









## Baixo desempenho da vitamina C comparado ao cloreto de amônio como acidificante urinário em cordeiros confinados

### Low performance of vitamin C compared to ammonium chloride as an urinary acidifier in feedlot lambs

Danilo Otávio Laurenti Ferreira<sup>1</sup> , Bianca Paola Santarosa<sup>2\*</sup> , Soraya Regina Sacco Surian<sup>3</sup> , Regina Kiomi Takahira<sup>4</sup> , Simone Biagio Chiacchio<sup>4</sup> , Rogério Martins Amorim<sup>4</sup> , Adriano Dias<sup>5</sup> , Roberto Calderon Gonçalves<sup>4</sup> 

<sup>1</sup>Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, Defesa Agropecuária do estado de São Paulo, Bauru, SP, Brasil.

<sup>2</sup>Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Unaí, MG, Brasil.

<sup>3</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Catarinense, Concórdia, SC, Brasil.

<sup>4</sup>Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

<sup>5</sup>Departamento de Saúde Pública da Faculdade de Medicina de Botucatu, Botucatu, SP, Brasil.

\*Correspondente - [biancasantarosavet@gmail.com](mailto:biancasantarosavet@gmail.com)

Seção: Medicina Veterinária

Recebido  
26 de agosto de 2019.  
Aceito  
25 de maio de 2020.  
Publicado  
6 de agosto de 2020.

[www.revistas.ufg.br/vet](http://www.revistas.ufg.br/vet)  
Como citar - disponível no  
site, na página do artigo.

#### Resumo

A urolitíase obstrutiva é uma enfermidade de alta incidência em ovinos confinados. A acidificação urinária é um dos métodos mais eficazes para a prevenção da doença. Utilizaram-se 45 cordeiros clinicamente sadios, machos, mestiços Santa Inês, com três a quatro meses de idade, em confinamento, distribuídos em três grupos de 15 animais cada. Foi administrado 400mg/kg/dia/animal de cloreto de amônio ( $G_A$ ), 4mg/kg/dia/animal de vitamina C ( $G_C$ ) e associação dos dois produtos ( $G_{AC}$ ), durante 21 dias, ambos por via oral. As colheitas de sangue e urina foram realizadas sete dias antes do início do tratamento (M0), imediatamente antes (M1) e depois, semanalmente, até 21 dias após (M2, M3 e M4) para realização de exames de função renal (ureia e creatinina), dosagem de Ca, P e Mg no soro e na urina, urinálise e cálculo de EF desses minerais. Nos grupos  $G_A$  e  $G_{AC}$ , houve diminuição do pH no M2, permanecendo ácido até o final do experimento. Houve diminuição significativa do P sérico no  $G_A$ , além de aumento urinário nos teores de Ca e Mg nesse grupo. A EF de Ca aumentou após o início dos tratamentos, porém não houve interferência para Mg. A EF de P foi significativamente menor somente no  $G_A$ . O cloreto de amônio se mostrou eficaz como acidificante urinário em ovinos, porém a vitamina C, por via oral, apresentou oscilação e não atingiu estabilidade. Portanto, a suplementação com vitamina C não foi eficaz para acidificação urinária e, por isso, não deve ser utilizada na prevenção de urolitíase obstrutiva. **Palavras-chave:** pH urinário; excreção fracionada; pequenos ruminantes; urinálise; urolitíase.

#### Abstract

Obstructive urolithiasis is highly prevalent disease in feedlot

sheep. Urinary acidification is effective for disease prevention. Forty-five healthy 3-4 month-old male Santa Inês crossbred feedlot lambs were distributed into three groups of 15 animals each. Ammonium chloride ( $G_A$ ) at 400 mg/kg/day/animal, vitamin C ( $G_C$ ) at 4 mg/kg/day/animal, and a combination of the two ( $G_{AC}$ ) were administered orally for 21 d. Blood and urine samples were taken 7 d before beginning treatment (M0), immediately before (M1), and weekly for 21 d (M2, M3, and M4) for renal function tests, levels of Ca, P, and Mg in serum and urine, urinalysis, and fractional excretion (FE) analysis in these minerals. In groups  $G_A$  and  $G_{AC}$ , pH decreased in M2 and remained acidic throughout the experiment. A significant decrease in serum P and a urinary increase in Ca and Mg occurred in  $G_A$ . The FE of Ca increased during treatments, but there was no interference with Mg. The FE of P was significantly lower in  $G_A$ . Ammonium chloride was an effective urinary acidifier in sheep, but vitamin C administered orally did not provide stable results. Thus, based on our results, vitamin C supplementation may not be effective for urinary acidification to prevent obstructive urolithiasis.

**Keywords:** pH urinary, fractional excretion, small ruminants, urinalysis, urolithiasis.

---

## Introdução

A urolitíase obstrutiva é uma doença de alta incidência nas criações de ovinos, principalmente em machos confinados<sup>(1,2)</sup>. Após o aparecimento dos sinais clínicos, há poucas chances de reversão do quadro e, se for necessário tratamento cirúrgico, a grande maioria dos animais torna-se inapta para a reprodução<sup>(3)</sup>. Os melhores resultados são obtidos com a prevenção da doença e, para isso, deve-se conhecer a composição química dos urólitos e corrigir todos os possíveis fatores que podem estar relacionados com a sua formação<sup>(4-6)</sup>.

A acidificação da urina é um dos métodos mais eficientes e baratos para a prevenção da urolitíase. Pode ser realizada com a administração de dieta aniônica<sup>(7,8)</sup> e uso de substâncias que induzem a diminuição do pH urinário. O cloreto de amônio pode ser utilizado na prevenção de urólitos de estruvita e fosfato de cálcio, que são, preferencialmente, formados em pH alcalino<sup>(9)</sup>. Pode-se utilizá-lo na dieta total, na proporção de 0,5% a 1,0% ou 2% do concentrado<sup>(10,11)</sup>, bem como em doses individuais de 5 a 10g/animal/dia<sup>(12)</sup>. Mavangira *et al.*<sup>(9)</sup> obtiveram pH urinário menor que 6,5 em caprinos com dose de 450mg/kg/PV de cloreto de amônio/dia, ou 2,25% da ingestão de matéria seca (MS). Ferreira *et al.*<sup>(13)</sup> descreveram a eficácia do produto em ovinos com a dose de 400mg/kg/PV, mantendo o pH abaixo de 6,1.

Os urólitos são formados a partir de fatores predisponentes, tais como: manejo intensivo dos animais, dieta excessivamente proteica ou com alto teor de fósforo, magnésio ou cálcio e ainda a ingestão de plantas com grande quantidade de oxalato ou sílica. Porém, a doença está presente, com maior frequência, em confinamento, onde a ração

é formada basicamente de grãos. Esse tipo de alimento, de modo geral, tem elevado teor de fósforo e de magnésio, mas baixo teor de cálcio. Dessa forma, a proporção de Ca e P varia de 1:4 a 1:6, enquanto a relação ideal seria de 1:1 a 2:1. O desequilíbrio Ca:P resulta em elevada excreção de fósforo pela urina, sendo importante fator para a gênese dos urólitos. A urina dos ruminantes é alcalina, o que torna o fósforo insolúvel, precipitando-o e formando cristais com o cálcio e magnésio<sup>(14)</sup>.

A determinação da composição bioquímica da urina foi recomendada para detecção dos mecanismos subjacentes de tipos específicos de urólitos. Pode-se obter teores de fósforo séricos e urinários maiores em animais que possuem cálculos do que em sadios<sup>(15)</sup>. A mensuração das concentrações de íons urinários Cálcio (Ca), Fósforo (P), Magnésio (Mg) pode fornecer dados ao balanço mineral pela quantificação da excreção desses elementos. Contudo, a simples dosagem da concentração dos eletrólitos urinários não pode ser corretamente interpretada, sem que o volume urinário produzido seja considerado<sup>(16)</sup>. Para isso, os valores dos eletrólitos no soro e na urina, além da creatinina sérica e urinária, devem ser obtidos para a realização do cálculo da excreção fracionada devido às variações na absorção e excreção de água, que dificultam a interpretação pela grande diversidade na concentração de solutos na urina<sup>(17)</sup>.

Existe correlação entre a creatinina urinária e a densidade específica da urina em bovinos, indicando assim que a creatinina é quase totalmente filtrada passivamente pelos glomérulos<sup>(18)</sup>, e que as quantidades secretadas ou reabsorvidas são insignificantes, portanto, essa substância é utilizada no cálculo da excreção fracionada (EF)<sup>(18)</sup> em bovinos<sup>(19)</sup> e ovinos<sup>(20,21)</sup>.

Dessa forma, os objetivos deste trabalho foram avaliar a eficácia da administração de cloreto de amônio, vitamina C e a associação de ambos na acidificação urinária em ovinos confinados, além de verificar, entre os grupos tratados e ao longo do período experimental, as diferenças na urinálise, nas dosagens séricas de ureia, creatinina, Ca, P e Mg, bem como determinar as concentrações urinárias e determinar EF desses eletrólitos.

## Material e métodos

Utilizaram-se 45 ovinos hípidos, machos, não castrados, mestiços Santa Inês, com idade entre três e quatro meses, com peso médio  $22,6 \pm 5,4$ kg, distribuídos aleatoriamente em três grupos. Os animais foram numerados, sorteados e distribuídos em nove baias coletivas de confinamento, de alvenaria, de  $12\text{m}^2$ , com cinco cordeiros cada ( $2,4\text{m}^2$ /animal), dispostas no mesmo local em condições iguais de temperatura, umidade do ar e luminosidade. A alimentação constituiu-se por 70% de feno de capim Coast Cross (cultivar *Cynodon dactylon*) triturado e 30% de ração para terminação de cordeiros com 85% de matéria seca (MS), 18% de proteína bruta (PB), 75% de NDT, segundo as recomendações do NRC<sup>(22)</sup>, para o ganho de peso médio diário de 300g. A relação Ca:P foi de 1,9:1; além de água e sal mineral (Ovinofós com Monensina®, Tortuga Companhia Zootécnica Agrária, Mairinque-SP, Brasil) *ad libitum*. Essa ração foi fornecida duas vezes ao dia (às 7h e 17h), de forma farelada, junto com feno triturado para favorecer a

mistura e homogeneização com o cloreto de amônio, sendo composta por farelo de milho, farelo de soja, farelo de trigo e calcáreo calcítico.

Antes do estudo experimental, todos os animais foram vermifugados com Moxidectina (Cydectin® 1% injetável, Fort Dodge, Campinas-SP, Brasil), vacinados contra Clostridioses (Sintoxan Polivalente®, Merial, Campinas-SP, Brasil) e mantidos em período de adaptação de, no mínimo, 21 dias. Posteriormente, receberam os tratamentos por mais 21 dias consecutivos. Nesse período, os animais continuaram recebendo a mesma dieta do período de adaptação e foram ministrados os tratamentos específicos para cada grupo. O tempo total de confinamento (adaptação e período experimental), de 42 dias, foi estabelecido nesse experimento para mimetizar as condições reais a campo de terminação de cordeiros, desmame aos 80 a 90 dias de vida (20 a 22kg), seguido de ingestão de dieta para ganho de peso precoce (ganho de peso de 250 a 300g/dia) por dois meses, estando aos 120 a 130 dias, com peso médio de 35 a 40kg<sup>(23)</sup>.

Constituíram-se três grupos experimentais de acordo com o tratamento recebido: grupo A ( $G_A$ ) - 400mg/kg PV de cloreto de amônio/animal/dia; grupo AC ( $G_{AC}$ ) - 4mg/kg PV de vitamina C e 400mg/kg PV de cloreto de amônio/animal/dia e grupo C ( $G_C$ ) - 4mg/kg PV de vitamina C/animal/dia.

A vitamina C foi administrada por via oral com o uso de seringa dosadora automática (Hauptner Brasil, São Paulo-SP), e o cloreto de amônio foi adicionado diariamente à ração total. Para que não houvesse interferência da luz na degradação do ácido ascórbico, tomou-se o cuidado, na execução desse trabalho, de proteger a vitamina C pelo envolvimento do frasco com papel alumínio e aplicação imediata no animal, após a diluição do medicamento.

Após adaptação de 21 dias com a alimentação que receberam durante todo o período de experimento, foram colhidas amostras de urina e sangue dos animais dos três grupos.

Os momentos de colheita foram realizados às 6h da manhã de forma padronizada, antes da alimentação, e foram definidos como: M0 - sete dias antes do início do tratamento; M1 - imediatamente antes do tratamento; M1a - um dia após o tratamento; M1b - dois dias; M1c - três dias; M1d - quatro dias; M1e - cinco dias; M1f - seis dias; M2 - sete dias; M2a - oito dias; M2b - nove dias; M2c - dez dias; M2d - onze dias; M2e - doze dias; M2f - treze dias; M3 - catorze dias, M4 - 21 dias. Procederam-se as colheitas de sangue para os exames bioquímicos e de urina para urinálise semanalmente, em cinco momentos: M0, M1, M2, M3 e M4.

Os ovinos foram contidos em posição quadrupedal, manualmente, com o uso de cabresto para colheita de sangue e urina, que foi realizada por micção natural, espontânea ou por indução após asfixia momentânea por aproximadamente 15 segundos<sup>(24)</sup>.

A urinálise foi realizada imediatamente após a colheita de urina em frascos estéreis de 70mL (J. Prolab. Indústria e Comércio de Produtos para Laboratório Ltda. São José dos Pinhais-PR). As amostras de urina foram encaminhadas ao Serviço de Patologia Clínica do Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP, Campus de Botucatu. No exame físico, foi avaliado: aspecto

e densidade (refratômetro Atago® T2, NE Clinical, Atago Brasil Ltda. Ribeirão Preto-SP, Brasil.). O exame químico foi realizado por tiras reagentes (Combur10 Test®, Roche Diagnóstica Brasil Ltda. São Paulo-SP, Brasil), avaliando-se proteínas (mg/dL), glicose (mg/dL), acetona, urobilinogênio, bilirrubina, sangue oculto e sais biliares. O pH foi avaliado pelo peagâmetro portátil (pH100 PHTEK® Labmais Comércio de Equipamentos Ltda. Curitiba-PR, Brasil), que foi calibrado a cada dia de exame e a cada cinco animais em solução de pH 4,0 e de pH 7,0. O eletrodo do peagâmetro foi imerso totalmente dentro da amostra de urina, até a estabilização, e somente foi colocado na próxima amostra, depois de lavado em água destilada e, seco em papel absorvente.

Para exame do sedimento urinário, 5mL de urina foram centrifugados (Excelsa II®, Fanen, São Paulo-SP, Brasil) em tubos cônicos a 1.500 rpm por 5 minutos. Após a centrifugação e descarte do sobrenadante, 0,5mL de urina eram utilizados para a realização do exame do sedimento, que inclui a busca e identificação de células de descamação do trato urinário (células renais, da pelve, vesicais e uretrais), células prostáticas e outras estruturas como hemácias, leucócitos, cilindros, bactérias, espermatozoides, muco e cristais.

O critério quantitativo adotado incluiu: raras (< 1 células/campo); uma cruz (+) (1 a 3 células/campo); duas cruzes (++) (3 a 5 células/campo); três cruzes (+++) (>5 células/campo) e campo cheio (números de células incontáveis/campo). Todas essas observações foram realizadas em microscopia ótica comum, com aumento de 400 vezes.

Colheram-se 10mL de sangue em tubos à vácuo sem anticoagulante (BD Vacutainer®, BD Medical, Curitiba-PR, Brasil), por punção da veia jugular de cada animal nos diferentes momentos (M0, M1, M2, M3 e M4).

Após a retração do coágulo, as amostras colhidas foram centrifugadas (Centrífuga Combate Celm® - Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos, Barueri-SP, Brasil) a 2000G durante 5 minutos para obtenção de soro, e congeladas a menos 20°C em alíquotas em tubos de 2mL (Eppendorf do Brasil Ltda. São Paulo-SP, Brasil).

Todos os exames bioquímicos foram realizados em uma única vez no Serviço de Patologia Clínica do Departamento de Clínica Veterinária da FMVZ, UNESP, Campus de Botucatu, com reagentes comerciais (Katal® Biotecnológica Ind. Com. Ltda. Belo Horizonte-MG, Brasil) e leitura em espectrofotômetro (Aparelho SB-190 Celm® - Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos, Barueri-SP, Brasil).

Os métodos utilizados para as dosagens séricas foram: enzimático colorimétrico para a determinação da concentração de ureia (Berthelot modificado); cinético colorimétrico para creatinina (Jaffe); colorimétrico para Ca (cresolftaleína complexona), P (molibdato de amônio) e Mg (Magon sulfonado). As dosagens de cálcio e fósforo da urina foram obtidas após acidificação das amostras, segundo técnica descrita por Fleming *et al.*<sup>(25)</sup>.

Os cálculos da EF dos eletrólitos foram realizados após suas dosagens no soro e na urina, além da determinação da creatinina sérica e urinária. Dessa forma, pode-se comparar a depuração do eletrólito com o da creatinina endógena e determinar a excreção renal deste elemento, através da equação abaixo, utilizando as concentrações: eletrólito



urinário (EU), creatinina urinária (CRU), eletrólito sérico (ES) e creatinina sérica (CRS):  
 $EF(\%) = [(EU/ES) \times (CRS/CRU)] \times 100^{(18)}$ .

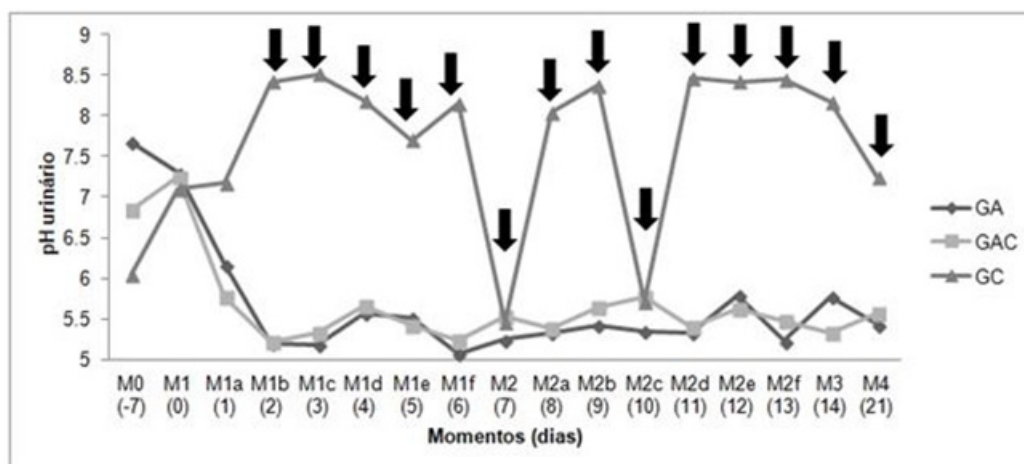
Os dados foram analisados pelo Software IBM SPSS Statistics, v.21, com nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ). Em função da distribuição anormal das variáveis quantitativas, utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis entre os três grupos experimentais ( $G_A$ ,  $G_{AC}$ ,  $G_C$ ) para identificar diferenças entre os grupos dentro do mesmo momento de colheita (M) e, quando houve diferença estatisticamente significativa, foi verificada através do teste *post-hoc* de Dunn. O teste de Kruskal-Wallis também foi aplicado para avaliar diferença entre os cinco momentos (M0, M1, M2, M3 e M4), dentro de cada grupo experimental, e, quando houve diferença estatisticamente significativa, verificou-se pelo do teste de Friedman, e o teste *post-hoc* de Dunn identificou onde estava a diferença acima mencionada. Para o aspecto da urina, utilizou-se o Teste Qui-quadrado.

Este trabalho foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FMVZ, UNESP, Campus de Botucatu, sob protocolo 38/2007.

## Resultados e Discussão

### pH urinário

O pH manteve-se alcalino (7,0 a 7,75) antes do início do tratamento (M0 e M1) e, nos grupos  $G_A$  e  $G_{AC}$ , houve diminuição do pH um dia após a administração do cloreto de amônio ( $p < 0,05$ ) (M1b), permanecendo ácido até o final do experimento (M4). O  $G_C$  não decresceu linearmente os valores encontrados de pH do momento basal, oscilando entre pH alcalino e ácido durante todo o período diferindo dos grupos  $G_A$  e  $G_{AC}$  nos momentos M3 e M4 (Figura 1).



**Figura. 1.** Medianas dos pH urinários dos ovinos submetidos à suplementação com cloreto de amônio ( $G_A$ ), cloreto de amônio e vitamina C ( $G_{AC}$ ), e vitamina C ( $G_C$ ), nos diferentes momentos de colheita. Setas indicam diferença estatística entre os grupos ( $p < 0,05$ ).

Fonte: Os autores (as).

No início do experimento (M0 e M1), os animais apresentaram valores médios de pH urinário de  $7,05 \pm 1,10$ , estando dentro dos valores de referência para a espécie ovina (7,0 a 8,0)<sup>(24)</sup>.

Após o início dos tratamentos com acidificantes, o pH urinário dos grupos que receberam cloreto de amônio ( $G_A$ ) e cloreto de amônio associado à vitamina C ( $G_{AC}$ ) foram significativamente menores ( $p < 0,05$ ) que as dos animais que receberam apenas a vitamina C ( $G_C$ ), desde o momento M1b até o M4.

O grupo  $G_A$  apresentou, dois dias após o início do tratamento (M1b), acidificação do pH inferior a 5,3 e manteve até 21 dias de tratamento (M4) valores de pH abaixo de 5,9. O grupo  $G_{AC}$  apresentou diminuição do pH para 5,5 dois dias após o início do tratamento (M1b) e manteve os valores inferiores a 6,0 até M4 no final do experimento, acompanhando os resultados obtidos no grupo  $G_{AC}$ , visto que ambos receberam cloreto de amônio.

O grupo  $G_C$  não se mostrou eficaz na estabilização e manutenção da acidificação urinária, pois somente em M2 e M2c foram registradas medianas de pH abaixo de 6,0. Os animais desse grupo apresentaram oscilação de pH alcalino (7,08 a 8,4) e ácido (5,9 a 6,9), durante o período do experimento. Os momentos em que o grupo  $G_C$  apresentou valores do pH urinário ácidos (M2 e M2c) podem ser relacionados à dieta composta por altos níveis de proteína e carboidrato, que pode ocasionar acidose metabólica transitória, levando a compensação renal pela excreção de  $H^+$ . Esse fato também foi descrito por Ferreira e colaboradores<sup>(13)</sup> em cordeiros confinados não suplementados com acidificante urinário e alimentados com alto teor de grãos, que mostraram pH ácido urinário, porém não acarretou acidose metabólica. Já em ovinos com urolitíase devido à dieta calculogênica (Ca:P 1:2), outros autores descreveram ocorrência de alcalose metabólica compensada, explicitada pelos níveis elevados de bicarbonato e pressão de  $CO_2$ <sup>(26)</sup>.

Segundo McEvoy<sup>(27)</sup>, o cloreto de amônio também tem sido usado como adjuvante no tratamento de infecções do trato urinário quando baixo pH urinário é desejado. No entanto, a literatura da medicina humana citou a ocorrência de acidose sistêmica concomitante, afirmando que a acidose pode ser evitada pela administração de outros agentes acidificantes, como o ácido ascórbico. Entretanto, na medicina veterinária, doses repetidas de 75g de cloreto de amônio têm sido usadas para fins terapêuticos em bovinos sem danos, além de doses diárias de 31 a 47g para bezerros ou 8g para ovinos, sem efeitos tóxicos<sup>(28)</sup>. Ferreira *et al.*<sup>(13)</sup> descreveram que a dose de 400mg/kg/dia de cloreto de amônio provocou acidose metabólica hiperclorêmica compensada em cordeiros confinados, comprovada pelos valores reduzidos de bicarbonato, excesso de bases e SID (diferença de íons fortes), pelos valores elevados de cloreto e pelo pH sanguíneo venoso normal. Por isso, esses autores concluíram que o cloreto de amônio, apesar de provocar diminuição da reserva alcalina no organismo, não interferiu com o desenvolvimento dos animais, podendo ser empregado como agente preventivo da urolitíase obstrutiva em ovinos.

A grande oscilação no pH grupo  $G_C$ , observada em M2 e M2c em relação aos demais,

provou a ineficiência da vitamina C por via oral como acidificante urinário e na manutenção do pH ácido em ovinos, corroborando outros autores que testaram a dose de 1g/animal/dia<sup>(29,30)</sup>. Além disso, esse fato foi respaldado pela comparação com a eficácia do cloreto de amônio para acidificação urinária nos ovinos deste trabalho. A utilização da vitamina C para acidificação urinária foi recomendada nas doses de 3 a 4mg/kg/dia<sup>(31)</sup>, dose utilizada nesse experimento, porém a via de administração oral parece não ser a melhor escolha em ruminantes pois há dificuldade de administração<sup>(12)</sup> e possibilidade de degradação ruminal<sup>(32)</sup>. Por outro lado, é inviável economicamente e, quase impraticável administrar esta vitamina por via sistêmica em doses diárias<sup>(12)</sup>.

### *Urinálise*

O aspecto turvo foi encontrado em 22 amostras do grupo  $G_A$  (22/75), 23 do grupo  $G_{AC}$  (23/75) e em 34 amostras do grupo  $G_C$  (34/75), porém não houve diferença estatística entre os grupos pelo Teste de Qui-quadrado em nenhum dos cinco momentos analisados. No M0, o aspecto turvo nas amostras dos grupos  $G_{AC}$  (7/15) e  $G_C$  (9/15) foi coincidente com o aparecimento de cristais na urina<sup>(33,34)</sup>, fato também observado em 8/15 amostras no M4 do grupo  $G_C$ .

O grupo  $G_A$  apresentou dois animais com cristais de fosfato triplo, um em M1 (raros) e outro em M3 (+), e um de urato amorfo em M3(+++); no grupo  $G_{AC}$  houve apenas um ovino com urato amorfo em M3(+++); no grupo  $G_C$ , sete animais apresentaram cristais de fosfato triplo, sendo um em M2 (+), três em M3 (+++) e dois em M4 (+), além de um animal com urato amorfo em M4 (+++). Embora a diferença entre os grupos não seja significativa, notou-se que os animais do  $G_C$  apresentaram cristalúria mesmo após 15 dias de tratamento (M2), permanecendo até 21 dias (M4) após a administração de vitamina C. Com isso, notou-se que a urina ácida, embora com quatro (4/150) amostras nos animais que receberam cloreto de amônio ( $G_A$  e  $G_{AC}$ ), preveniu a formação desses tipos de cristais. Os cristais produzidos na urina são eliminados periodicamente e somente apresentam valor diagnóstico se em grande quantidade ou associados a sinais clínicos de urolitíase<sup>(15,24,32)</sup>. Como neste estudo não houve ocorrência dessa enfermidade, pode-se relacionar a presença de cristais à dieta rica em grãos.

Cilindros hialinos estavam ausentes na maioria dos animais, exceto em quatro amostras no  $G_A$  (4/75), três no  $G_{AC}$  (3/75) e duas no  $G_C$  (2/75). A formação dos cilindros é favorecida pelo pH ácido e foram encontrados nos momentos 2, 3 e 4, nos diferentes grupos, quando os animais já estavam sob tratamento para acidificação urinária<sup>(35)</sup>. Segundo Garcia-Navarro<sup>(24)</sup>, os cilindros hialinos são formados exclusivamente por proteína e podem estar presentes, em pequeno número, na proteinúria fisiológica<sup>(36)</sup>. Esse fato é explicado porque na filtração renal a maioria das proteínas é retida devido ao seu alto peso molecular, porém não são totalmente excluídas do filtrado. Apesar disso, não houve proteinúria e/ou glicosúria com significado clínico entre os animais tratados.

Os valores encontrados para cetona, urobilinogênio, bilirrubina, sangue oculto e sais biliares estavam todos dentro da normalidade. Quanto às outras células, como



hemácias e leucócitos, outros componentes do sedimento urinário, como muco e bactérias, também não foram observadas diferenças entre os momentos e os grupos que fossem relevantes clinicamente. As células de descamação que foram encontradas com maior frequência nas amostras dos três grupos, em ordem decrescente, foram as uretrais, vesicais, renais, seguido das células da pelve e por fim as prostáticas. Houve presença de células raras e no máximo uma a três/campo em todos os momentos analisados, de forma semelhante nos três grupos experimentais. Apesar de estarem presentes na grande maioria das amostras, suas concentrações revelaram ser um achado normal<sup>(24, 33, 36)</sup>.

A densidade das amostras permaneceu entre 1.017 a 1.039 em todos os momentos e nos diferentes grupos tratados, estando dentro dos valores de normalidade para a espécie que varia entre 1.015 a 1.045<sup>(36)</sup> e sem diferença significativa entre os grupos (Tabela 1). Porém, houve diferença estatística significativa entre os momentos no grupo G<sub>AC</sub>, em que a mediana dos valores de densidade urinária foi menor a partir de uma semana de suplementação com ambos os acidificantes permanecendo assim até o momento final. Segundo Garcia-Navarro<sup>(24)</sup>, a densidade mede a concentração de sólidos totais na urina. A partir disso, identificamos que o grupo G<sub>AC</sub> foi o que teve menos cristalúria dentre os grupos, apresentando somente um animal com urato amorfo em M3.

**Tabela 1.** Densidade urinária de ovinos submetidos à suplementação com cloreto de amônio (G<sub>A</sub>), cloreto de amônio e vitamina C (G<sub>AC</sub>), e vitamina C (G<sub>C</sub>), nos diferentes momentos de colheita

Momentos	Grupos					
	G <sub>A</sub> (n=15)		G <sub>AC</sub> (n=15)		G <sub>C</sub> (n=15)	
	$\bar{x} \pm s$	md	$\bar{x} \pm s$	md	$\bar{x} \pm s$	md
M0	1027.87 ± 15.83	1026.0	1038.93 ± 12.83	1040.0 <sup>a</sup>	1035.20 ± 12.16	1038.0
M1	1030.40 ± 10.32	1030.0	1033.60 ± 8.42	1038.0 <sup>a</sup>	1027.33 ± 10.44	1026.0
M2	1028.00 ± 8.94	1028.0	1024.93 ± 11.03	1024.0 <sup>b</sup>	1029.47 ± 8.40	1030.0
M3	1023.33 ± 13.56	1024.0	1018.40 ± 8.72	1018.0 <sup>ab</sup>	1026.93 ± 11.83	1024.0
M4	1031.60 ± 6.68	1032.0	1027.73 ± 7.52	1026.0 <sup>ab</sup>	1033.33 ± 8.74	1036.0

Médias ( $\bar{x}$ ), desvios-padrão (s) e medianas (md).

<sup>a,b</sup> letras diferentes na coluna diferem-se estatisticamente entre os momentos dentro do grupo (Teste *post-hoc* de Dunn).

Fonte: Os autores (as).

### Ureia e creatinina séricas

Os valores séricos para ureia (17,12 a 42,8 mg/dL) e creatinina (1,2 a 1,9 mg/dL) (Tabela 2) encontraram-se próximos aos valores de referência para ovinos<sup>(37)</sup> em todos os grupos avaliados.

**Tabela 2.** Concentração de ureia (mg/dL) e creatinina (mg/dL) de ovinos submetidos à suplementação com cloreto de amônio (G<sub>A</sub>), cloreto de amônio e vitamina C (G<sub>AC</sub>), e vitamina C (G<sub>C</sub>), nos diferentes momentos (M) de colheita

Momentos	Variáveis	Grupos					
		G <sub>A</sub> (n=15)		G <sub>AC</sub> (n=15)		G <sub>C</sub> (n=15)	
		$\bar{x} \pm s$	md	$\bar{x} \pm s$	md	$\bar{x} \pm s$	md
M0	Ureia	45.73 ± 4.49	45.00 <sup>a</sup>	41.93 ± 9.28	38.30 <sup>a</sup>	43.42 ± 6.90	43.70 <sup>a</sup>
	Creatinina	0.80 ± 0.08	0.80 <sup>a</sup>	0.80 ± 0.11	0.80	0.84 ± 0.15	0.80
M1	Ureia	42.51 ± 4.74	42.50 <sup>a</sup>	40.56 ± 12.79	38.90 <sup>a</sup>	46.36 ± 6.39	47.20 <sup>a</sup>
	Creatinina	0.74 ± 0.12	0.70 <sup>a</sup>	0.72 ± 0.11	0.70	0.76 ± 0.16	0.80
M2	Ureia	29.69 ± 10.72	29.00 <sup>b</sup>	32.61 ± 11.04	27.80 <sup>ab</sup>	29.12 ± 13.87	26.60 <sup>b</sup>
	Creatinina	0.77 ± 0.12	0.80 <sup>a</sup>	0.73 ± 0.12	0.70	0.82 ± 0.19	0.80
M3	Ureia	32.81 ± 4.08	33.50 <sup>b</sup>	34.73 ± 4.14	33.60 <sup>ab</sup>	35.54 ± 5.07	36.40 <sup>ab</sup>
	Creatinina	0.71 ± 0.11	0.70 <sup>a</sup>	0.69 ± 0.12	0.70	0.79 ± 0.13	0.80
M4	Ureia	23.22 ± 7.10	22.20 <sup>c</sup>	29.95 ± 8.94	30.70 <sup>b</sup>	29.07 ± 10.34	26.20 <sup>b</sup>
	Creatinina	0.67 ± 0.08	0.70 <sup>Ab</sup>	0.69 ± 0.12	0.70 <sup>AB</sup>	0.76 ± 0.08	0.80 <sup>A</sup>

Médias ( $\bar{x}$ ), desvios-padrão (s) e medianas (md).

<sup>a,b</sup>Medianas seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna diferem-se estatisticamente entre os momentos dentro do grupo (Teste *post-hoc* de Dunn). <sup>A,B</sup>Medianas seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha diferem-se estatisticamente entre os grupos dentro do momento (Teste *post-hoc* de Dunn).

Fonte: Os autores (as).

Em M0 e M1, os animais não estavam recebendo tratamento com ácido ascórbico e cloreto de amônio. Portanto, os valores obtidos podem ser encarados como basais para os três grupos. Já em M2, M3 e M4, houve diminuição da concentração de ureia nos três grupos, e manteve-se sem diferença estatística entre os grupos. Essa diminuição da ureia pode ser explicada pela ação do sal acidificante, como o cloreto de amônio, que tende a produzir efeito diurético, além de acidose metabólica compensada<sup>(13)</sup>. Com maior velocidade do fluxo urinário, ocorre diminuição da reabsorção tubular de ureia. Por conseguinte, o nível sérico é menor do que é observado em velocidade urinária baixa<sup>(38-40)</sup>, embora com valores dentro da normalidade nos grupos estudados. Esse fato ajuda a explicar a menor densidade urinária obtida após a suplementação com os acidificantes, principalmente o do G<sub>AC</sub>.

A creatinina se manteve abaixo da faixa de normalidade para ovinos em todos os momentos e grupos, por isso, pode-se inferir que as substâncias acidificantes administradas neste trabalho não provocaram danos às paredes celulares dos túbulos renais e, portanto, a creatinina foi excretada da circulação sanguínea de forma eficaz<sup>(38)</sup>. É um marcador de lesão renal mais eficaz que a ureia, pois, em animais saudáveis, ela não é reabsorvida pela parede das células dos túbulos renais, além de não

ser influenciada pela dieta. Embora a creatinina não tenha se mostrado elevada, pois não houve comprometimento de mais de 50% dos néfrons neste estudo, a análise conjunta com a ureia e o estado clínico dos animais mostraram que o tratamento realizado por 21 dias consecutivos não causou agressão às células renais<sup>(39,40)</sup>.

#### Dosagens séricas, urinárias e EF de Ca, P e Mg

Não houve diferença estatística entre os grupos ou momentos em relação ao cálcio (Ca) sérico (Tabela 4), e os valores séricos médios ficaram abaixo dos valores de referência<sup>(37,41)</sup>, para a espécie ovina, semelhantemente ao descrito por Maciel *et al.*<sup>(29)</sup> em cordeiros Santa Inês alimentados com dieta calculogênica.

As medianas do Ca sérico dos animais em M0 foram 8,91 mg/dL, 8,59 mg/dL e 8,53 mg/dL para  $G_{Ar}$ ,  $G_{AC}$  e  $G_{Cr}$ , respectivamente, e mantiveram-se próximas a esses valores até o final do experimento. Larsen *et al.*<sup>(42)</sup> observaram que, em mudança brusca na alimentação para um pasto tenro, pode ser esperada redução na reabsorção de Ca. Isso pode explicar os menores valores observados no período de adaptação. Enquanto sua manutenção, ao longo dos momentos, pode ser atribuída ao mecanismo homeostático do cálcio, que é mantido pelo organismo, melhorando a eficiência da absorção deste mineral e aumentando a reabsorção óssea<sup>(41)</sup>. Houve variação na mediana do cálcio sérico no  $G_{Ar}$ , de 8,91mg/dL a 9,24 mg/dL, o que corroborou a literatura, que relatou aumento na acidez do trato intestinal devido à ingestão de cloreto de amônio, elevando a absorção de cálcio, o que pode ser utilizado na prevenção da hipocalcemia puerperal em vacas pelo consumo de dieta aniônica<sup>(7,11)</sup>.

As médias dos valores encontrados para o fósforo (Tabela 4) sérico (P) foram acima dos valores de referência para ovinos (5,0 a 7,3mg/dL) propostos por Kaneko *et al.*<sup>(37)</sup>. Fato justificado pela dieta rica em grãos, ofertada aos animais ao longo do experimento. As dietas ricas em fósforo elevam o fosfato sérico e, conseqüentemente, aumento da excreção urinária de fósforo, favorecendo a calculogênese. Embora seja a concentração de fósforo na alimentação de pequenos ruminantes seja muito importante para evitar prejuízos da hipofosfatemia, deve-se ressaltar que a baixa relação Ca:P na dieta também resulta em hiperfosfatemia, o que contribui para a formação dos cálculos<sup>(43)</sup>. Outra forma importante de excreção de P, em ruminantes, é pela saliva, por isso, a ingestão de fibras de baixa qualidade ou em pouca quantidade diminuem a produção de saliva e podem elevar a excreção de fosfatos pelos rins<sup>(1)</sup>.

**Tabela 3.** Dosagens sérica, urinária (mg/dL) e EF (%) de Ca de ovinos submetidos à suplementação com cloreto de amônio (G<sub>A</sub>), cloreto de amônio e vitamina C (G<sub>AC</sub>), e vitamina C (G<sub>C</sub>), nos diferentes momentos de colheita

Momentos	Variáveis	Grupos					
		G <sub>A</sub> (n=15)		G <sub>AC</sub> (n=15)		G <sub>C</sub> (n=15)	
		$\bar{x} \pm s$	md	$\bar{x} \pm s$	md	$\bar{x} \pm s$	md
M0	Soro	8,70 ± 0,74	8,91	8,59 ± 0,92	8,59	9,02 ± 1,42	8,53
	Urina	29,70 ± 35,43	11,97 <sup>a</sup>	26,56 ± 33,05	8,64 <sup>a</sup>	30,52 ± 34,91	14,04 <sup>a</sup>
	EF	3,45 ± 3,56	2,23 <sup>a</sup>	2,50 ± 3,27	1,74 <sup>a</sup>	4,44 ± 7,67	1,99 <sup>a</sup>
M1	Soro	8,90 ± 0,59	8,86	9,16 ± 0,98	9,23	8,88 ± 0,68	9,05
	Urina	84,80 ± 55,70	109,62 <sup>Ab</sup>	106,85 ± 13,07	103,95 <sup>Ab</sup>	115,79 ± 19,54	113,40 <sup>Bb</sup>
	EF	6,42 ± 4,91	5,98 <sup>Aa</sup>	10,33 ± 7,17	6,79 <sup>ABa</sup>	14,60 ± 9,70	11,21 <sup>Ba</sup>
M2	Soro	8,88 ± 0,63	8,88	8,87 ± 0,36	8,71	9,38 ± 1,87	8,62
	Urina	153,09 ± 29,24	151,20 <sup>c</sup>	150,82 ± 23,96	143,64 <sup>c</sup>	135,44 ± 13,67	134,19 <sup>b</sup>
	EF	15,10 ± 7,66	14,06 <sup>ab</sup>	17,97 ± 12,10	14,92 <sup>b</sup>	12,34 ± 4,95	13,32 <sup>a</sup>
M3	Soro	9,04 ± 0,35	9,06	8,99 ± 0,44	8,97	8,85 ± 0,57	8,71
	Urina	161,53 ± 43,84	156,87 <sup>c</sup>	137,47 ± 22,10	134,19 <sup>c</sup>	138,85 ± 10,40	139,86 <sup>c</sup>
	EF	25,91 ± 16,86	18,77 <sup>c</sup>	26,95 ± 19,49	23,03 <sup>c</sup>	33,60 ± 55,71	19,91 <sup>b</sup>
M4	Soro	9,20 ± 0,25	9,24	8,94 ± 0,59	8,88	9,06 ± 0,90	8,97
	Urina	179,55 ± 19,68	171,99 <sup>Ac</sup>	159,52 ± 14,98	154,98 <sup>Bc</sup>	135,83 ± 10,17	134,19 <sup>Cb</sup>
	EF	13,96 ± 4,83	12,41 <sup>bd</sup>	14,39 ± 4,46	14,19 <sup>b</sup>	10,17 ± 5,63	8,84 <sup>a</sup>

Médias ( $\bar{x}$ ), desvios-padrão (s) e medianas (md).

<sup>a,b</sup>Medianas seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna diferem-se estatisticamente entre os momentos dentro do grupo (Teste *post-hoc* de Dunn). <sup>A,B</sup>Medianas seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha diferem-se estatisticamente entre os grupos dentro do momento (Teste *post-hoc* de Dunn).

Fonte: Os autores (as).

O grupo de animais que receberam cloreto de amônio (G<sub>A</sub>), inicialmente, tinham média de fosfato de 19,85±6,16mg/dL, em M1. Com 14 dias (M3), os valores caíram para 15,56±1,76mg/dL, e, depois, para 14,79±1,24mg/dL, em M4. A administração de cloreto de amônio é satisfatória na prevenção da urolitíase por cálculos de fosfato pela acidificação urinária, o que torna o P solúvel, e, por isso, dificulta sua precipitação e a formação de cristais com Ca e Mg<sup>(41)</sup>.



**Tabela 4.** Dosagens sérica, urinária (mg/dL) e EF (%) de P de ovinos submetidos à suplementação com cloreto de amônio (G<sub>A</sub>), cloreto de amônio e vitamina C (G<sub>AC</sub>), e vitamina C (G<sub>C</sub>), nos diferentes momentos de colheita

Momentos	Variáveis	Grupos					
		G <sub>A</sub> (n=15)		G <sub>AC</sub> (n=15)		G <sub>C</sub> (n=15)	
		$\bar{x} \pm s$	md	$\bar{x} \pm s$	md	$\bar{x} \pm s$	md
M0	Soro	7,65 ± 2,10	6,86 <sup>a</sup>	7,18 ± 1,12	7,21 <sup>a</sup>	7,32 ± 1,31	7,39 <sup>a</sup>
	Urina	33,65 ± 34,88	29,40 <sup>aA</sup>	6,19 ± 7,13	2,40 <sup>B</sup>	17,51 ± 42,38	1,80 <sup>B</sup>
	EF	7,47 ± 9,37	4,50 <sup>a</sup>	1,02 ± 1,48	0,47	3,05 ± 6,32	0,26
M1	Soro	19,85 ± 6,16	22,17 <sup>b</sup>	19,77 ± 5,83	21,47 <sup>b</sup>	20,57 ± 5,93	22,35 <sup>b</sup>
	Urina	2,47 ± 4,84	1,00 <sup>b</sup>	9,65 ± 31,08	1,20	7,20 ± 9,64	1,80
	EF	0,12 ± 0,26	0,04 <sup>b</sup>	0,46 ± 1,44	0,05	0,43 ± 0,73	0,11
M2	Soro	21,38 ± 2,58	21,83 <sup>Ab</sup>	10,71 ± 2,54	11,44 <sup>Bc</sup>	16,60 ± 1,66	16,74 <sup>Cb</sup>
	Urina	12,20 ± 23,69	3,40 <sup>a</sup>	25,92 ± 54,47	2,40	10,40 ± 16,63	1,60
	EF	0,56 ± 1,32	0,13 <sup>b</sup>	5,11 ± 14,41	0,24	0,59 ± 0,98	0,07
M3	Soro	15,56 ± 1,76	16,11 <sup>Ac</sup>	17,30 ± 2,88	17,17 <sup>Ab</sup>	10,89 ± 6,23	7,63 <sup>Bc</sup>
	Urina	15,35 ± 42,51	2,60 <sup>ABa</sup>	2,65 ± 4,25	1,20 <sup>A</sup>	42,57 ± 58,49	6,20 <sup>B</sup>
	EF	1,03 ± 2,36	0,20 <sup>ABb</sup>	0,21 ± 0,30	0,09 <sup>A</sup>	4,20 ± 6,76	1,36 <sup>B</sup>
M4	Soro	14,79 ± 1,24	14,62 <sup>Ac</sup>	18,71 ± 1,68	19,08 <sup>Bb</sup>	14,88 ± 1,79	15,05 <sup>Ac</sup>
	Urina	18,24 ± 28,42	3,40 <sup>a</sup>	35,73 ± 48,78	4,60	12,48 ± 25,19	2,00
	EF	0,87 ± 1,45	0,14 <sup>b</sup>	1,84 ± 2,65	0,16	0,54 ± 1,21	0,08

Médias ( $\bar{x}$ ), desvios-padrão (s) e medianas (md).

<sup>a,b</sup>Medianas seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna diferem-se estatisticamente entre os momentos dentro do grupo (Teste *post-hoc* de Dunn).

<sup>A,B</sup>Medianas seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha diferem-se estatisticamente entre os grupos dentro do momento (Teste *post-hoc* de Dunn).

Fonte: Os autores (as).

Os animais que receberam a suplementação com vitamina C iniciaram o experimento com média dos valores séricos de P de 20,57±5,93mg/dL, após 14 dias (M3) baixou, significativamente, para 10,89±6,23mg/dL, porém, com 21 dias de suplementação (M4), os valores aumentaram para 14,88±1,79mg/dL. O mesmo ocorreu para os animais do grupo G<sub>AC</sub>, que começaram com média de fósforo de 19,77±5,83mg/dL, chegaram a ter em M1 10,71±2,54mg/dL de P, entretanto, aos 21 dias de experimento, o valor médio encontrava-se semelhante ao M0: 18,71±1,68mg/dL. Apesar da redução inicial do fósforo ter sido significativa, a vitamina C não se mostrou satisfatória na acidificação do pH urinário e não foi eficaz em reduzir o valor do P sérico, nem quando utilizada em associação com o cloreto de amônio. Maciel e colaboradores<sup>(29)</sup> também observaram aumento do P sérico no decorrer da ingestão de dieta desbalanceada em cordeiros suplementados com vitamina C.



As médias dos valores séricos de magnésio (Tabela 5) se encontram dentro dos valores de referência (2,2 a 2,8mg/dL) estabelecidos por Kaneko *et al.*<sup>(37)</sup> e Radostitis *et al.*<sup>(41)</sup>, e variaram de 2,27 a 2,63mg/dL, enquanto outros autores observaram concentrações séricas de Mg até de 3,33mg/dL em cordeiros confinados<sup>(29)</sup>.

**Tabela 5.** Dosagens sérica, urinária (mg/dL) e EF (%) de Mg de ovinos submetidos à suplementação com cloreto de amônio (G<sub>A</sub>), cloreto de amônio e vitamina C (G<sub>AC</sub>), e vitamina C (G<sub>C</sub>), nos diferentes momentos de colheita

Momentos	Variáveis	Grupos					
		G <sub>A</sub> (n=15)		G <sub>AC</sub> (n=15)		G <sub>C</sub> (n=15)	
		$\bar{x} \pm s$	md	$\bar{x} \pm s$	md	$\bar{x} \pm s$	md
M0	Soro	2,40 ± 0,57	2,32	2,33 ± 0,46	2,24	2,35 ± 0,63	2,19
	Urina	55,45 ± 26,57	48,04 <sup>a</sup>	67,46 ± 40,76	54,05 <sup>a</sup>	72,27 ± 28,77	63,06 <sup>a</sup>
	EF	28,64 ± 9,04	27,33	32,27 ± 22,93	24,90	35,30 ± 22,70	36,67
M1	Soro	2,39 ± 0,43	2,34	2,38 ± 0,42	2,35	2,27 ± 0,44	2,30
	Urina	71,08 ± 25,86	69,06 <sup>ab</sup>	78,07 ± 32,46	81,08 <sup>a</sup>	57,25 ± 33,81	57,05 <sup>a</sup>
	EF	24,54 ± 12,58	19,34	25,21 ± 12,93	22,12	23,79 ± 15,64	20,01
M2	Soro	2,34 ± 0,22	2,38 <sup>AB</sup>	2,28 ± 0,15	2,26 <sup>A</sup>	2,44 ± 0,13	2,38 <sup>B</sup>
	Urina	103,90 ± 36,93	105,10 <sup>b</sup>	93,89 ± 43,24	78,07 <sup>a</sup>	98,49 ± 40,16	102,10 <sup>ab</sup>
	EF	34,68 ± 7,85	32,77	34,24 ± 12,93	32,47	29,58 ± 10,41	28,73
M3	Soro	2,47 ± 0,21	2,49	2,44 ± 0,21	2,49	2,54 ± 0,24	2,49
	Urina	86,68 ± 70,94	60,06 <sup>ab</sup>	68,46 ± 44,49	69,06 <sup>a</sup>	81,08 ± 68,53	36,03 <sup>ab</sup>
	EF	28,83 ± 10,04	30,04	37,47 ± 23,60	28,29	31,94 ± 32,59	22,71
M4	Soro	2,53 ± 0,28	2,49 <sup>A</sup>	2,30 ± 0,21	2,38 <sup>B</sup>	2,63 ± 0,26	2,61 <sup>A</sup>
	Urina	106,92 ± 23,65	111,11 <sup>ABab</sup>	87,28 ± 34,47	84,08 <sup>Aa</sup>	119,92 ± 35,50	126,12 <sup>Bb</sup>
	EF	29,67 ± 9,97	27,11	27,79 ± 6,11	26,96	27,37 ± 6,98	27,22

Médias ( $\bar{x}$ ), desvios-padrão (s) e medianas (md).

<sup>a,b</sup>Medianas seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna diferem-se estatisticamente entre os momentos dentro do grupo (Teste *post-hoc* de Dunn). <sup>A,B</sup>Medianas seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha diferem-se estatisticamente entre os grupos dentro do momento (Teste *post-hoc* de Dunn).

Fonte: Os autores (as).

Ao longo dos momentos, a dosagem sérica de Mg não apresentou diferença estatística, entretanto, no G<sub>C</sub>, notou-se aumento comparando os valores médios no M0 (2,19mg/dL) com o M4 (2,61mg/dL). Notou-se que a ingestão de vitamina C, portanto, elevou a concentração de Mg sérico no decorrer do confinamento, o que pode ocasionar em retenção renal de Mg e aumento na excreção de P, que eleva a concentração do íon na urina e favorece a urolitíase<sup>(20)</sup>. A análise entre os grupos mostrou que, em dois momentos (M2 e M4), o G<sub>C</sub> foi semelhante ao G<sub>A</sub>, e ambos apresentaram medianas maiores que G<sub>AC</sub>. Esse grupo, que recebeu os dois produtos, obteve as menores média de Mg quando comparado aos demais, com exceção do M1, porém todos os valores estiveram dentro dos valores de referência para o eletrólito em ovinos<sup>(37,41)</sup>.

Não existem padrões de normalidade para a concentração desses eletrólitos na urina, mas outros autores estudaram a influência de diferentes dietas na ocorrência de urolitíase em caprinos<sup>(5)</sup> e ovinos<sup>(29)</sup> e descreveram valores distintos correspondentes à quantidade do mineral em cada ingrediente da dieta.

Houve diferença estatística entre os grupos para a concentração urinária de Ca (Tabela 3) em M1 e M4, quando os maiores valores da mediana foram encontrados no grupo  $G_C$  e  $G_A$ , respectivamente. No entanto, os maiores resultados de Ca urinário ocorreram nos ovinos suplementados com cloreto de amônio ( $G_A$  e  $G_{AC}$ ) no M2, M3 e M4.

Ao longo dos momentos, de forma geral, a concentração de Ca urinário nos três grupos aumentou do M0 ao M2, permanecendo estável até M4. Houve diferença estatística ao longo dos momentos nos três grupos, sendo os menores valores de medianas encontrados no M0 e os maiores no M4. Esse fato não foi observado por Maciel *et al.*<sup>(29)</sup>, que descreveram redução drástica da excreção urinária de Ca em cordeiros Santa Inês ao longo do confinamento.

Takagi e Block<sup>(43)</sup> atestaram que dietas acidogênicas aumentaram a excreção urinária de Ca e diminuíram a sua retenção. Braithwaite<sup>(44)</sup> citou que a excreção urinária de Ca é controlada por mecanismo renal, que é afetado pelo pH, sendo assim, a acidose age diretamente sob as células tubulares renais, causando diminuição da reabsorção tubular renal do cálcio, isso resulta em menores níveis séricos de Ca, relatado anteriormente.

Em relação à dosagem de P urinário (Tabela 4), existiu diferença no M0, quando o grupo  $G_A$  apresentou mediana maior que os demais, porém, nesse momento, os animais estavam se adaptando à dieta, ao ambiente e ainda não havia administração dos acidificantes. As dietas ricas em fósforo provocam elevação do fosfato sérico e, conseqüentemente, aumento de sua excreção urinária, o que favorece a calculogênese. Porém, em ruminantes saudáveis, a excreção do fósforo é também realizada através das fezes, enquanto que no caso de aumento da concentração sérica desse eletrólito a excreção passa a ser urinária<sup>(45)</sup>.

As medianas das dosagens de P urinário mostraram diferença estatística ao longo dos momentos apenas no  $G_A$ . Após sete dias da administração dos acidificantes, já se pôde notar a diminuição dos valores urinários de P. No  $G_A$ , a mediana foi de 29,40mg/dL para 1mg/dL e se manteve baixa até o final do experimento, mostrando o efeito benéfico do acidificante em prevenir a hiperfosfatúria.

As concentrações de Mg urinário (Tabela 5) apresentaram diferença estatística ao longo dos momentos nos três grupos e mostraram oscilação, porém as maiores medianas foram vistas no M4 em todos os grupos, com maior valor em  $G_{AC}$ . Semelhante a este estudo, Maciel *et al.*<sup>(29)</sup> também relataram aumento progressivo de excreção urinária de Mg em ovinos alimentados com dieta desbalanceada.

Como citado anteriormente, o papel do Mg na litíase ainda é discutido. Asplin *et al.*<sup>(46)</sup> destacaram que o Mg é considerado inibidor da cristalização, nucleação e crescimento de urólitos de oxalato de cálcio. Portanto, maior excreção de Mg pode indicar maior secreção desse eletrólito pelos túbulos renais, o que causaria menor predisposição aos

cálculos urinários<sup>(29)</sup>. As alterações no metabolismo de Mg são fatores determinantes no desenvolvimento da urolitíase, embora também seja necessário metabolismo anormal de fósforo<sup>(29)</sup>. Esses autores descreveram elevados níveis de Mg, P e baixos níveis de Ca em resultado da dieta desbalanceada, o que aumentaram a possibilidade de formação de urólitos devido à retenção renal do Mg e ao aumento na excreção do P, elevando a concentração urinária.

De forma geral, as medianas dos valores de EF dos três eletrólitos se comportaram de forma semelhante às observadas na análise bioquímica urinária, com maior excreção do cálcio (Tabela 3), e baixa excreção do P (Tabela 4), tendo, porém, pouca influência na excreção fracionada de Mg (Tabela 5). A determinação da excreção fracionada (EF) dos eletrólitos urinários foi efetuada, pois segundo Caple *et al.*<sup>(17)</sup> variações na absorção e excreção de água dificultam a interpretação dos valores de eletrólitos na urina.

Apesar da eficácia distinta na acidificação urinária entre os três tratamentos, não houve diferença expressiva na EF, mostrando que o produto utilizado não proporcionou mudanças entre os animais suplementados dentro de cada momento. O  $G_C$  apresentou resultados maiores de EF de Ca que o  $G_{A'}$ , sendo que o  $G_{AC}$  se assemelhou aos dois. No M3, o  $G_C$  mostrou maiores valores de EF de P que o  $G_{AC'}$  e o  $G_A$  foi semelhante aos grupos suplementados com vitamina C.

Ao longo dos momentos, a EF de Ca apresentou diferença estatística, porém se comportou de forma semelhante nos três grupos, com aumento progressivo dos valores de M0 ao M3, com queda no M4 demonstrando que os tratamentos proporcionaram maior excreção de Ca.

Em relação a EF de P, houve diferença apenas no  $G_{A'}$ , que apresentou queda dos valores do M0 para M1, mantendo-se com resultados mais baixos até o final do experimento. Com isso, pode-se demonstrar que a utilização do cloreto de amônio na dieta diminuiu a excreção do fósforo, o que concorda com o efeito preventivo da urolitíase<sup>(9,10,13)</sup>.

Quanto aos valores de EF de Mg, as medianas de todos os momentos e grupos foram semelhantes entre si, provando que este não foi um bom parâmetro para avaliação dos tratamentos.

Nas condições deste estudo, o cloreto de amônio foi o agente acidificante que diminuiu mais rapidamente o pH urinário dos cordeiros e o manteve ácido durante todo o período analisado. O cloreto de amônio associado à vitamina C ( $G_{AC}$ ) acompanhou os efeitos observados no grupo tratado apenas com cloreto de amônio ( $G_A$ ) no pH da urina. Devido a oscilação nos valores de pH urinário observados no grupo suplementado com ácido ascórbico ( $G_C$ ), esse não foi eficiente na manutenção da acidificação urinária.

Os tratamentos não interferiram com os parâmetros avaliados na urinálise, nem com as dosagens de ureia e creatinina. Houve diminuição significativa do P sérico no  $G_{A'}$ , além de aumento urinário nos teores de cálcio e magnésio neste grupo. A EF de Ca aumentou após o início dos tratamentos, porém não houve interferência para Mg. A EF de P foi significativamente menor somente no  $G_A$ .

## Conclusões

Concluiu-se que a administração de vitamina C oral não demonstrou ser efetiva na acidificação do pH urinário, portanto, pode-se inferir que é ineficaz como método preventivo de urolitíase obstrutiva em ovinos. Por outro lado, o cloreto de amônio apresentou êxito na acidificação urinária, já com 24h após sua administração, e, por isso, pode ser utilizado na prevenção dessa enfermidade.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a FMVZ/UNESP, Botucatu-SP pela estrutura física e equipamentos utilizados para a realização do experimento e a FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela Bolsa de Mestrado concedida (Processo 2007/53507-4).

## Referências

- 1 Riet-Côrrea F, Simões SVD, Vasconcelos JS. Urolitíase em caprinos e ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2008; 28: 319-322.
- 2 Guimarães JA, Mendonça CL, Guaraná ELS, Dantas AC, Costa NA, Câmara ACL, Farias CC, Afonso JAB. Estudo retrospectivo de 66 casos de urolitíase obstrutiva em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2012; 32: 824-830
- 3 Riedi A-K, Nathues C, Knubben-Schweizer G, Nuss K, Meylan M. Variables of initial examination and clinical management associated with survival in small ruminants with obstructive urolithiasis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2018; 32:2105–2114.
- 4 Sun WD, Zhang KC, Wang JY, Wang XL. The chemical composition and ultrastructure of uroliths in Boer goats. *The Veterinary Journal*. 2010; 186: 70–75.
- 5 Antonelli AC, Barrêto Júnior RA, Mori CS, Sucupira MCA, Marcello ACS, Ortolani EL. Efeito de diferentes fontes energéticas na predisposição para urolitíase em cabritos. *Ciência Animal Brasileira*. 2012; 13:487-493.
- 6 Ferreira DOL, Santarosa BP, Amorim RM, Chiacchio SB, Gonçalves RC. Urolitíase obstrutiva em ovinos. *Veterinária e Zootecnia*. 2015; 22: 183-197.
- 7 Del Claro GR, Zanetti MA, Correa LB, Netto AS, Paiva FA, Salles MSV. Balanço cátion-aniônico da dieta no metabolismo de cálcio em ovinos. *Ciência Rural*. 2006; 36: 222-228.
- 8 Jones ML, Streeter RN, Goad CL. Use of dietary cation anion difference for control of urolithiasis risk factors in goats. *American Journal of Veterinary Research*. 2009; 70: 149-155.
- 9 Mavangira V, Cornish JM, Angelos JA. Effect of ammonium chloride supplementation on urine pH and urinary fractional excretion of electrolytes in goats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2010; 237: 1299-1304.
- 10 Crookshank HR. Effect of ammonium salts on the production of ovine urinary calculi. *Journal of Animal Science*. 1970; 30: 1002-1004.
- 11 Stratton-Phelps M, House JK. Effect of a commercial anion dietary supplement on acid-base balance, urine volume, and urinary ion excretion in male goats fed oat or grass hay diets. *American Journal of Veterinary Research*. 2004; 65: 1391-1397.

- 12 Navarre CB. Urolithiasis in Goats. In: The North American Veterinary Conference, 2007, Orlando, Florida. Anais... Orlando: [s.n] p.255-257. (Resumo). 2007.
- 13 Ferreira DOL, Santarosa BP, Sacco SR, Dias A, Amorim RM, Chiacchio SB, Lisbôa JAN, Gonçalves RC. Efeito da suplementação de cloreto de amônio sobre o equilíbrio ácido-básico e o pH urinário de ovinos confinados. Pesquisa Veterinária Brasileira. 2014; 34:797-804.
- 14 Freeman SR, Poorea MH, Young GA, Anderson KL. Influence of calcium (0.6 or 1.2%) and phosphorus (0.3 or 0.6%) content and ratio on the formation of urolithogenic compounds in the urine of Boer-cross goats fed high-concentrate diets. Small Ruminant Research. 2010; 93: 94-102.
- 15 Jones ML, Gibbons PM, Roussel AJ, Dominguez BJ. Mineral Composition of uroliths obtained from Sheep and Goats with Obstructive Urolithiasis. Journal of Veterinary Internal Medicine. 2017; 31:1202-1208.
- 16 King C. Practical use of urinary fractionated excretion. Journal of Equine Veterinary Science. 1994; 14: 464-468.
- 17 Caple IW, Doake PA, Ellis PG. Assessment of the calcium and phosphorus nutrition in horses by analysis of urine. Australian Veterinary Journal. 1982; 58: 125-131.
- 18 Lefebvre HP, Dossin O, Trumel C, Braun JP. Fractional excretion tests: a critical review of methods and applications in domestic animals. Veterinary Clinical Pathology. 2008; 37: 4-20.
- 19 Sacco SR, Lopes RS. Urolitíase: estudo comparativo em bovinos Guzerá oriundos de propriedades com e sem o problema. Pesquisa Veterinária Brasileira. 2011; 31: 206-212.
- 20 Garry F, Chew DJ, Rings DM, Tarr MJ. Renal excretion of creatinine, eletrolytes, protein and enzymes in healthy sheep. American Journal of Veterinary Research. 1990; 51: 414-419.
- 21 Neto JP, Soares PC, Batista AMV, Andrade SFJ, Andrade RPX, Lucena RB, Guim A. Balanço hídrico e excreção renal de metabólitos em ovinos alimentados com palma forrageira (*Nopalea cochenillifera Salm Dyck*). Pesquisa Veterinária Brasileira. 2016, 36: 322-328.
- 22 National Research Council - NRC. Nutrient Requirements of Small Ruminants: sheep, goats, cervids and New World camelids. Natl Acad. Press, Washington, DC. 2007, 384p.
- 23 Pires CC, Silva LF, Schlick FE, Guerra DP, Biscaino G, Carneiro RM. Cria e terminação de cordeiros confinados. Ciência Rural. 2000; 30: 875-880.
- 24 Garcia-Navarro CEK. Manual de Urinálise Veterinária. São Paulo: Varela; 2005. 95p.
- 25 Fleming SA, Hunt EL, Riviere JE, Anderson KL. Renal "clearance" and fractional excretion of electrolytes over four 6-hour periods in cattle. American Journal of Veterinary Research. 1991; 52: 5-8.
- 26 Maciel TA, Oliveira CC, Afonso JAB, Júnior RJSM, Flagliari JJ, Mathias LA, Oliveira D, Artoni SMB, Amoroso L. Predictive Elements of Obstructive Urolithiasis in Sheep. Acta Scientiae Veterinariae. 2019; 47: 1698.
- 27 Mcevoy GK. (ed.). American Hospital Formulary Service. AHFS Drug Information. American Society of Health-System Pharmacists, Bethesda: MD; p.2585, 2006.
- 28 Clarke ML, Harvey DG, Humphreys DJ. Veterinary Toxicology. 2nd ed. London: Bailliere Tindall; 1981. p. 26.
- 29 Maciel TA, Júnior NL, Araújo VV, Silva Filho AB, Gomes DLS, Barbosa AMS, Farias CC, Magalhães ALR, Lima MJM, Melo SAX, Oliveira D. Avaliação dos perfis minerais séricos, urinários e sedimentares de ovinos recebendo dieta calculogênica. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 2016; 68(4): 967-976.



- 30 Maciel TA, Ramos IA, Silva RJ, Soares PC, Carvalho CCD, Maior Júnior RJS, Amoroso L, Artoni SMB, Afonso JAB, Oliveira D. Clinical and Biochemical Profile of Obstructive Urolithiasis in Sheep. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2017; 45: 1515.
- 31 Belknap EB, Pugh DG. Enfermidades do Sistema Urinário. In: Pugh DG. *Clínica de Ovinos e Caprinos*. 1a. ed. São Paulo: Roca; 2005. p.287-310.
- 32 Medeiros RMT, Paulino CA. Vitaminas. In: Spinosa HS, Górnaiak SL, Bernardi MM. *Farmacologia Aplicada a Medicina Veterinária*. 4. ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. p.736-749
- 33 Wansley HL, Alleman AR. Renal function urinalysis. In: Cowell RL. *Veterinary Clinical Pathology Secrets*. 1.ed. St Louis: Elsevier Health Sciences; 2004, p.140-167.
- 34 Stockham SL, Scott MA. Urinary System. In: Stockham SL, Scott MA. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2nd.ed. Iowa: Blackwell, 2008; p.908.
- 35 Meyer DJ, Coles EH, Rich LJ. *Medicina de Laboratório Veterinária-Interpretação e Diagnóstico*. 1 ed. São Paulo: Roca; 1995.
- 36 Araújo PB, Pereira DS, Teixeira MN, Coelho MCOC, Alencar SP. Urinálise como instrumento auxiliar no diagnóstico de enfermidades em pequenos ruminantes. *Medicina Veterinária*. 2009; 3: 30-38,
- 37 Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6.ed. San Diego: Academic; 2008. 916p.
- 38 George JW, Hird DW, George LW. Serum biochemical abnormalities in goats with uroliths: 107 cases (1992–2003). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2007; 230: 101-106.
- 39 Kozloski GV, Fiorentini G, Härter CJ, Sanchez LMB. Uso da creatinina como indicador da excreção urinária em ovinos. *Ciência Rural*. 2005; 35: 98-102.
- 40 Kirsztajn GM. Avaliação do ritmo de filtração glomerular. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2007; 43: 257-264.
- 41 Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. *Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Ovinos*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan (reimpressão); 2016. 1737p.
- 42 Larsen JWA, Constable PD, Naphthine DV. Hipocalcaemia in ewes after a drought. *Australian Veterinary Journal*. 1986. 63: 25-26.
- 43 Takagi H, Block E. Effects of manipulating dietary cation-anion balance on micromineral balance in sheep. *Journal of Dairy Science*. 1991; 74: 4202-4214.
- 44 Braithwaite GD. The effect of ammonium chloride on calcium metabolism in sheep. *The British Journal of Nutrition*. 1972; 27: 201-209.
- 45 Balarin MRS, Lisbôa JAN, Kohayagawa A, Kuchembuck MRG. Valores de referência para as excreções fracionadas urinárias de cálcio e de fósforo em bovinos da raça Nelore agrupados por sexo e faixa etária. *Semina: Ciência Agrárias*. 1997; 18: 33-39.
- 46 Asplin JR, Murray JF, Coe FL. Nephrolithiasis. In: Brenner A, Rector S. (eds.). *The kidney*. Philadelphia: W.B Saunders, 2000; 1774-1819.