos mecanismos para absorção de sódio, como alanina, glicina e glutamina.

O composto mais receitado para combate à acidemia é o bicarbonato, entretanto, este pode causar alguns problemas, como alcalinização do abomaso, propiciando a proliferação de bactérias patogênicas (Zhu et al., 2006), e também interfere na digestão do leite, inibindo a coagulação do leite no abomaso (Naylor, 1992). Para contornar esses problemas, a utilização de acetato e propionato se mostram tão efetivos quanto o bicarbonato (Naylor et al., 1990). O acetato e o

propionato apresentam algumas vantagens em relação ao bicarbonato. Além de não causar alcalinização do abomaso (Sen et al., 2009) e nem interferir na coagulação do leite (Constable et al., 2009), esses compostos podem facilitar a absorção de sódio e água no intestino delgado e também se tornar uma fonte de energia metabolizável para o bezerro (Smith, 2009), já que este passa por um estado de hipoglicemia (Trefz et al., 2016). Sendo assim, esses compostos podem substituir, sem prejuízos, a utilização de bicarbonato.

3 HIPÓTESE E OBJETIVOS

3.1 Hipótese

A combinação de substâncias ativas auxiliam na regularização do status hemogasométrico, energético e hidroeletrolítico de bezerros acometidos por diarreia.

3.2 Objetivo geral

Desenvolver uma solução oral para bezerros que vise a restauração dos eletrólitos perdidos em doenças neonatais, aumentando a glicemia, equilibrando o balanço ácido-base e reduzindo a desidratação, além de prover melhor imunidade ao animal contra infecções oportunistas.

3.3 Objetivos específicos

- Determinar a osmolaridade e o pH ideal para uma solução capaz de restabelecer os equilíbrios energético e hidroeletrolíticos de bezerros acometidos por doenças que cruzem com desidratação;
- Desenvolver uma solução oral que auxilie no tratamento de doenças neonatais, visando aumentar a glicemia, equilibrar o balanço ácido-base e reduzir a desidratação;
- Determinar um padrão clínico e hematológico de bezerras submetidas ao tratamento com a solução oral;
- Determinar o perfil bioquímico de bezerras submetidas ao tratamento com a solução oral.

4 PATENTE

Patente redigida segundo as normas da Instrução Normativa 31/2013 do Instituto Nacional de Propriedade Intelectual.

4.1 RELATÓRIO DESCRITIVO

4.1.1 TÍTULO:

“Pó extemporâneo repositores eletrolítico, energético e mineral para neonatos bovinos.”

4.1.2 SETOR TÉCNICO:

A – Necessidades humanas; **A61** – Ciência médica ou veterinária, higiene; **A61K** – Preparações para finalidades médicas odontológicas ou higiênicas; **A61K 9/08** – Preparações medicinais caracterizadas por formas físicas especiais em soluções.

A – Necessidades humanas; **A61** – Ciência médica ou veterinária, higiene; **A61K** – Preparações para finalidades médicas odontológicas ou higiênicas; **A61K 9/14** – Preparações medicinais caracterizadas por formas físicas especiais em forma de partículas.

A – Necessidades humanas; **A61** – Ciência médica ou veterinária, higiene; **A61P** – Atividade terapêutica específica de compostos químicos ou preparações medicinais; **A61P 1/12** – Fármacos para tratamento de distúrbios do trato alimentar ou do sistema digestório antidiarreicos.

A – Necessidades humanas; **A61** – Ciência médica ou veterinária, higiene; **A61P** – Atividade terapêutica específica de compostos químicos ou preparações medicinais; **A61P 3/12** – Fármacos para o tratamento de distúrbios metabólicos para homeostase de eletrólitos.

A – Necessidades humanas; **A61** – Ciência médica ou veterinária, higiene; **A61P** – Atividade terapêutica específica de compostos químicos ou preparações medicinais; **A61P 7/08** – Fármacos para tratamento de distúrbios do sangue ou do fluido extracelular para substitutos do plasma; soluções de perfusão; dialíticos ou hemodialíticos; fármacos para distúrbios eletrolíticos ou de equilíbrio ácido-base.

A – Necessidades Humanas; **A23** – Alimentos ou produtos alimentícios, seu beneficiamento, não abrangido por outras classes; **A23K** – Produtos alimentícios especialmente adaptados para animais, métodos especialmente adaptados para a produção dos mesmos; **A23K 50/10** – Produtos alimentícios especialmente adaptados para ruminantes.

4.1.3 ESTADO DA TÉCNICA

[001] A presente invenção se refere à um pó extemporâneo com efeito repositivo de eletrólitos perdidos durante episódios de doenças gastrointestinais e respiratórias em bezerras.

[002] A diarreia neonatal é uma das doenças mais comuns que acomete animais de produção nos primeiros 28 dias de vida, sendo uma das principais causas de perda econômica em rebanhos bovinos. Esta é uma enfermidade que apresenta diversos fatores de risco como, por exemplo, má colostragem, colostro

de má qualidade, superlotação dos alojamentos, intempéries, dietas de baixa qualidade e também, sendo um dos principais fatores, os cuidados que o criador tem com o animal. Normalmente, a doença envolve a interação destes fatores em concomitância a infecções causadas por bactérias, vírus e protozoários.

[003] Esta doença é caracterizada por diarreia aquosa profusa, desidratação acentuada e aumento progressivo de acidose metabólica que, caso não tratada adequadamente, pode levar o animal ao óbito em questão de horas, dependendo da severidade do problema. Em relação ao seu tratamento, o maior problema é que, muitas vezes, os tratamentos são baseados somente na utilização de antibióticos, deixando de lado a correção da desidratação e acidose.

[004] Os fatores de maior importância para a diminuição da perda econômica com a diarreia neonatal é a utilização correta de meios de reidratação, sendo os principais a fluidoterapia intravenosa e fluidoterapia oral. Tais tratamentos visam a reidratação, recomposição de eletrólitos, homeostase do balanço ácido-base e também para fornecimento de energia metabolizável para o animal.

[005] A terapia intravenosa é mais utilizada em casos de grave desidratação do animal, pois é mais rapidamente absorvida uma vez que é inserida direto na circulação sanguínea. Entretanto, a utilização deste tratamento é mais complicada de ser realizada à campo, devido à necessidade de mão-de-obra especializada.

[006] Segundo a Organização Mundial da Saúde, um dos maiores avanços na medicina do século passado foi o desenvolvimento de soluções reidratantes orais, sendo essa forma de tratamento, uma alternativa em casos

de diarreia neonatal em bezerros, isto devido a sua boa eficiência e fácil administração, entretanto pouco utilizada, sendo uma boa oportunidade de expansão do uso, desde que sejam desenvolvidos produtos mais baratos do que os encontrados hoje no mercado. Normalmente as soluções são desenvolvidas para que sejam capazes de reidratar, equilibrar o balanço ácido-base e prover energia metabolizável para o animal. A seguir é demonstrado algumas vantagens do nosso produto sobre alguns já comercializados.

[007] A patente US2016199410A1 traz uma solução de reidratação oral para humanos, como o caso de crianças, pessoas com síndrome do intestino curto e atletas. Em sua composição, agrega diversos minerais, fontes de energia e flavorizantes. Nosso produto, além de ser direcionado para bovinos neonatos, auxiliando na rápida reposição de eletrólitos.

[008] Já a patente ZA9707884B, fala sobre uma solução de reidratação oral também para humanos, que contém cadeias de glicose de 9 a 36 unidades, chegando uma osmolaridade menor que 200 mOsm/L. Nosso produto é considerado uma solução de reidratação hipertônica, com osmolaridade de pelo menos 300 mOsm/L, o que segundo Smith (2009), obtém resultados mais satisfatórios que soluções isotônicas. Mesmo com essa alta osmolaridade, é possível a utilização da mesma tanto em leite quanto em água.

[009] O documento CN103006694 demonstra uma preparação de um sal utilizado para reidratação de diversos animais, utilizando basicamente cloreto de sódio, cloreto de potássio, glicose e lactato de sódio. Nosso produto utiliza a combinação de algumas destas substâncias juntamente com outras as quais contribuem para a melhora do animal.

[010] O documento RU2525725 fala de uma invenção que conta com uma mistura de eletrólitos e líquidos que consiste na utilização de lactato de sódio, gluconato de potássio e cloreto de cálcio, além disso a solução contém um adoçante. O principal efeito para essa solução é que ela ficou mais palatável, devido à redução da salinidade. Nosso produto não contém nenhum tipo de flavorizante, entretanto, de maneira prática, os animais não rejeitaram a oferta do produto.

[011] Já o documento US6066341A trata de uma composição para rápida recuperação de bezerros com diarreia, sendo o diferencial do produto a utilização de fibras vegetais. Nosso produto tem como diferencial a utilização de substâncias ativas orgânicas que possuem uma maior biodisponibilidade.

[014] Diante do exposto, a presente invenção diz respeito a uma composição que tem associado a ela substâncias ativas orgânicas, que são mais biodisponíveis que substâncias ativas comuns, que trazem benefícios para o animal, reduzindo a desidratação, diminuindo o desequilíbrio ácido-base, aumentando a disponibilidade de energia, além de prover uma melhora na imunidade do animal. Também existe a possibilidade de futuramente ser adicionado novos compostos a solução como novas substâncias ativas, orgânicas ou inorgânicas, vitaminas e fontes de energia e alcalinizantes, podendo assim reduzir ainda mais os gastos com o controle desta doença.

4.1.4 DESCRIÇÃO DA ABORDAGEM DO PROBLEMA TÉCNICO E VANTAGENS

[015] A diarreia neonatal é uma das principais causas de morte em bezerros no primeiro mês de vida, sendo responsável pelos maiores gastos com

a criação, chegando a alcançar até 80% dos gastos, devido a diversos fatores, entre eles a mortalidade, o gasto com medicamentos, redução do ganho de peso e atraso no início da primeira lactação. Diversas são as causas deste problema como, por exemplo, a má colostragem, superlotação dos alojamentos, condições ambientais, a qualidade da dieta e também o nível de cuidados que o criador tem para o animal.

[016] Todos estes fatores deixam o animal mais susceptível a infecções por patógenos, os quais são responsáveis por diversos problemas como lesões ou atrofia das vilosidades nas paredes dos intestinos e inflamações, além da produção de enterotoxinas, tendo como consequência uma hipersecreção intestinal e também má absorção de metabólitos, ocasionando um desequilíbrio hidroeletrólítico. Portanto, a alta taxa de mortalidade destes animais se dá principalmente pela grande perda de fluídos corpóreos decorrentes destes danos, ocasionando uma intensa desidratação no animal e, conseqüentemente, uma acidose metabólica, a qual dependendo do grau de severidade e a falta de tratamento pode levar ao óbito.

[017] A presente invenção pode servir como uma alternativa de baixo custo em relação às tecnologias já existentes, com o diferencial de apresentar em sua composição compostos importantes que auxiliam na melhora da imunidade do animal, combatendo principalmente bactérias enterotóxicas como também na melhor ativação das vias gliconeogênicas, ajudando na redução do balanço energético negativo que estes animais passam durante casos de diarreia.

4.1.5 RELAÇÃO DAS FIGURAS

[018] Figura 1: Níveis do pH venoso (Média±SEM; A), bicarbonato (HCO_3^- , Média±SEM; B) e excesso de bases (EB, Média±SEM; C) no pré-tratamento (hora 0), durante o tratamento (horas 24, 48 e 72) e 24 horas após o tratamento (hora 96) para os grupos SB, SBB, SBF e SBBF; linhas pontilhadas valores basais segundo Freitas et al., 2010.

[019] Figura 2: Concentração sérica de lactato (Média±SEM, A), sódio (Média±SEM; B), potássio (Média±SEM; C) e glicose (Média±SEM; D), no pré-tratamento (hora 0), durante o tratamento (horas 24, 48 e 72) e 24 horas após o tratamento (hora 96) para os grupos SB, SBB, SBF SBBF; linhas pontilhadas para sódio potássio, glicose valores basais segundo Freitas, 2009 e para lactato, Kaneko et al, 2008.

[020] Figura 3: Média ± SEM do número de leucócitos totais (A), neutrófilos segmentados (B) e hemácias (C), no pré-tratamento (hora 0), durante o tratamento (horas 24, 48 e 72) e 24 horas após o tratamento (hora 96) para os grupos SB, SBB, SBF, SBBF; linhas pontilhadas valores basais segundo Jain, 1996.

[021] Figura 4: Pregueamento cutâneos (Média±SEM) no pré-tratamento (hora 0), durante o tratamento (hora 24, 48, 72) e 24 horas após o tratamento (hora 96) para os grupos SB, SBB, SBF, SBBF; linhas pontilhadas tempo para animais hípidos segundo Feitosa, 2008.

[022] Tabela 1: Média ± erro padrão de parâmetros hemogasométricos antes do tratamento (hora 0), durante o tratamento (horas 24, 48 e 96) e 24 horas após o término do tratamento (hora 96) para os grupos SB, SBB, SBF, SBBF.

[023] Tabela 2: Média \pm erro padrão de parâmetros metabólicos antes do tratamento (hora 0), durante o tratamento (horas 24, 48 e 72) e 24 horas após o término do tratamento (hora 96) para os grupos SB, SBB, SBF, SBBF.

[024] Tabela 3: Média \pm erro padrão de parâmetros hematológicos antes do tratamento (hora 0), durante o tratamento (horas 24, 48 e 72) e 24 horas após o término do tratamento (hora 96) para os grupos SB, SBB, SBF, SBBF.

[025] Tabela 4: Média \pm erro padrão de parâmetros clínicos antes do tratamento (hora 0), durante o tratamento (horas 24, 48 e 72) e 24 horas após o término do tratamento (hora 96) para os grupos SB, SBB, SBF, SBBF).

4.1.6 DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[026] O produto descrito nessa invenção é composto por substâncias ativas as quais em combinação trazem benefícios para o animal, em virtude de seus mecanismos de ação sinérgicos e complementares.

[027] Foram desenvolvidas quatro diferentes formulações:

4.1.6.1 Exemplo

[028] Para avaliar a eficácia do produto foram realizadas provas de conceito através de experimentação *in vivo* em bezerras da seguinte maneira:

4.1.6.1.1 Metodologia empregada

4.1.6.1.1.1 Preparo das soluções

[029] Para a avaliação do produto, todas as formulações de pós extemporâneos foram dissolvidas em água destilada. Estes procedimentos foram realizados junto ao laboratório de inovação farmacêutica do Núcleo em Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC) da Universidade Federal de Pelotas. As soluções foram preparadas utilizando matérias-primas em pó, sendo cada uma das substâncias ativas pesadas individualmente em balança analítica. Foi utilizado agitador magnético para dissolver os pós em água destilada. Após a dissolução as soluções foram conservadas em refrigerador doméstico a 4°C.

4.1.6.1.1.2 Ensaios pré-clínicos

[030] Após a dissolução dos pós em água destilada, foi mensurado o pH de cada uma das soluções. Posterior a isso, as soluções foram diluídas em água destilada em uma proporção de 3:80 a fim de mimetizar a quantidade ofertada, para análise de osmolaridade. Além disso, foi calculada a diferença de íons fortes utilizando a seguinte fórmula:

$$SID = ([Na^+] + [K^+]) - [Cl^-]$$

[031] Também foi previamente analisada, com informações da literatura, a solubilidade de cada um dos compostos e, a partir disto, foi possível estabelecer a quantidade de solvente (água) a ser utilizada na dissolução das substâncias da formulação.

4.1.6.1.1.3 Animais e manejos

[032] Foram utilizadas 12 bezerras da raça Holandês, acompanhadas do nascimento até a 4^a semana de vida. Após o nascimento, os animais foram separados das mães e receberam o colostro de alta qualidade, de acordo com o manejo instituído pela propriedade. Coletas de sangue foram realizadas em tubos contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) por punção na veia jugular, de 24-48 horas após o nascimento de todas as bezerras do experimento. As amostras de sangue foram centrifugadas a 1800 x g para obtenção do plasma e posterior análise da concentração de proteínas plasmáticas totais (PPT) via refratômetro. As bezerras que apresentavam níveis de PPT abaixo de 5,0 g/dL não participaram do experimento por apresentarem baixa concentração de imunoglobulinas, que pode ser resultado de uma falha na absorção intestinal de imunoglobulinas ou por colostragem ineficiente. As bezerras estavam alocadas em baias individuais e eram alimentadas 2 vezes ao dia com leite e, com concentrado, volumoso e água *ad libitum*.

[033] Após diagnóstico de diarreia, as bezerras foram distribuídas de forma aleatória em 4 grupos: SB, n=3, utilizando a 50 g de formulação dissolvida em água destilada com quantidade suficiente para (q.s.p) 75 mL; SBB, n=3, dissolvida em água destilada com q.s.p. 75 mL; SBF, n=3, dissolvida em água destilada com q.s.p. 75 mL; e SBBF, n=3, dissolvida em água destilada com q.s.p. 75 mL. Os animais em tratamento receberam as formulações diluídas em 2 litros de leite, durante as duas refeições diárias por 3 dias.

4.1.6.1.1.4 Avaliações zootécnicas

[034] Todas as bezerras que nasceram durante o experimento tiveram seu peso e altura medidos, para que os animais fossem distribuídos de maneira homogênea entre os grupos.

4.1.6.1.1.5 Avaliações clínicas

[035] As bezerras foram observadas todos os dias para identificação de sinais de diarreia, após o aparecimento de qualquer alteração no comportamento ou condição física, um exame clínico minucioso era realizado por um médico veterinário, na busca de sinais que indicassem alterações no trato digestório. Eram avaliados os principais sinais vitais, como a frequência cardíaca (batimentos por minuto), através da auscultação da área cardíaca com um estetoscópio, frequência respiratória (movimentos respiratórios por minuto) por auscultação pulmonar, temperatura corporal (graus Celsius) medido com termômetro de mercúrio inserido na ampola retal, coloração das mucosas, tempo de perfusão capilar (segundos), avaliado através de pressão sobre a mucosa oral, além do grau de desidratação pelo nível de enoftalmia e pelo tempo de pregueamento cutâneo na tabua do pescoço, conforme parâmetros propostos por Smith (2009).

[036] As fezes foram coletadas por estimulação retal, sendo observadas a sua fluidez, coloração, odor, quantidade e presença de substâncias anormais, sendo assim associado a um escore fecal, classificado de 0 à 3, da seguinte maneira: 0 – fezes normais; 1 – tendendo a pastosas; 2 – pastosas e 3 – aquosa/diarreia intensa. Para entrar no experimento, foram selecionados somente animais que apresentassem fezes aquosas e diarreia intensa.

[037] Além da solução, os animais recebiam também 1 dose de 3 mL de enrofloxacino à 10% (Kinetomax[®], Bayer Saúde Animal, SP, Brasil).

4.1.6.1.1.6 Coletas de sangue para análises bioquímicas

[038] As amostras de sangue foram coletadas no aparecimento da enfermidade, antes do fornecimento da solução (hora 0), 2 horas após o segundo fornecimento (hora 24), quarto fornecimento (hora 48), sexto fornecimento (hora 72) e 24 horas após a última aplicação (hora 96). Após a assepsia do local com álcool iodado, era utilizada a metodologia de venopunção jugular, sendo utilizados 3 tubos vacuolizados com heparina sódica, fluoreto de potássio (KF) e sem anticoagulantes. As amostras coletadas com KF e sem anticoagulante, foram centrifugadas a 1800 x g, por 15 minutos, a fim de se obter plasma e soro, respectivamente.

[039] As amostras de sangue coletadas com tubos heparinizados foram analisadas através do analisador bioquímico portátil I-STAT 1 Analyser (Abbott Point of Care, IL, EUA) portando o cartucho CG8+ (Abbott Point of Care, IL, EUA), para mensuração do potencial de hidrogênio (pH), pressão de gás carbônico (pCO₂), pressão de oxigênio (pO₂), total de gás carbônico (tCO₂), bicarbonado (HCO₃⁻), excesso de bases (Be_{ecf}), saturação de oxigênio (sO₂), glicose, sódio (Na), potássio (K), cálcio ionizado (Ca⁺²), hematócrito (Hct) e hemoglobina (Hgb).

[040] As amostras coletadas com fluoreto de potássio foram utilizadas para mensurar lactato (Lac), através de método enzimático analisado pelo analisador bioquímico automático LabMax Plenno (Labtest Diagnóstica SA, MG,

Brasil). Já as amostras coletadas sem anticoagulante, foram utilizadas para mensurar cálcio total (Ca²⁺), PPT, albumina (Alb), fósforo (P), cloretos (Cl) e magnésio (Mg).

4.1.6.1.1.7 Coletas de sangue para hemograma

[041] Foram realizadas coletas de sangue para hemograma no dia do diagnóstico e 24 horas após o término das administrações das soluções. A análise foi realizada através da contagem do número de eritrócitos e leucócitos totais, sendo que as amostras primeiramente foram diluídas em um diluidor automático DA-500 (CELM, SP, Brasil) sendo feita diluição de 1:500 para a contagem de leucócitos totais, e 1:49999 para contagem de eritrócitos. A contagem foi realizada em um contador automático de células CC-530 (CELM, SP, Brasil), o qual mensura o número de eritrócitos e de leucócitos por impedância. Esfregaços sanguíneos foram feitos e corados com Romanowky Panótico Rápido (LaborClin[®], PR, Brasil), e através do microscópio ótico Nikon[®] Eclipse E200 (Nikon Instruments Inc., Tokyo, Japão) foi realizada a identificação de 100 células, a fim de se obter o diferencial celular leucocitário através da contagem de neutrófilos segmentados, neutrófilos bastonetes, linfócitos, monócitos e eosinófilos (George et al., 2010).

4.1.6.1.1.8 Análise estatística

[042] Os resultados obtidos deste trabalho foram analisados pelo programa estatístico Statistical Analysis Software Studio (SAS Institute Inc., Cary, EUA). As médias foram analisadas através do método MIXED MODEL,

considerando o grupo, o momento da coleta e sua interação (Littell et al., 1998). A comparação das médias individuais foi analisada através do método Tukey-Kramer. Médias pontuais foram feitas pelo método One-Way ANOVA. Valores de $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

4.1.6.1.2 RESULTADOS

[043] Previamente à utilização todas as soluções passaram por análises pré-clínicas, a fim de verificar se as soluções trariam benefícios aos animais e também se estavam adequadas com o que a literatura fala sobre condições das soluções orais para bezerros. A avaliação do pH demonstrou que todas as soluções tinham pH neutro, portanto não causando problemas ao animal, sendo as seguintes potenciais hidrogeniônicos: SB = 6,84; SBB= 6,88; SBF= 6,68; SBBF = 6,68.

[044] Um importante parâmetro a ser avaliado previamente, devido ser importante para que não haja agravamento do quadro de diarreia, é a osmolaridade, visto que as células epiteliais do intestino conseguem absorver até uma faixa de 500-600 mOsm/L. Caso os níveis sejam superiores a isso, pode ocorrer um mecanismo de contracorrente, fazendo com que haja uma secreção de eletrólitos os quais serão excretados. As soluções obtiveram os valores de: SB = 306 mOsm/L; SBB = 306 mOsm/L; SBF = 306 mOsm/L; e SBBF = 306 mOsm/L; resultados estes mostram que o produto pode ser utilizado tanto na água (0 mOsm/L) quanto no leite (280 mOsm/L) sem nenhum prejuízo para o animal.

[045] A diferença de íons fortes (SID) é definida pela diferença entre os cátions fortes e ânions fortes, sendo que a eficácia de uma solução pode ser prevista somente observando sua composição. Com o estudo dos constituintes de uma solução associado a princípios físico-químicos foi possível determinar que o SID é o principal fator para a alcalinização ou acidificação dos fluídos corporais em uma solução. Poucas informações se tem acerca do valor ideal de SID, entretanto Smith & Berchtold (2014) estipularam que o mínimo para uma solução é 60 mM e o máximo, estipulado por Stämpfli et al., (2012) é de 110 mM. As soluções testadas obtiveram um resultado de 111,71 mM, o que pode definir que estas formulações estão com a composição ideal para alcalinização dos fluídos corpóreos.

[046] Todas as soluções se mostraram eficientes na regulação do pH, como pode ser observado na figura 1A, onde os animais apresentavam pH abaixo do fisiológico antes do tratamento, dando destaque a SBBF a qual os animais voltaram ao fisiológico em maior velocidade que as demais, ocorrendo no primeiro dia após o tratamento, se mostrando mais eficaz que a SB, a qual demorou maior tempo para regulação do mesmo. Isto pode ter ocorrido devido a um rápido aumento na concentração sérica de bicarbonato, como demonstrado também na figura 1B.

[047] Da mesma forma, o rápido controle do pH pode ter sido obtido por um aumento súbito na concentração de bases no sangue, do mesmo modo que a concentração de bicarbonato. Sendo que, os grupos SBB, SBF e SBBF, tiveram mais rápida recuperação devido a um aumento mais acentuado nesta concentração, como pode ser observado na figura 1C.

[048] Concomitante ao aumento do pH, houve uma queda na concentração de lactato (figura 2A). O aumento deste composto está associado a desidratação e a diminuição da perfusão tecidual. Como pode ser observado, a partir da terceira coleta, houve um decréscimo na concentração deste, isso possivelmente seja pela maior volemia devido ao tratamento.

[049] Antes de iniciar o tratamento, pode-se observar uma redução na concentração sérica de sódio a níveis a baixo do fisiológico, entretanto, já no primeiro dia de tratamento os níveis já chegaram às concentrações normais e se mantiveram assim até a avaliação posterior ao tratamento (Figura 2B). Outro fator importante a frisar é a concentração de potássio, a qual não obteve alterações graves (Figura 2C), podendo ser devido a um combate eficaz à doença, diminuindo assim os danos causados às mucosas.

[050] Durante o período da doença, o animal perde bastante quantidade de energia, devido à redução na ingesta de alimentos, como é possível observar na coleta 0 da figura 2D, o qual todos os animais estavam com a concentração sérica de glicose a baixo do fisiológico. Entretanto, já no primeiro dia de tratamento foi possível, visualizar que houve um aumento no nível de glicose (24 horas), e se manteve até 24 horas após o tratamento (96 horas). Interessantemente, o grupo de animais SBB manteve constante a concentração, mesmo com o término do tratamento, diferente dos demais grupos os quais houve uma redução nessa concentração.

[051] Todos os animais antes de iniciar o tratamento e no final, tiveram a concentração de leucócitos mensurada, a fim de determinar que todos apresentavam diarreia infecciosa e não somente por causa alimentar, e verificar se estes tinham recuperado as condições normais após o tratamento. Como

pode ser observado na figura 3A, todos os grupos tiveram a concentração de leucócitos totais aumentada antes de entrar em tratamento, apresentando valores acima de 12×10^3 células/mm³. Após o tratamento é possível observar uma redução na concentração destas células, com exceção do grupo SBF. Entretanto, todos os animais estavam clinicamente saudáveis ao final do tratamento. Esta redução se deve principalmente pela diminuição na concentração de neutrófilos, responsáveis pela primeira linha de defesa imunológica, como é possível ser visualizado na figura 3B. Isso pode ter sido ocasionado devido ao combate ao patógeno e estabilização do quadro de diarreia.

[052] Quando os animais entraram no experimento, todos apresentavam considerável desidratação, como pode ser observado pelo pregameamento cutâneo (PC) na coleta 0 (figura 4), onde estes apresentavam PC acima de 3,5 segundos. Com o tratamento, pode-se ver expressiva redução na desidratação do animal, possivelmente pelo tratamento aumentar os níveis de sódio (figura 2B) e consequente absorção de água para os fluidos corpóreos. Vinte e quatro horas após o tratamento (96 horas), os animais já alcançaram os níveis de normais de PC, indicando que houve reidratação dos mesmos. Além disso, a figura 3C reforça essa hipótese, demonstrando uma redução a níveis basais na concentração de hemácias no sangue.

[053] Os demais parâmetros analisados podem ser vistos nas tabelas 1 (gasometria), 2 (metabólitos), 3 (parâmetros hematológicos) e 4 (parâmetros clínicos).

4.2 REIVINDICAÇÕES

1 – Pó extemporâneo repositor de eletrólitos para bezerros, capaz de reduzir os sinais de diarreia;

2 - Pó extemporâneo repositor de eletrólitos para bezerros, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por conter qualquer tipo de sal conjugado com uma parte orgânica;

3 – Pó extemporâneo repositor de eletrólitos para bezerros, de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizada por ser em pó ou solúvel em qualquer tipo de solvente;

4 – Pó extemporâneo repositor de eletrólitos para bezerros, de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizado por obter osmolaridade em no mínimo 220 mOsm/L quando misturado em quantidade adequada de água;

5 – Pó extemporâneo repositor de eletrólitos para bezerros, de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizado por apresentar pH de 3,0 a 7,5;

6 - Pó extemporâneo repositor de eletrólitos para bezerros, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por não conter glicose ou um análogo de glicose;

7 - Pó extemporâneo repositor de eletrólitos para bezerros, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por ser administrado por via oral;

8 - Pó extemporâneo repositor de eletrólitos para bezerros, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por ser administrado por via intraperitoneal;

9 - Pó extemporâneo repositor de eletrólitos para bezerros, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por futuramente conter uma ou mais vitaminas em sua composição como por exemplo vitamina A, vitamina C, vitamina E, vitamina D ou vitaminas do complexo B;

10 - Pó extemporâneo repositor de eletrólitos para bezerros, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por futuramente conter um ou mais tipos de flavorizantes;

11 - Pó extemporâneo repositor de eletrólitos para bezerros, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por conter algum outro tipo de eletrólitos;

12 - Pó extemporâneo repositor de eletrólitos para bezerros, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por conter qualquer outro tipo de aminoácidos livres em sua composição;

13 - Pó extemporâneo repositor de eletrólitos para bezerros, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por ser utilizado como método para reidratação de animais monogástricos;

14 - Pó extemporâneo repositor de eletrólitos para bezerros, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por ser utilizado como método para reidratação de animais poligástricos;

15 - Pó extemporâneo repositor de eletrólitos para bezerros, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por o paciente em questão ser acometido por diarreia devido à má alimentação, infecção viral ou infecção bacteriana;

16 - Pó extemporâneo repositor de eletrólitos para bezerros, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por ser utilizado para tratamento de qualquer enfermidade que cruze com desidratação;

17 - Pó extemporâneo repositor de eletrólitos para bezerros, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por ser apresentado em pó ou comprimido efervescente.

4.3 DESENHOS

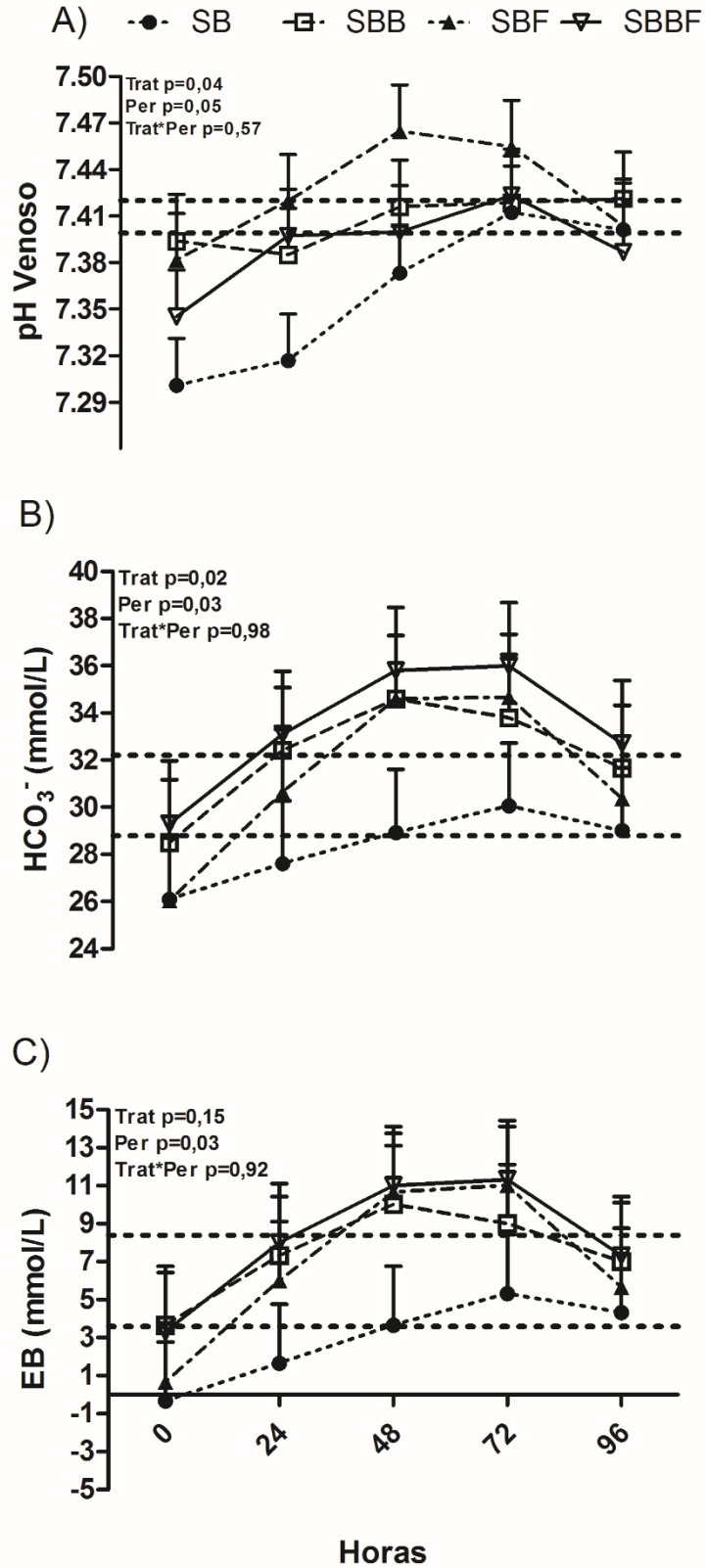


FIGURA 1

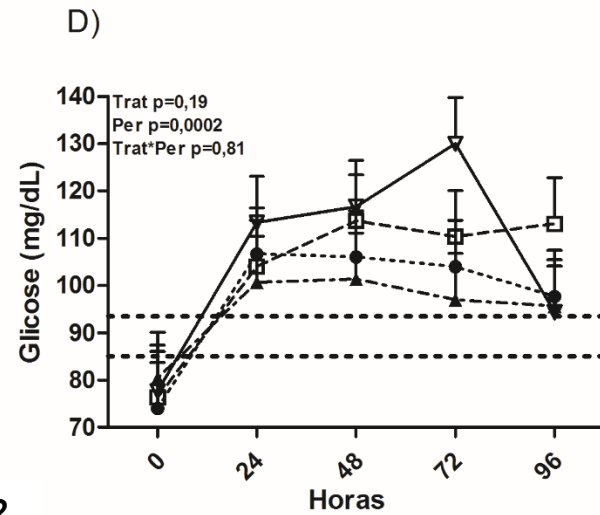
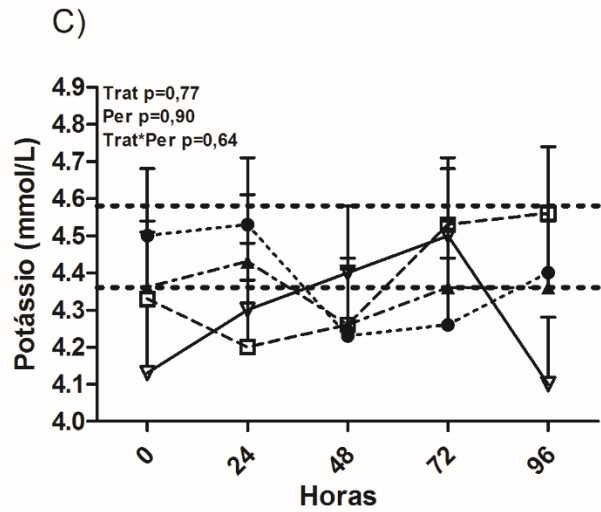
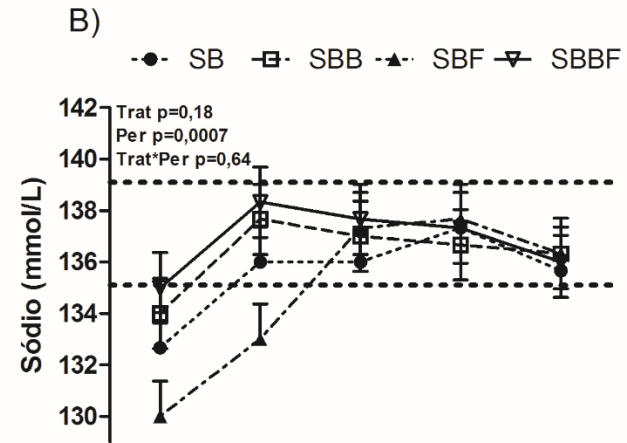
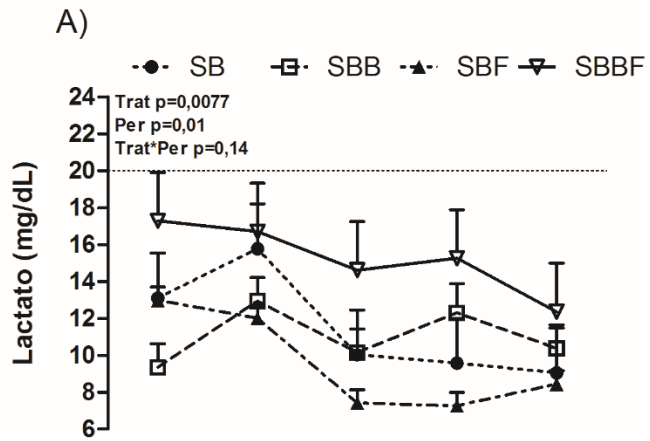


FIGURA 2

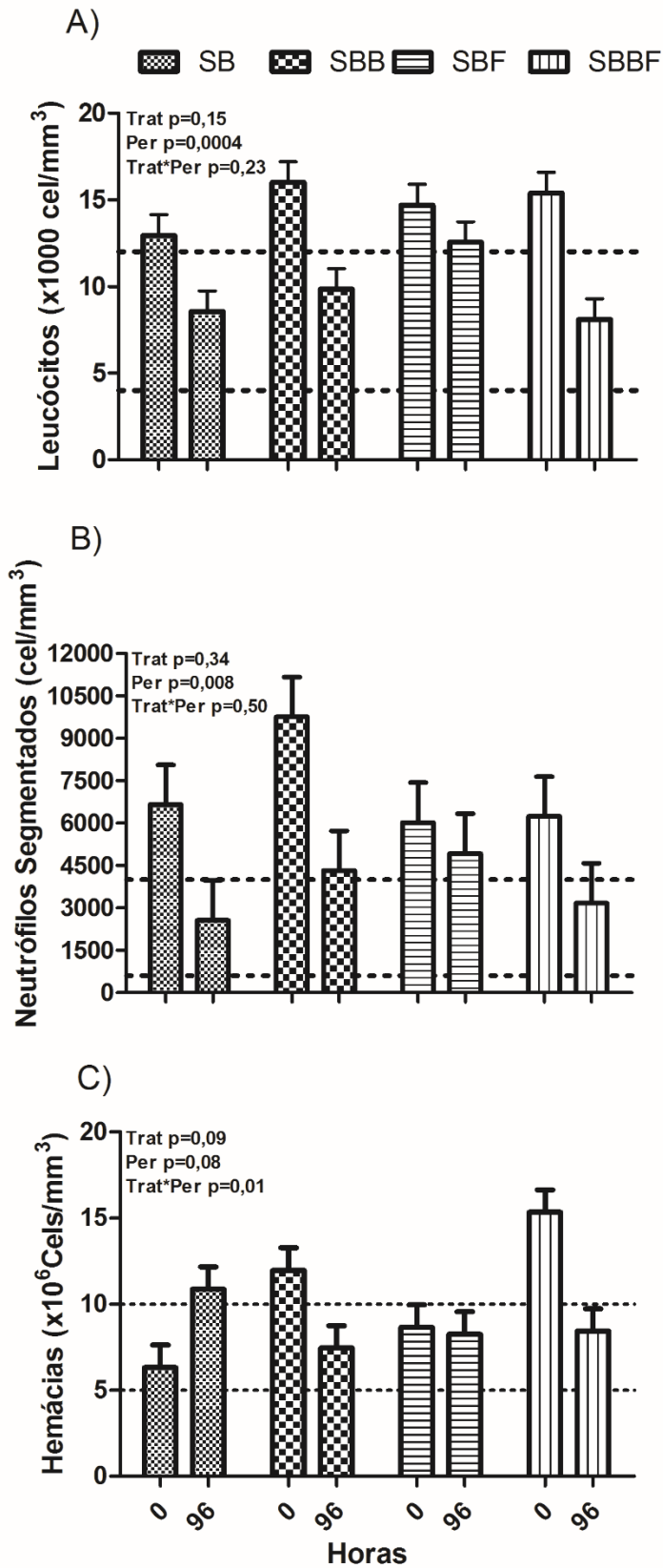


FIGURA 3

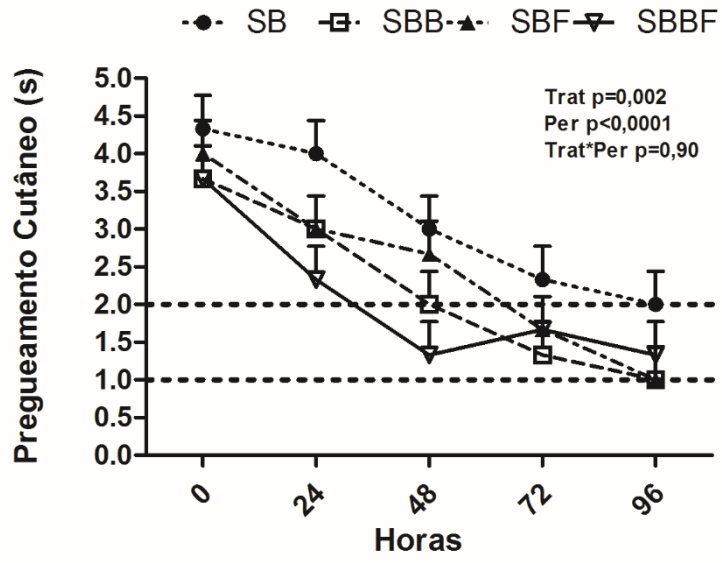


FIGURA 4

TABELA 1

Grupos	Horas					Média Grupo	Valores de P			
	0	24	48	72	96		Tratamento	Período	T*P	
Pressão de CO ₂ * (mmHg)	SB	52,03±3,29	52,73±3,29	46,83±3,29	46,13±3,29	46,37±3,29	48,84±1,46	0,005	0,65	0,73
	SBB	46,56±3,29	54,23±3,29	53,83±3,29	52,60±3,29	48,73±3,29	51,13±1,46			
	SBF	43,97±3,29	47,30±3,29	48,37±3,29	49,60±3,29	48,63±3,29	47,57±1,46			
	SBBF	53,86±3,29	53,76±3,29	57,80±3,29	55,23±3,29	54,36±3,29	55,01±1,46			
Pressão de O ₂ [†] (mmHg)	SB	31,00±4,47	32,00±4,47	41,33±4,47	28,33±4,47	31,33±4,47	32,80±2,00	0,59	0,11	0,73
	SBB	27,66±4,47	38,33±4,47	34,33±4,47	26,66±4,47	24,33±4,47	30,27±2,00			
	SBF	30,00±4,47	40,33±4,47	36,00±4,47	31,33±4,47	30,33±4,47	33,60±2,00			
	SBBF	31,66±4,47	28,33±4,47	31,33±4,47	33,00±4,47	29,66±4,47	30,80±2,00			
Total de CO ₂ * (mmol/L)	SB	27,33±2,75	29,33±2,75	30,33±2,75	31,66±2,75	30,66±2,75	29,93±1,23	0,04	0,01	0,99
	SBB	29,66±2,75	34,00±2,75	36,00±2,75	35,66±2,75	33,00±2,75	33,66±1,23			
	SBF	27,33±2,75	32,00±2,75	36,00±2,75	36,33±2,75	31,66±2,75	32,66±1,23			
	SBBF	31,00±2,75	34,66±2,75	37,66±2,75	37,33±2,75	34,33±2,75	35,00±1,23			
Saturação de O ₂ [†] (%)	SB	53,66±8,40	50,66±8,40	72,33±8,40	53,66±8,40	59,33±8,40	57,93±3,75	0,50	0,26	0,80
	SBB	51,66±8,40	66,66±8,40	62,33±8,40	49,00±8,40	44,00±8,40	54,73±3,75			
	SBF	55,66±8,40	69,00±8,40	70,00±8,40	61,33±8,40	56,33±8,40	62,47±3,75			
	SBBF	56,33±8,40	51,66±8,40	57,00±8,40	62,66±8,40	53,00±8,40	56,13±3,75			

* Dióxido de Carbono; † Oxigênio

TABELA 2

	Grupos	Horas					Média Grupo	Valores de P		
		0	24	48	72	96		Tratamento	Período	T*P
Cálcio Ionizado (mmol/L)	SB	1,30±0,03	1,34±0,03	1,31±0,03	1,32±0,03	1,34±0,03	1,32±0,01	0,04	0,65	0,94
	SBB	1,34±0,03	1,37±0,03	1,36±0,03	1,33±0,03	1,34±0,03	1,34±0,01			
	SBF	1,27±0,03	1,32±0,03	1,31±0,03	1,32±0,03	1,34±0,03	1,31±0,01			
	SBBF	1,36±0,03	1,39±0,03	1,37±0,03	1,40±0,03	1,32±0,03	1,37±0,01			
Cálcio Total (mg/dL)	SB	10,68±0,58	11,16±0,58	10,57±0,58	10,51±0,58	10,62±0,58	10,71±0,26	0,31	0,88	0,60
	SBB	9,61±0,58	10,70±0,58	10,04±0,58	10,22±0,58	11,32±0,58	10,38±0,26			
	SBF	9,84±0,58	9,78±0,58	10,12±0,58	10,23±0,58	10,24±0,58	10,04±0,26			
	SBBF	11,26±0,58	11,00±0,58	10,24±0,58	10,69±0,58	9,65±0,58	10,57±0,26			
Cloretos (mmol/L)	SB	99,73±4,09	100,00±4,09	103,62±4,09	99,65±5,01	108,25±5,01	102,25±2,00	0,07	0,81	0,18
	SBB	112,81±4,09	104,25±4,09	112,97±4,09	101,49±4,09	111,38±4,09	108,58±1,83			
	SBF	102,47±4,09	108,08±4,09	97,23±4,09	99,17±4,09	102,61±4,09	101,91±1,83			
	SBBF	100,15±4,09	100,85±4,09	101,75±4,09	107,98±4,09	102,12±4,09	102,57±1,83			
Magnésio (mg/dL)	SB	2,07±0,15	1,84±0,15	1,70±0,15	1,67±0,15	1,77±0,15	1,81±0,07	0,05	0,02	0,92
	SBB	1,63±0,15	1,67±0,15	1,60±0,15	1,62±0,15	1,50±0,15	1,61±0,07			
	SBF	1,75±0,15	1,57±0,15	1,52±0,15	1,51±0,15	1,50±0,15	1,57±0,07			
	SBBF	2,13±0,15	1,85±0,15	1,60±0,15	1,49±0,15	1,64±0,15	1,74±0,07			
Fósforo (mg/dL)	SB	6,80±0,63	6,71±0,63	7,72±0,63	7,18±0,63	7,42±0,63	7,16±0,28	0,36	0,44	0,99
	SBB	6,64±0,63	7,01±0,63	6,89±0,63	7,42±0,63	7,54±0,63	7,10±0,28			
	SBF	6,51±0,63	6,23±0,63	6,88±0,63	6,78±0,63	6,96±0,63	6,67±0,28			
	SBBF	7,58±0,63	6,60±0,63	7,92±0,63	7,49±0,63	7,28±0,63	7,37±0,28			
Albumina (g/dL)	SB	2,11±0,12	1,97±0,12	1,90±0,12	1,85±0,12	1,91±0,12	1,95±0,05	0,37	0,14	0,98
	SBB	2,04±0,12	1,78±0,12	1,81±0,12	1,93±0,12	2,07±0,12	1,92±0,05			
	SBF	1,89±0,12	1,74±0,12	1,81±0,12	1,84±0,12	1,99±0,12	1,86±0,05			
	SBBF	1,94±0,12	1,79±0,12	1,75±0,12	1,80±0,12	1,87±0,12	1,83±0,05			
Proteínas totais (g/dL)	SB	7,06±0,91	6,85±0,91	6,08±0,91	6,03±0,91	6,05±0,91	6,41±0,41	0,06	0,93	0,99
	SBB	5,45±0,91	5,37±0,91	5,20±0,91	5,33±0,91	5,98±0,91	5,47±0,41			
	SBF	5,05±0,91	4,87±0,91	4,86±0,91	4,98±0,91	5,72±0,91	5,10±0,41			
	SBBF	6,97±0,91	6,65±0,91	6,83±0,91	6,44±0,91	6,78±0,91	6,73±0,41			

TABELA 3

Grupos	Horas					Média Grupo	Valores de P			
	0	24	48	72	96		Tratamento	Período	T*P	
Hematócrito (%)	SB	33,33±5,43	29,67±5,43	27,00±5,43	26,33±5,43	25,33±5,43	28,33±2,43	0,55	0,84	1,00
	SBB	26,33±5,43	24,67±5,43	25,00±5,43	24,00±5,43	25,66±5,43	25,13±2,43			
	SBF	28,67±5,43	25,67±5,43	25,00±5,43	24,67±5,43	25,33±5,43	25,87±2,43			
	SBBF	25,33±5,43	22,33±5,43	22,66±5,43	22,33±5,43	24,33±5,43	23,40±2,43			
Hemoglobina (mg/dL)	SB	11,33±1,84	10,07±1,84	9,17±1,84	8,97±1,84	8,60±1,84	9,63±0,82	0,55	0,85	1,00
	SBB	8,93±1,84	8,37±1,84	8,50±1,84	8,17±1,84	8,73±1,84	8,54±0,82			
	SBF	9,73±1,84	8,73±1,84	8,53±1,84	8,40±1,84	8,63±1,84	8,81±0,82			
	SBBF	8,63±1,84	7,60±1,84	7,70±1,84	7,60±1,84	8,27±1,84	7,96±0,82			
Eosinófilos (cél/mm ³)	SB	250,50±153,04	-	-	-	377,50±153,04	314,00±108,22	0,20	0,80	0,95
	SBB	320,00±153,04	-	-	-	305,00±153,04	312,50±108,22			
	SBF	588,00±153,04	-	-	-	575,50±153,04	581,75±108,22			
	SBBF	239,00±153,04	-	-	-	250,00±153,04	244,50±108,22			
Linfócitos (cél/mm ³)	SB	5449,50±1287,77	-	-	-	5314,00±1287,77	5381,75±981,30	0,49	0,18	0,37
	SBB	5040,00±1287,77	-	-	-	4881,00±1287,77	4960,50±981,30			
	SBF	7497,00±1287,77	-	-	-	6626,50±1287,77	7061,75±981,30			
	SBBF	8402,00±1287,77	-	-	-	3788,00±1287,77	6095,00±981,30			
Monócitos (cél/mm ³)	SB	587,00±145,54	-	-	-	292,00±145,54	439,50±102,91	0,54	0,26	0,03
	SBB	880,00±145,54	-	-	-	340,00±145,54	610,00±102,91			
	SBF	588,00±145,54	-	-	-	419,50±145,54	503,75±102,91			
	SBBF	377,00±145,54	-	-	-	884,00±145,54	630,50±102,91			

TABELA 4

	Grupos	Horas					Média Grupo	Valores de P		
		0	24	48	72	96		Tratamento	Período	T*P
Frequência Cardíaca (bpm)	SB	115,00±12,25	116,00±12,25	109,33±12,25	102,00±12,25	98,67±12,25	108,20±5,48	0,20	0,61	0,98
	SBB	126,00±12,25	105,33±12,25	117,67±12,25	126,00±12,25	124,00±12,25	119,80±5,48			
	SBF	106,00±15,00	101,67±12,25	106,67±12,25	106,67±12,25	93,33±12,25	102,87±5,48			
	SBBF	127,33±12,25	104,00±12,25	112,33±12,25	108,00±12,25	104,67±12,25	111,27±5,48			
Frequência Respiratória (mpm)	SB	45,33±9,11	40,00±9,11	38,67±9,11	45,33±9,11	38,67±9,11	41,60±4,07	0,30	0,96	0,97
	SBB	43,33±9,11	57,33±9,11	46,00±9,11	52,00±9,11	52,00±9,11	50,13±4,07			
	SBF	45,00±11,15	55,33±9,11	49,33±9,11	57,00±9,11	48,00±9,11	50,93±4,27			
	SBBF	50,67±9,11	44,33±9,11	61,33±9,11	49,33±9,11	50,67±9,11	51,27±4,07			
Temperatura retal (°C)	SB	39,37±0,22	39,17±0,22	39,13±0,22	39,37±0,22	38,97±0,22	39,20±0,10	0,82	0,11	0,93
	SBB	39,53±0,22	39,20±0,22	39,03±0,22	38,86±0,22	39,06±0,22	39,14±0,10			
	SBF	39,37±0,22	39,03±0,22	39,03±0,22	39,33±0,22	39,10±0,22	39,17±0,10			
	SBBF	39,40±0,22	38,83±0,22	39,10±0,22	39,00±0,22	39,03±0,22	39,07±0,10			
TPC* (s)	SB	2,00±0,33	2,00±0,33	2,00±0,33	2,00±0,33	2,00±0,33	2,00±0,15	0,02	0,44	0,81
	SBB	2,33 ±0,33	2,33±0,33	2,00±0,33	2,00±0,33	2,33±0,33	2,20±0,15			
	SBF	3,00±0,33	3,00±0,33	3,00±0,33	2,00±0,33	2,33±0,33	2,67±0,15			
	SBBF	2,67±0,33	2,33±0,33	2,00±0,33	2,33±0,33	2,33±0,33	2,33±0,15			

* Tempo de perfusão capilar

4.4 RESUMO

“PÓ EXTEMPORÂNEO REPOSITOR ELETROLÍTICA, ENERGÉTICA E MINERAL DE NEONATOS BOVINOS. ”

SETOR TECNICO: A61K 9/08; A61K 9/14; A61K 31/00; A61K 31/66; A61P 01/12; A61P 03/12; A61P 07/08; A23K 50/10.

Pó extemporâneo para a reposição de eletrólitos, energia e minerais que são perdidos durante casos de diarreia em neonatos bovinos, podendo futuramente ser adicionado vitaminas e outros minerais. O produto visa a estabilização do pH sanguíneo, reidratação do animal, recomposição de eletrólitos, além de um aumento significativo na disponibilidade de energia para o animal, fazendo com que haja uma menor perda de performance. Além disso, com este produto de fácil manuseio e baixo custo, será possível reduzir as perdas econômicas causadas pelos altos índices de diarreia em neonatos bovinos.

5 CONCLUSÃO GERAL

A diarreia neonatal é um dos principais problemas que aflige o rebanho leiteiro, com grandes perdas econômicas nesse sistema de produção. As soluções orais são uma forma de tratamento de fácil administração, entretanto não é muito utilizada devido ao alto custo dos produtos que circulam no mercado, necessitando-se de uma tecnologia nacional de baixo custo.

Todas as soluções desenvolvidas conseguiram restabelecer o pH sanguíneo do animal, reduzir a desidratação, restabelecer os níveis normais de sódio e também prover a quantidade perdida de glicose. Isto demonstrou que estas soluções orais podem ser alternativas às que já existem no mercado, por diminuir os custos e também ser um produto de desenvolvimento nacional.

6 REFERÊNCIAS

- ATKINSON, D. E. & CAMIEN, M. N. 1982. The role of urea synthesis in the removal of metabolic bicarbonate and the regulation of blood pH. *Curr Top Cell Regul*, 21, 261-302.
- BENESI, F. 1999. Síndrome diarréia dos bezerros. *Revta CRMV-ES, Vitória*, 2, 10-13.
- BERCHTOLD, J. 2009. Treatment of calf diarrhea: intravenous fluid therapy. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25, 73-99.
- BISHOP, R. L. & WEISFELDT, M. L. 1976. Sodium bicarbonate administration during cardiac arrest: effect on arterial pH, Pco₂, and osmolality. *Jama*, 235, 506-509.
- BROOKS, H. W., WHITE, D., WAGSTAFF, A. & MICHELL, A. 1996. Evaluation of a nutritive oral rehydration solution for the treatment of calf diarrhoea. *British Veterinary Journal*, 152, 699-708.
- CONSTABLE, P., GRÜNBERG, W. & CARSTENSEN, L. 2009. Comparative effects of two oral rehydration solutions on milk clotting, abomasal luminal pH, and abomasal emptying rate in suckling calves. *Journal of dairy science*, 92, 296-312.
- CONSTABLE, P., WALKER, P., MORIN, D. & FOREMAN, J. 1998. Clinical and laboratory assessment of hydration status of neonatal calves with diarrhea. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 212, 991-996.
- COSKUN, A., SEN, I., GUZELBEKTES, H., OK, M., TURGUT, K. & CANIKLI, S. 2010. Comparison of the effects of intravenous administration of isotonic and hypertonic sodium bicarbonate solutions on venous acid-base status in dehydrated calves with strong ion acidosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 236, 1098-1103.
- DALTON, R., FISHER, E. & MCINTYRE, W. 1965. CHANGES IN BLOOD CHEMISTRY, BODY WEIGHT AND HAEMOTOCRIT OF CALVES AFFECTED WITH NEONATAL DIARRHOEA. *The British veterinary journal*, 121, 34-42.
- DESJEUX, J.-F., TANNENBAUM, C., TAI, Y.-H. & CURRAN, P. F. 1977. Effects of sugars and amino acids on sodium movement across small intestine. *American Journal of Diseases of Children*, 131, 331-340.
- ELKINTON, J., HUTH, E., WEBSTER, G. & MCCANCE, R. 1960. The renal excretion of hydrogen ion in renal tubular acidosis: I. quantitative assessment of the response to ammonium chloride as an acid load. *The American journal of medicine*, 29, 554-575.
- EWASCHUK, J. B., NAYLOR, J. M., CHIRINO-TREJO, M. & ZELLO, G. A. 2004. *Lactobacillus rhamnosus* strain GG is a potential probiotic for calves. *Canadian journal of veterinary research*, 68, 249.
- FAYET, J. 1971. Plasma and faecal osmolality, water kinetics and body fluid compartments in neonatal calves with diarrhoea. *The British veterinary journal*, 127, 37.
- JODAL, M. & LUNDGREN, O. 1986. Countercurrent mechanisms in the mammalian gastrointestinal tract. *Gastroenterology*, 91, 225-241.
- KASARI, T. R. 1999. Metabolic acidosis in calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 15, 473-486.

- KASARI, T. R. & NAYLOR, J. M. 1985. Clinical evaluation of sodium bicarbonate, sodium L-lactate, and sodium acetate for the treatment of acidosis in diarrheic calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 187, 392-397.
- LEAL, M., FIALHO, S., CYRILLO, F., BERTAGNON, H., ORTOLANI, E. & BENESI, F. 2012. Intravenous hypertonic saline solution (7.5%) and oral electrolytes to treat of calves with noninfectious diarrhea and metabolic acidosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26, 1042-1050.
- LITTELL, R., HENRY, P. & AMMERMAN, C. 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *Journal of animal science*, 76, 1216-1231.
- LORENZ, I. 2009. D-Lactic acidosis in calves. *The Veterinary Journal*, 179, 197-203.
- LORENZ, I., FAGAN, J. & MORE, S. J. 2011. Calf health from birth to weaning. II. Management of diarrhoea in pre-weaned calves. *Irish veterinary journal*, 64, 1.
- LORENZ, I. & VOGT, S. 2006. Investigations on the Association of D-lactate Blood Concentrations with the Outcome of Therapy of Acidosis, and with Posture and Demeanour in Young Calves with Diarrhoea. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 53, 490-494.
- MARTINSEN, T. C., BERGH, K. & WALDUM, H. L. 2005. Gastric juice: a barrier against infectious diseases. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 96, 94-102.
- MEGANCK, V., HOFACK, G., PIEPERS, S. & OPSOMER, G. 2015. Evaluation of a protocol to reduce the incidence of neonatal calf diarrhoea on dairy herds. *Preventive veterinary medicine*, 118, 64-70.
- MICHELL, A. 1988. DRIPS, DRINKS AND DRENCHES-WHAT MATTERS IN FLUID THERAPY. *Irish Veterinary Journal*, 42, 17-22.
- MICHELL, A., BROOKS, H., WHITE, D. & WAGSTAFF, A. 1992. The comparative effectiveness of three commercial oral solutions in correcting fluid, electrolyte and acid-base disturbances caused by calf diarrhoea. *British Veterinary Journal*, 148, 507-522.
- NAYLOR, J. 1992. Effects of electrolyte solutions for oral administration on clotting of milk. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 201, 1026-1029.
- NAYLOR, J. & FORSYTH, G. 1986. The alkalinizing effects of metabolizable bases in the healthy calf. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 50, 509.
- NAYLOR, J. & KRONFELD, D. 1985. In vivo studies of hypoglycemia and lactic acidosis in endotoxic shock. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 248, E309-E316.
- NAYLOR, J. M. 1987. Severity and nature of acidosis in diarrheic calves over and under one week of age. *The Canadian Veterinary Journal*, 28, 168.
- NAYLOR, J. M., PETRIE, L., RODRIGUEZ, M. I. & SKILNICK, P. 1990. A comparison of three oral electrolyte solutions in the treatment of diarrheic calves. *The Canadian Veterinary Journal*, 31, 753.
- OMOLE, O. O., NAPPERT, G., NAYLOR, J. M. & ZELLO, G. A. 2001. Both L-and D-lactate contribute to metabolic acidosis in diarrheic calves. *The Journal of nutrition*, 131, 2128-2131.
- ORTOLANI, E. L. 2003. Diagnóstico e tratamento de alterações ácido-básicas em ruminantes. *Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*, 1, 17-29.
- PHILLIPS, R. W., LEWIS, L. D. & KNOX, K. L. 1971. Alterations in body water turnover and distribution in neonatal calves with acute diarrhea. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 176, 231-243.

- RADOSTITS, O. M., GAY, C. C., BLOOD, D. C., HINCHCLIFF, K. W. & MCKENZIE, R. 2002. *Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos*, Guanabara Koogan.
- RECCA, A., CALVO, E., CROUCH, C., NAVETAT, H., RIZET, C., GUIJARRO, R., PEREZ-GARCIA, J. & FRANCIS, M. 2003. Comparative lactogenic antibody responses of cattle from European field trials with a new enteric disease vaccine. *Veterinary record*, 152, 751-752.
- SALLES, M. S. V., ZANETTI, M. A., NEGRÃO, J. A., SALLES, F. A., RIBEIRO, T. M. C., SARAN NETTO, A. & DEL CLARO, G. R. 2012. Metabolic changes in ruminant calves fed cation-anion diets with different proportions of roughage and concentrate. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41, 414-420.
- SAYERS, R. G., KENNEDY, A., KRUMP, L., SAYERS, G. P. & KENNEDY, E. 2016. An observational study using blood gas analysis to assess neonatal calf diarrhea and subsequent recovery with a European Commission-compliant oral electrolyte solution. *Journal of dairy science*, 99, 4647-4655.
- SEN, I., ALTUNOK, V., OK, M., COSKUN, A. & CONSTABLE, P. D. 2009. Efficacy of oral rehydration therapy solutions containing sodium bicarbonate or sodium acetate for treatment of calves with naturally acquired diarrhea, moderate dehydration, and strong ion acidosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 234, 926-934.
- SEN, I., CONSTABLE, P. D. & MARSHALL, T. S. 2006. Effect of suckling isotonic or hypertonic solutions of sodium bicarbonate or glucose on abomasal emptying rate in calves. *American journal of veterinary research*, 67, 1377-1384.
- SMITH, G. W. 2009. Treatment of calf diarrhea: Oral fluid therapy. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25, 55-72.
- SMITH, G. W. & BERCHTOLD, J. 2014. Fluid therapy in calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 30, 409-427.
- SORIANO, J. R., BOICHIS, H., STARK, H. & EDELMANN, C. 1967. Proximal renal tubular acidosis. A defect in bicarbonate reabsorption with normal urinary acidification. *Pediatric research*, 1, 81-98.
- SZENCI, O., TÖRÖS, I. & SÁRI, A. 1980. Changes of acid-base balance in Holstein-Friesian calves during the first two days after birth. *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae*, 29, 143-151.
- TREFZ, F., FEIST, M. & LORENZ, I. 2016. Hypoglycaemia in hospitalised neonatal calves: Prevalence, associated conditions and impact on prognosis. *The Veterinary Journal*, 217, 103-108.
- TREFZ, F., LORCH, A., FEIST, M., SAUTER-LOUIS, C. & LORENZ, I. 2012. Metabolic acidosis in neonatal calf diarrhea—clinical findings and theoretical assessment of a simple treatment protocol. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26, 162-170.
- VAN AMBURGH, M., SOBERON, F., KARSZES, J. & EVERETT, R. 2014. Early life nutrition and management impacts long-term productivity of calves.
- VANAMBURGH, M., SOBERON, F., RAFFRENATO, E., KARSZES, J. & EVERETT, R. 2014. Early life management and long-term productivity of dairy calves.
- VIEIRA, F. & MALNIC, G. 1968. Hydrogen ion secretion by rat renal cortical tubules as studied by an antimony microelectrode. *American Journal of Physiology--Legacy Content*, 214, 710-718.
- VIRTALA, A., MECHOR, G., GRÖHN, Y. & ERB, H. 1996. Morbidity from nonrespiratory diseases and mortality in dairy heifers during the first three

- months of life. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 208, 2043-2046.
- ZHU, H., HART, C., SALES, D. & ROBERTS, N. 2006. Bacterial killing in gastric juice—effect of pH and pepsin on *Escherichia coli* and *Helicobacter pylori*. *Journal of medical microbiology*, 55, 1265-1270.