

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA

# PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA: TEXTO INTRODUTÓRIO

TEXTO DE APOIO AO CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM  
ANÁLISES CLÍNICAS VETERINÁRIAS

Félix H. Diaz González  
Sérgio Ceroni da Silva  
(Editores)

Porto Alegre – Rio Grande do Sul – Brasil  
2008

P312 Patologia clínica veterinária: texto introdutório / Félix H. Diaz González, Sérgio Ceroni da Silva (editores). – Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008. 342 p.

Vários autores

Bibliografia

1. Patologia clínica veterinária 2. Clínica veterinária I. Diaz González, Félix H. II. Silva, Sérgio Ceroni da

CDD 636.089607

Catálogo na publicação: Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS

## **Prefácio**

O presente texto é apresentado à comunidade médico-veterinária como contribuição para aqueles profissionais que atuam na área de Patologia Clínica. Ele nasceu como um texto de apoio para os alunos da Especialização em Análises Clínicas Veterinárias, curso de pós-graduação *lato sensu* organizado pela Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, desde 2006. Nele contribuem professores desta instituição, bem como docentes e pesquisadores de outras Instituições de Ensino Superior ou de pesquisa do Brasil. A eles nosso sincero agradecimento.

As áreas que envolvem o presente texto introdutório incluem hematologia, bioquímica clínica, urinálise, mielograma, toxicologia, análises micológicas e helmintologia. Sendo um material de apoio na especialização é incluído um capítulo de metodologia de pesquisa que orienta os alunos na elaboração de um projeto de pesquisa e de um documento de monografia ou dissertação.

Agradecemos também aos alunos que têm participado nas diferentes edições desse curso de especialização, aos bolsistas, estagiários, pós-graduandos e residentes do Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias por seu apoio nas aulas práticas e ao pessoal da Gráfica da UFRGS por sua dedicação na editoração e publicação desta obra.

Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, maio de 2008.

*Os editores*

## **Autores colaboradores**

Alexander Welker Biondo - MV, MSc, PhD

Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR

Ana Vera Finardi Rodrigues - Mestre em Biblioteconomia

Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre

Andrea Pires dos Santos - MV, MSc

Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre

Angela Patricia Medeiros Veiga - MV, MSc, DrSc

Pesquisadora visitante da Universidade de Quebec (Canadá)

César Augusto M. Avancini - MV, MSc, DrSc

Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre

Eliane Dallegrave - MV, MSc, DrSc

Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul – CIT/RS

Félix H. Diaz González - MV, MSc, DrSc

Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre

José Maria Wiest - MV, Doutor em Higiene Veterinária

Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre

Laerte Ferreira - MV, MSc, DrSc

Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre

Luciana de Almeida Lacerda - MV, MSc

Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre

Mary Jane Tweedie de Mattos - MV, MSc, DrSc

Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre

Nádia Almosny - MV, MSc, DrSc

Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói - RJ

Nayro Xavier de Alencar - MV, MSc, DrSc

Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói - RJ

Rita Pato Hoffmann - MV, MSc, DrSc

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre - RS

Sônia Terezinha dos Anjos Lopes - MV, MSc, DrSc

Departamento de Clínica de Pequenos Animais, Universidade Federal de Santa Maria

Viviane Cristina Sebben – Bióloga, MSc

Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul – CIT/RS

## Índice

|  |     |
|--|-----|
| 1. Hematologia clínica .....   | 1   |
| 2. Avaliação da hemostasia e distúrbios da coagulação .....                        | 58  |
| 3. Transfusão sanguínea em veterinária .....                                       | 73  |
| 4. Mielograma .....  | 95  |
| 5. Urinálise .....   | 107 |
| 6. Bioquímica clínica .....  | 140 |
| 7. Equilíbrio ácido-básico em medicina veterinária .....                           | 197 |
| 8. Toxicologia clínica: aspectos teórico-práticos .....                            | 206 |
| 9. Análises clínicas micológicas .....   | 290 |
| 10. Helmintologia: diagnóstico e interpretação de resultados parasitológicos ..... | 318 |
| 11. Metodologia de pesquisa .....  | 325 |

# 1. HEMATOLOGIA CLÍNICA

*Sônia Terezinha dos Anjos Lopes  
Alexander Welker Biondo  
Andrea Pires dos Santos*

## **Introdução**

O sangue é composto de uma parte líquida e outra celular. A parte líquida, denominada plasma quando com anticoagulante, contém o fibrinogênio e o soro quando sem anticoagulante, contém os mais variados solutos orgânicos, como minerais, enzimas, hormônios, etc. A parte celular é composta pelos eritrócitos, leucócitos e trombócitos (plaquetas, nos mamíferos, que não são células).

A principal função do sangue é o transporte, quer de substâncias essenciais para a vida das células do corpo, tais como oxigênio, dióxido de carbono, nutrientes e hormônios, quer de produtos oriundos do metabolismo, indesejáveis ao organismo, os quais são levados aos órgãos de excreção.

O exame de sangue mais solicitado na rotina laboratorial é o hemograma, devido à sua praticidade, economia e utilidade na prática clínica. Está dividido em duas partes: o eritrograma que compreende a contagem total de eritrócitos, dosagem de hemoglobina e hematócrito e o leucograma.

O hemograma é solicitado por várias razões: como um procedimento de screening para avaliar a saúde do animal, como auxílio na avaliação do paciente ou do diagnóstico, para verificar a habilidade corporal às infecções e para avaliar o progresso de certas doenças. No entanto, a história e o exame físico são essenciais para a interpretação dos dados hematológicos e outros testes laboratoriais que são objetos de investigação.

Resultados anormais em um hemograma são inespecíficos, podendo estar associados com várias doenças ou condições que provoquem uma resposta similar. Infreqüentemente, no entanto, podem ser diagnósticos, como nas leucemias ou hemoparasitismos.

O volume sangüíneo normal nas espécies domésticas é em torno de 6-10% do peso corpóreo, com grande variedade intra e interespecies. Entre os pequenos animais, o cão possui aproximadamente 10% e o gato 7% de volume sangüíneo em relação ao peso corpóreo, portanto a anemia no gato é mais severa.

## Hematopoiese

A hematopoiese ocorre extravascularmente na medula óssea dos mamíferos, entretanto nas aves a granulopoiese ocorre em locais extravasculares, mas a eritropoiese e os trombócitos são produzidos intravascularmente.

Na vida embrionária a hematopoiese inicia-se no saco vitelino, estágio em que há o início da formação vascular. Com o desenvolvimento fetal o fígado, o baço e a medula óssea são os maiores órgãos hematopoiéticos (Figura 1). Durante a segunda metade do desenvolvimento do feto a medula óssea e os órgãos linfóides periféricos são os maiores locais de produção de células sangüíneas.

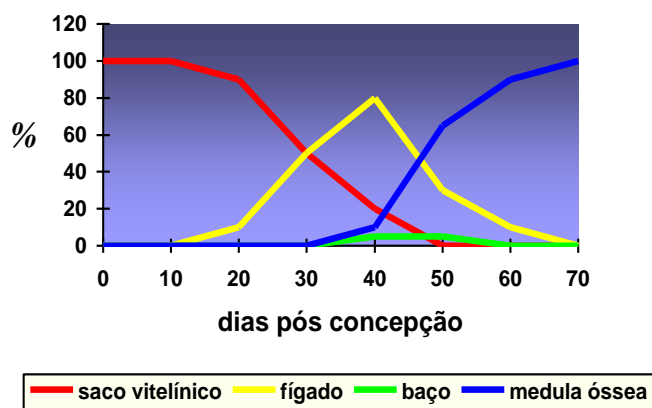


Figura 1. Contribuição da produção sangüínea no gato

Após o nascimento a hematopoiese passa a ocorrer somente na medula óssea. Inicialmente todos os ossos participam desta atividade, mas com a idade esta função vai limitando-se à medula dos ossos chatos e às extremidades dos ossos longos. No animal adulto, os principais ossos envolvidos no processo são o esterno, o crânio, o ílio, as costelas e as extremidades do fêmur e do úmero.

A medula ativa, também chamada de medula vermelha, com o tempo vai desaparecendo e deixa de ser hematopoiética, sendo substituída por tecido gorduroso, o qual forma a medula inativa ou amarela. Em casos de necessidade ocorre regeneração e a medula amarela passa a ser vermelha. Nestes casos, a hematopoiese pode voltar a ser realizada pelo fígado, baço e linfonodos.

A fase de crescimento rápido do jovem esta associada à expansão do volume sangüíneo, com pesada demanda na medula por eritrócitos. Como a demanda por eritrócitos decresce com a aproximação da maturidade, a hematopoiese regride para apenas parte dos ossos do corpo. Nos

demais locais a medula vermelha hematopoieticamente ativa é substituída pela medula amarela. A atividade hematopoética continua através da vida nos ossos chatos, como esterno, costelas, vértebras e crânio, e nas epífises de ossos longos como úmero e fêmur. A medula amarela, quando há demanda eritrocitária, pode ser ativada novamente; no entanto na fase senil a medula óssea amarela é fibrosada e de difícil e vagarosa expansão.

### **Órgãos envolvidos na hematopoiese**

O **baço** armazena e elimina hemácias (hemocaterese) e plaquetas, além de estar envolvido na hematopoiese inicial, produz linfócitos e plasmócitos, degrada hemoglobina, estoca o ferro, remove corpúsculos de Howell-Jolly, corpúsculos de Heinz e parasitas dos eritrócitos.

O **fígado**, responsável pelo estoque de vitamina B<sub>12</sub>, folato e ferro, produz muitos dos fatores de coagulação, albumina e algumas globulinas, converte a bilirrubina livre à conjugada para excretá-la pela bile, participa da circulação entero-hepática do urobilinogênio, produz um precursor ( $\alpha$ -globulina) da eritropoietina ou alguma eritropoietina e retém seu potencial embrionário para hematopoiese.

O **estômago** produz HCl para liberação do ferro do complexo de moléculas orgânicas e o fator intrínseco para facilitar a absorção da vitamina B<sub>12</sub>.

A **mucosa intestinal** está envolvida na absorção da vitamina B<sub>12</sub> e folato e controla a taxa de absorção de ferro entre a relação das necessidades corporais.

Os **rins** produzem eritropoietina também trombopoietina e degrada excessivamente a hemoglobina filtrada do ferro e bilirrubina para excreção na urina.

O **timo** consiste em um órgão linfóide central responsável pela diferenciação das células precursoras derivadas da medula óssea entre linfócitos T imunologicamente competentes envolvidos na imunidade celular e produção de linfocinas.

Os **linfonodos e folículos** produzem linfócitos e plasmócitos estão engajados ativamente na síntese de anticorpos.

O **sistema monocítico-fagocitário** (sistema reticuloendotelial) consiste no maior sistema fagocítico do organismo encarregado da defesa celular na infecção microbiana, destrói várias células sangüíneas, degrada hemoglobina em ferro, globina e bilirrubina livre, estoca o ferro e secreta macromoléculas de importância biológica, por exemplo, fatores estimulantes de colônia e complemento.

### **Eritropoiese**

A eritropoiese é formada na medula óssea a partir de uma célula pluripotencial de origem mesenquimal chamada célula tronco ou célula mãe que é estimulada a proliferar e diferenciar-se



em “burst” de unidade formadora eritróide (BUF-E) pela IL-3 e fator estimulante de colônia granulocítica-monocítica na presença da eritropoietina (EPO). Esta diferenciação ocorre sob influência do microambiente medular local e por citocinas produzidas por macrófagos e linfócitos T ativados. A proliferação e diferenciação da BUF-E para unidade formadora de colônia eritróide (UFC-E) resulta da presença destes mesmos fatores e pode ser potencializado por fatores de crescimento adicional. A EPO é o fator de crescimento primário envolvido na proliferação e diferenciação de UFC-E para rubriblasto, a primeira célula morfológicamente reconhecível das células eritróides. A seguir seguem as divisões/maturações em que serão formados: pró-rubricito, rubricito, metarrubricito, reticulócito e eritrócito.

A eritropoiese normal envolve um mínimo de quatro mitoses: uma na fase de rubriblasto, outra no estágio de pró-rubricito e duas no estágio de rubricito basofílico. O rubricito basofílico matura-se em rubricito policromático, que se transformará em metarrubricito. Ocasionalmente o rubricito policromático pode se dividir. A denucleação do metarrubricito leva à formação de reticulócito, o qual finalmente matura-se, dando origem ao eritrócito.

O processo de eritrogênese que resulta na formação de eritrócitos maduros é conhecido como eritropoiese, levando em torno de sete a oito dias para se completar. O núcleo expulso é fagocitado por macrófagos locais. Até a fase de metarrubricito, as células estarão na medula óssea, já o reticulócito pode ser encontrado no sangue periférico em até 2%. Nas espécies eqüina, bovina, suína e caprina os reticulócitos não são encontrados no sangue em condições de normalidade. A fase de proliferação, compreendida entre a célula pluripotencial até o metarrubricito leva de dois a três dias, enquanto o restante consiste na fase de maturação, levando em torno de cinco dias.

A nomenclatura mais aconselhável para as células eritróides morfológicamente identificável é: rubriblasto → pró-rubricito → rubricito basofílico → rubricito policromático → metarrubricito → reticulócito → eritrócito (Figura 2). Os eritrócitos são células encarregadas de transportar oxigênio dos pulmões aos tecidos e dióxido de carbono no sentido inverso.

## **Reticulócitos**

Os reticulócitos apresentam um grau variável de dobras membranosas e invaginações de superfície. Eles contêm ribossomos, polirribossomos e mitocôndrias, que os capacitam a sintetizar mais de 20% do conteúdo final de hemoglobina. Estas estruturas contribuem para a policromasia dos reticulócitos.

Após coloração com corantes supravitais, como o novo azul de metileno ou azul cresil brilhante, utilizado na contagem de reticulócitos, um arroxeadado de ribossomos, mitocôndrias e outras organelas citoplasmáticas aparecem nos reticulócitos como precipitados em forma de cordões (reticulócitos agregados) ou esparsos (pontilhados).

Os reticulócitos podem permanecer na medula óssea por dois a três dias antes de entrar no sangue por diapedese através de células endoteliais que contornam os sinusóides medulares. A sua liberação para o sangue é controlada por um número de fatores que agem em conjunto, incluindo a concentração de eritropoietina e deformabilidade capilar e carga de superfície.

Variações interespecíes podem ocorrer em consideração ao número de reticulócitos liberado no sangue sob condições fisiológicas e patológicas. Por exemplo, o equino não libera reticulócitos para o sangue periférico, mesmo em anemia severa. Cães e gatos respondem vigorosamente com reticulocitose no sangue durante anemia regenerativa, porém os ruminantes geralmente têm uma leve resposta (Tabela 1).

Os reticulócitos maturam-se em eritrócitos 24-48 horas na circulação ou no baço, onde podem ser seqüestrados temporariamente. O processo de maturação envolve a perda de algumas superfícies de membranas, receptores para transferrina e fibronectina, ribossomos e outras organelas, obtenção da concentração normal de hemoglobina, organização final do esqueleto submembranoso, redução do tamanho celular e mudança de forma para o aspecto bicôncavo.

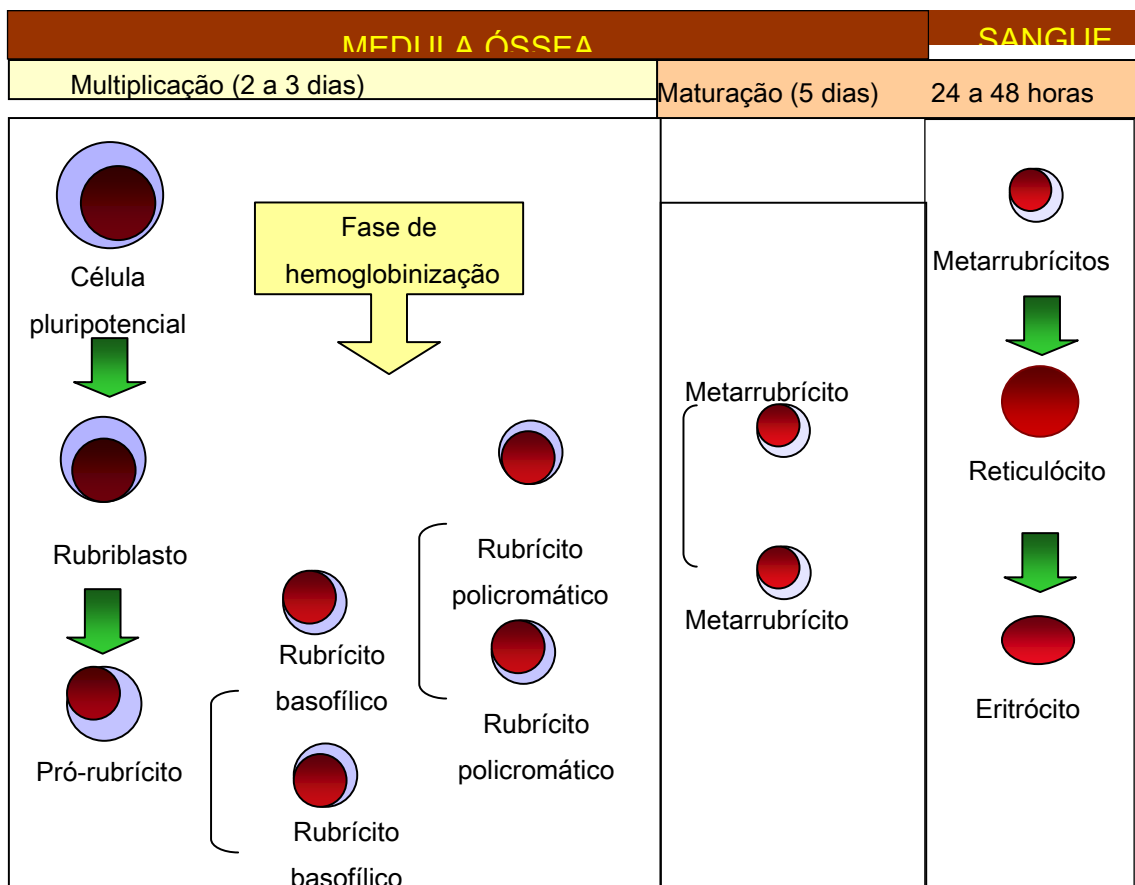


Figura 2. Desenvolvimento da eritropoiese na medula óssea.

A contagem de reticulócitos é o melhor indicativo semiquantitativo da atividade efetiva da eritropoiese medular, mas sua contagem deve ser interpretada em relação às diferentes espécies.

A contagem de reticulócitos é então calculada pelo percentual de reticulócitos contados em esfregaço sangüíneo obtido com um corante supravital e multiplicado seu resultado pela contagem global de eritrócitos. A percentagem de reticulócitos pode ser corrigida para o grau de anemia pela seguinte fórmula:

$$\text{Reticulócitos corrigidos (\%)} = \% \text{ reticulócitos} \times \frac{\text{VG paciente}}{\text{VG médio normal*}}$$

\*37% para o gato e 45% para o cão

Contagem de reticulócitos absoluta/ $\mu\text{l}$  = % de reticulócitos x contagem de eritrócitos do paciente. Por exemplo: Um cão tem um VG de 28%, contagem de eritrócitos de  $4,4 \times 10^6 / \mu\text{l}$  e contagem de reticulócitos de 15%, aplicando a fórmula teríamos:

$$\% \text{ de reticulócitos corrigida} = 15\% \times \frac{28}{45} = 9,3$$

Uma contagem corrigida de reticulócitos acima de 1% em cães e gatos indica eritropoiese ativa (anemia regenerativa). Usualmente há necessidade de um período de 3 a 4 dias para que uma significativa reticulocitose, seja encontrada no sangue periférico após uma hemorragia aguda e a resposta máxima pode levar de 1 a 2 semanas ou mais. Em uma anemia hemolítica severa, entretanto, uma rápida liberação de reticulócitos pode levar somente 1 ou 2 dias e ser seguida de uma intensa eritropoiese.

Após hemorragia a resposta da medula óssea pode ser avaliada a partir do 3 dias após a perda de sangue, pois este é o tempo mínimo necessário para a liberação de células jovens após a hipóxia. Em quadros agudos a avaliação clínica do grau de anemia e estimativa de perdas é muito mais útil que os parâmetros laboratoriais isolados; deve-se, inicialmente estabilizar o paciente com transfusão e fluidoterapia.

Tabela 1. Grau de resposta da medula na produção de reticulócitos (%)

| Grau de resposta | % de reticulócitos (canino) | % de reticulócitos (felino) | % de reticulócitos (ruminantes e eqüinos) |
|------------------|-----------------------------|-----------------------------|---|
| Normal           | 0-1,5                       | 0-0,4                       | ausentes                                  |
| Leve             | 1-4                         | 0,5-2,0                     | 1 é sinal regenerativo                    |
| Moderada         | 5-20                        | 3,0-4,0                     |   |
| Intensa          | 21-50                       | >50                         |   |

Reticulócitos e eritrócitos jovens ocasionalmente podem manifestar uma morfologia adicional. A fragmentação nuclear ou extrusão incompleta dos núcleos dos metarrubríctos resultam na retenção de núcleo pequeno remanescente chamado corpúsculo de Howell-Jolly. O corpúsculo de Howell- Jolly é removido do reticulócito quando este passa no baço e muitas vezes é encontrado em indivíduos esplenectomizados ou quando a função do baço está comprometida.

## Controle da eritropoiese

### Eritropoietina

O estímulo fundamental para a eritropoiese é a tensão tecidual de oxigênio ( $PO_2$ ). A hipóxia tecidual desencadeia a produção de eritropoietina, um fator humoral especificamente responsável pela produção de eritrócitos. É produzida pelos rins (células corticais endoteliais, glomerulares e intersticiais) e em menor proporção pelo fígado (células de Kupffer, hepatócitos e células endoteliais). O rim é considerado a única fonte de eritropoietina no cão e o fígado é o sítio predominante no feto.

A eritropoietina é gerada pela ativação do eritropoietinogênio, uma alfa-globulina, pelo fator eritropoiético renal ou eritrogenina, ou pela ativação da proeritropoietina produzida no rim por um fator plasmático (Figura 3). A eritropoietina estimula a eritropoiese em várias etapas, pela indução da diferenciação de progenitores eritróides (UFC-E) até rubriblastos, estimulando a mitose de células eritróides e reduzindo seu tempo de maturação e aumentando a liberação de reticulócitos e eritrócitos jovens ao sangue periférico.

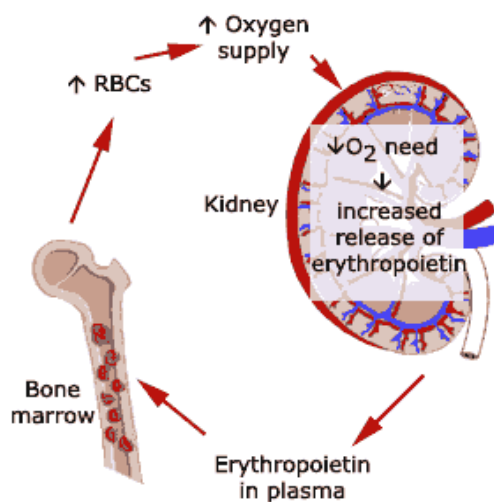


Figura 3. Produção da eritropoietina.

Vários órgãos endócrinos influenciam a eritropoiese, através de seus efeitos na síntese de eritropoietina. A pituitária media estes efeitos através da produção de TSH,

ACTH e hormônio do crescimento; as adrenais através da produção de corticosteróides; as glândulas tireóides através da produção de tiroxina; e as gônadas através da produção de andrógenos e estrógenos. A única influência negativa é a de estrógenos.

Em conjunto com a eritropoietina a IL-3 produzida por linfócitos T; o FEC-GM por linfócitos T, células endoteliais e fibroblastos; e o FEC-G por macrófagos, granulócitos, células endoteliais e fibroblastos estimulam a multiplicação de uma célula progenitora eritróide jovem, a unidade formadora de explosão eritróide (UFE-E) e sua diferenciação na célula progenitora da UFC-E. A UFE-E é relativamente insensível a eritropoietina sozinha. Doses farmacológicas de andrógenos aumentam a taxa de glóbulos vermelhos, estimulando a produção de eritropoietina ou potencializando sua ação, por isso, machos apresentam maior número de eritrócitos que as fêmeas. Os estrógenos, por sua vez, apresentam efeito inibitório sobre a eritropoiese. Hormônios tireoidianos, hipofisários e adrenocorticais alteram a demanda de oxigênio nos tecidos, alterando a necessidade de eritropoiese.

Para que ocorra a adequada multiplicação eritrocitária, há necessidade também de substrato para possibilitar a divisão celular, principalmente material nucléico. Os substratos que constituem maior importância são a vitamina B<sub>12</sub>, o ácido fólico, o cobalto e o ácido nicotínico. Na fase de maturação eritrocitária, o RNA mensageiro encarrega-se da hemoglobinizacão citoplasmática. Nesta fase são importantes o ferro na forma ferrosa, o cobre e a piridoxina.

### **Nutrientes essenciais para eritropoiese**

Para uma adequada eritropoiese há o requerimento de suprimento continuado de nutrientes como vitaminas e minerais. A deficiência destes fatores por qualquer causa levará a anemia. Uma causa comum de anemia é a deficiência de ferro. Anemias nutricionais no homem e nos animais são aquelas causadas por deficiências de proteínas, vitamina B<sub>12</sub>, folato, niacina, vitamina E, selênio, cobre e cobalto.

### **Destruição eritrocitária**

A duração média da vida do eritrócito varia com a espécie animal. Abaixo estão representados o número, o tamanho e a vida média das hemácias, de acordo com a espécie animal (Tabela 2).

Tabela 2. Número, tamanho e meia-vida das hemácias nas diferentes espécies animais\*.

| Espécie | Número<br>(milhões/ $\mu$ l) | Diâmetro<br>( $\mu$ m) | Meia-vida<br>(dias) |
|---------|------------------------------|------------------------|---------------------|
| Canino  | 6-8                          | 7                      | 120                 |
| Felino  | 5-10                         | 5,8                    | 70                  |
| Equino  | 9-12                         | 5,7                    | 150                 |
| Bovino  | 5-10                         | 5,5                    | 160                 |
| Ovino   | 9-15                         | 4,5                    | 100                 |
| Caprino | 8-18                         | 4,0                    | 100                 |
| Suíno   | 5-8                          | 6,0                    | 65                  |

\* Duncan & Prasse (1982)

No estado de saúde normal, o eritrócito deixa a circulação por duas vias, quais sejam: fagocitose por macrófagos, que é a principal e a lise intravascular, com liberação de hemoglobina.

A deformabilidade é importante na sobrevivência da hemácia e depende da manutenção da sua forma, fluidez normal interna da hemoglobina e propriedades visco-elásticas intrínsecas da membrana. Qualquer mudança nestas características pode ativar a destruição fagocitária por macrófagos, o que ocorre primariamente no baço e fígado, podendo também ocorrer na medula óssea. Os macrófagos iniciam a fagocitose após reconhecerem anticorpos IgG aderidos a antígenos de membrana em eritrócitos danificados e/ou envelhecidos. A perda de eritrócitos é continuamente balanceada por uma liberação de reticulócitos ou células jovens da medula óssea para o sangue periférico. Neste caso, os reticulócitos são importantes em casos de anemia, para que se classifiquem as anemias em regenerativa ou arregenerativa. Em casos de babesiose, no quarto ou quinto dia estas células começam a aparecer no sangue periférico.

## Morfologia dos eritrócitos

### Tamanho

**Normal:** célula grande em caninos, sendo que os caprinos apresentam a menor hemácia das espécies domésticas.

**Anisocitose:** é a diferença de tamanho entre as hemácias. Quanto mais grave a anemia, maior a ocorrência.

**Macrocitose:** predominância de hemácias grandes, geralmente jovens, recém-produzidas. Presente em reticulocitose, metarrubricitos, hipertireoidismo, deficiência de fatores de multiplicação, determinadas raças, animais jovens.

**Microcitose:** predominância de hemácias pequenas. Ocorre em anemias crônicas, principalmente ferropriva. Quanto maior a quantidade, mais grave. É fisiológica em animais idosos e algumas raças.

## Forma

**Normal:** bicôncava

**Esferócitos:** hemácias com formas esféricas, com intensa coloração pela perda de conteúdo de membrana sem perda de hemoglobina devido a eritrofagocitose parcial dos anticorpos e/ ou complemento dos eritrócitos pelos macrófagos do sistema fagocitário mononuclear. Presente em anemia hemolítica auto-imune primária ou induzida por drogas ou transfusão incompatível.

**Poiquilócitos:** são alterações na forma das hemácias. No baço, devido a microcirculação esplênica, a hemácia muda de forma o que ocorre pela existência de glicoproteínas na membrana do eritrócito. Podem ser removidos prematuramente da circulação, levando a uma anemia hemolítica. Existem vários tipos de poiquilócitos:

*Equinócitos:* são hemácias espiculadas, com várias projeções regulares. Ocorrem em amostras velhas, uremia, excesso de EDTA, coagulação intravascular disseminada (CID).

*Acantócitos:* projeções irregulares e variadas. Ocorrem em cães com hiperbilirrubinemia, associados a hemangiossarcoma ou hemangioma esplênico e doença hepática difusa, shunts porto-cava e dietas altas em colesterol.

*Esquisócitos:* fragmentos irregulares das hemácias. Ocorrem em falha renal, mielofibrose, glomerulonefrite, deficiência crônica de ferro, fluxo sanguíneo turbulento.

**Leptócitos:** aumento do diâmetro e redução na espessura. Quando hipocrômicos ocorre por produção reduzida de hemoglobina (anemia ferropriva); quando há policromasia, consistem em reticulócitos (indica regeneração); quando há ortocromia, indicam anemia arregenerativa. O mais comum é a aparência em alvo.

**Dacriócitos:** hemácias em forma de gota. Aparecem em mielofibrose ou desordens mieloproliferativas.

**Crenação:** hemácias em forma de engrenagem. Comum em bovinos, artefato de técnica ou desidratação em outras espécies.

## Coloração

**Normal:** vermelho-claro ao microscópio.

**Policromasia:** algumas hemácias apresentam-se mais coradas que outras (RNA residual), representando os reticulócitos. O aumento está associado a atividade eritropoiética aumentada e resposta à anemia regenerativa. A ocorrência de algumas células policromáticas é comum no cão e no gato.

**Hipocromia:** hemácias com intensidade de coloração reduzida e área central pálida aumentada, causada por insuficiente hemoglobina na célula, sendo a etiologia mais comum deficiência de ferro.

## Outras alterações das hemácias

**Corpúsculos de Howell-Jolly:** inclusões esféricas de restos celulares. Consiste em uma resposta da medula óssea ao estado anêmico, função esplênica reduzida ou uso de glicocorticóides em cães.

**Metarrubricitos:** eritrócitos imaturos nucleados. Indicam anemia regenerativa, doenças mieloproliferativas ou hemangiossarcomas.

**Corpúsculos de Heinz:** estruturas redondas na membrana interna do eritrócito, devido à desnaturação oxidativa da hemoglobina. Normal em felinos até 50% e incomum em cães. Nesta espécie, ocorre em animais esplenectomizados e em uso de glicocorticóides.

**Reticulócitos:** hemácias jovens, indicando reposta medular à anemia.

**Ponteadado basofílico:** hemácias que apresentam pequenos pontos basofílicos no citoplasma (RNA residual). Ocorre em intensa eritropoiese, intoxicação por chumbo quando acompanhada de metarrubricitos sem anemia e nas anemias em bovinos e ovinos.

**Rouleaux:** hemácias empilhadas. Ocorrência normal em eqüinos saudáveis, desidratação ou inflamação nas demais espécies. Em eqüinos severamente anêmicos ou caquéticos, pode estar ausente. Em ruminantes, é raro, tanto em animais saudáveis quanto em doentes.

**Aglutinação:** aglomeração espontânea dos eritrócitos. Ocorrem em doenças auto-imunes ou transfusões incompatíveis, devido à presença de anticorpos contra hemácias.

**Parasitas:** Podem ocorrer dentro dos eritrócitos ou na superfície da célula. Os mais comumente encontrados são: *Haemobartonella felis*, *H. canis*, *Anaplasma marginalis*, *Babesia equi*, *B. caballi*, *B. canis*, *Eperythrozoon suis* e *Cytauxzoon felis* (Figura 4).

## Hemoglobina

Trata-se de uma proteína conjugada formada de 96% de proteínas (globinas) e por um grupo prostético de coloração vermelha chamado heme (4%), o qual é formado por ferro e grupamentos porfirínicos.



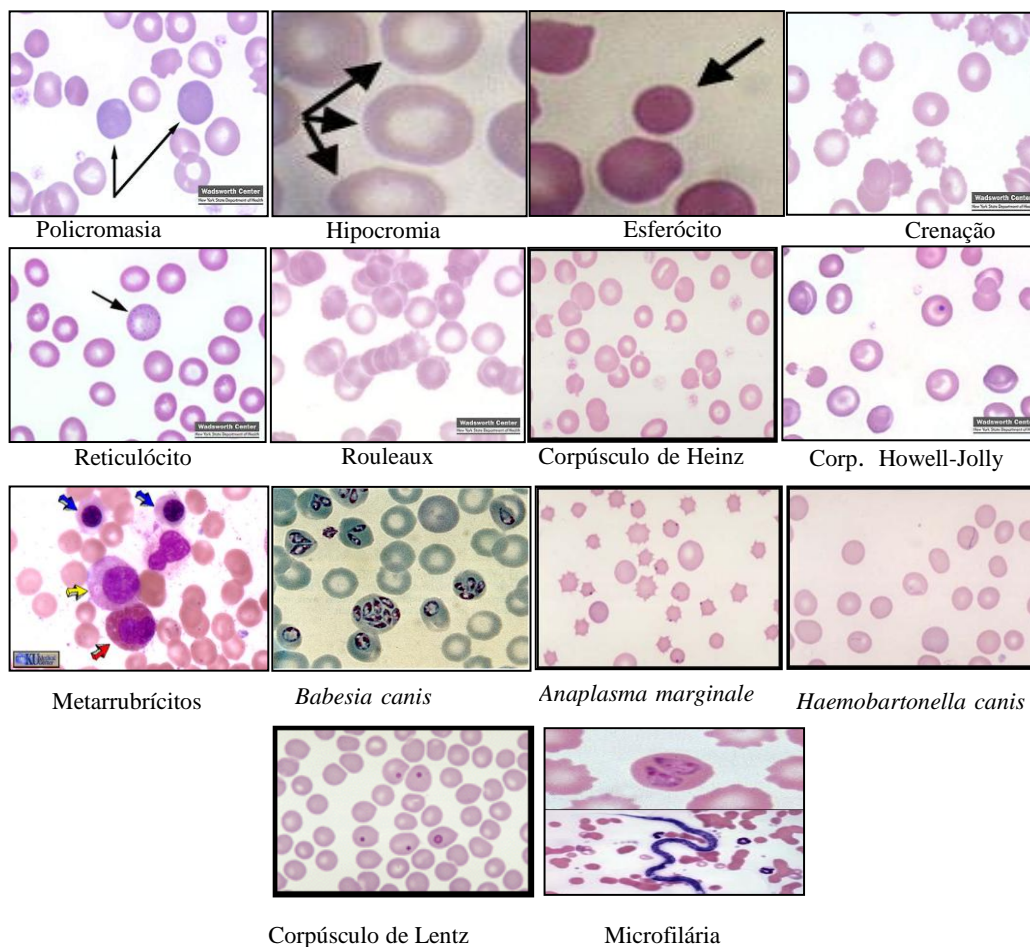


Figura 4. Alterações nas hemácias, hematozoários e outras inclusões.

A produção hemoglobínica ocorre no citoplasma das células nucleadas precursoras de eritrócitos. O ferro obtido pelas células eritróides no processo normal de eritropoiese provém dos macrófagos adjacentes que, por sua vez, recebem o ferro por endocitose da ferritina, uma proteína transportadora, por meio de um processo chamado rofecitose. As moléculas de ferritina consistem em milhares de átomos de ferro envolvidos por uma proteína (apoferritina). A ferritina pode ser visualizada como partículas densas, localizadas na membrana celular ou no citoplasma de células eritróides e macrófagos. A degradação da ferritina por enzimas lisossomais intracelulares nos macrófagos converte-a em hemossiderina. A ferritina é hidrossolúvel enquanto que a hemossiderina, não, porém ambas servem como estoques de ferro que são mobilizados para a síntese da heme. Em anemias ocasionadas por doenças crônicas, os estoques de ferro estão aumentados, pois há um seqüestro nos macrófagos do SMF.

Na formação deficiente de hemoglobina, intervêm fundamentalmente três fatores:

- a) deficiência de ferro por ingestão deficiente ou absorção anormal deste elemento;

b) interferência na atividade normal das células macrofágicas (SRE) que produzem normalmente a hemoglobina. Isto ocorre nos envenenamentos por metais, toxemias, neoplasias e nefrites, entre outras causas;

c) anormalidades renais que interferem na formação da eritropoietina.

A hemoglobina é liberada na forma livre quando ocorre hemólise, onde a união entre a hemoglobina e os estromas eritrocitário quebram-se pela ação do agente hemolítico. A hemoglobina livre no plasma é rapidamente decomposta por oxidação, liga-se a haptoglobina e é rapidamente excretada pelos rins, observando-se hemoglobinúria, ou ainda é destruída pelo sistema fagocitário mononuclear (SFM). A hemoglobina confere a cor avermelhada do plasma e esta condição é chamada de hemoglobinemia. O excesso livre é oxidado em meta-hemoglobina, que se dissocia, liberando hematina. A hematina liga-se a hemopexina e albumina sucessivamente e estes complexos são removidos pelos hepatócitos (Figura 6).

Nos macrófagos, o ferro da fração heme e os aminoácidos da fração globina são reciclados para uso. A protoporfirina é degradada em biliverdina pela heme microssomal oxigenase; a biliverdina é então convertida a bilirrubina pela bilirrubina redutase. As aves excretam somente biliverdina, pois não possuem bilirrubina redutase.

A bilirrubina liberada no plasma é ligada à albumina para o transporte até as células hepáticas, onde é conjugada em ácido glicurônico pela enzima UDP-glucuronil transferase. A bilirrubina conjugada é normalmente secretada através dos canalículos biliares e excretada pela bile na luz intestinal. No trato intestinal a bilirrubina é degradada a urobilinogênio para a sua excreção nas fezes, com reabsorção parcial para a circulação geral e re-excreção biliar no ciclo entero-hepático da bile. Uma pequena quantidade de bilirrubina conjugada e urobilinogênio normalmente escapa à re-excreção hepática e são eliminados na urina (Figura 5) e quantidades aumentadas são muitas vezes excretadas naqueles animais com doença hepática.

As duas formas de bilirrubina no plasma são chamadas de: bilirrubina livre, ligada à albumina, ou bilirrubina indireta e a bilirrubina conjugada ou direta. A bilirrubina não conjugada não é filtrada pelo rim, somente a conjugada. O acúmulo de bilirrubina no sangue leva a icterícia. Na anemia hemolítica a maioria da bilirrubina no sangue está na forma não conjugada, sendo que, na obstrução extra-hepática do ducto biliar esta é amplamente conjugada e, ambas as formas em doença hepatocelular.

A concentração de bilirrubina no plasma do cavalo é alta, comparada com outras espécies, e maior parte está na forma não conjugada. A concentração de bilirrubina, no cavalo, aumenta durante anorexia e condições febris por causa da estrutura hepática.



Figura 5. Esquema do catabolismo normal da hemoglobina.

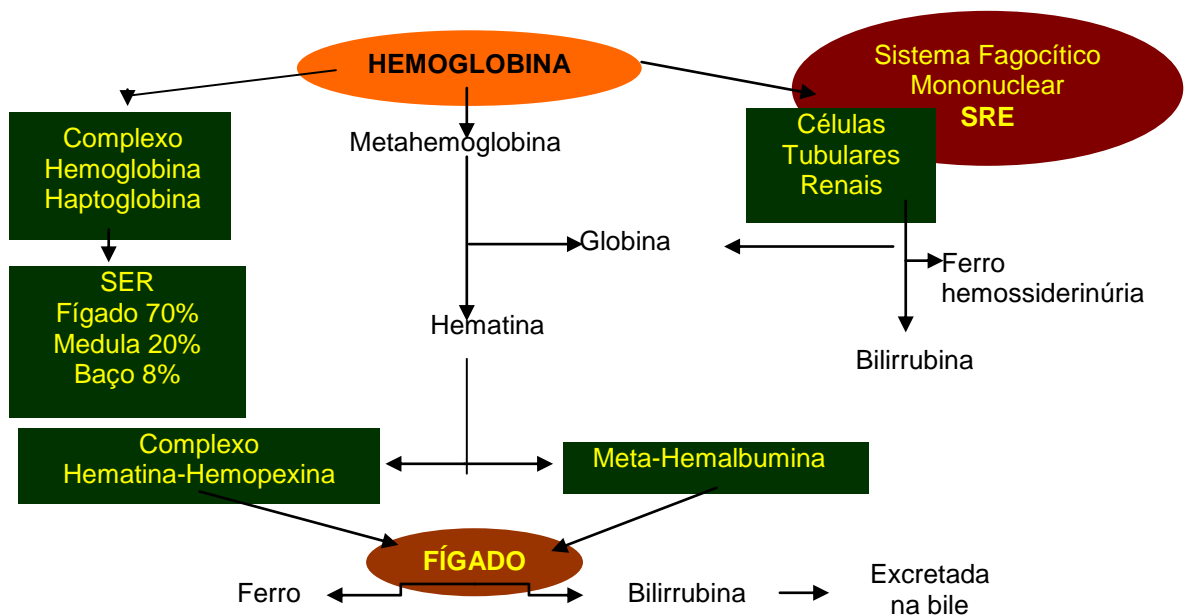


Figura 6. Esquema do catabolismo da hemoglobina livre no plasma.

Também é alta a concentração de bilirrubina, nesta espécie, ao nascimento, assim permanecendo nos potros. No entanto, a causa precisa da hiperbilirrubinemia neonatal em animais é desconhecida, observação semelhante em neonato humano indica que vários

mecanismos estão envolvidos. Estes incluem a perda do mecanismo excretório placentário da bilirrubina, um nível baixo da atividade de UDP-glucoroniltransferase no fígado do neonato e uma maior concentração de  $\beta$ -glucuronidase no intestino, o qual degrada a bilirrubina conjugada à bilirrubina livre que é reabsorvida.

## **ANEMIAS**

A anemia é definida como a presença de eritrócitos, concentração de hemoglobina e/ou hematócrito abaixo dos valores normais de referência. Constitui-se raramente em uma doença primária; geralmente é o resultado de um processo (doença) generalizado. Portanto, é necessário que se saiba a causa da anemia para que o tratamento racional seja empregado, pois ele não é direcionado, por si só, para a anemia, exceto como uma medida de emergência.

### **Sinais clínicos**

Os sinais clínicos da anemia resultam da reduzida capacidade de o sangue carrear oxigênio e de certos ajustes fisiológicos para aumentar a eficiência da reduzida massa de eritrócitos circulantes e reduzido trabalho do coração. Assim, o desenvolvimento de vários sinais clínicos depende do grau e da causa da anemia. Os mais comuns são dispnéia, intolerância ao exercício, palidez das mucosas, aumento da frequência cardíaca, algumas vezes acompanhada de murmúrios (sopro sistólico), aumento da frequência respiratória e depressão. Na anemia hemolítica aguda incluem-se ainda icterícia, hemoglobinemia, hemoglobinúria e febre. Na perda crônica de sangue, o organismo consegue manter a homeostase circulatória e em alguns casos, mesmo com menos de 50% da hemoglobina normal, o animal pode não apresentar sinais clínicos.

### **Classificação das anemias**

A anemia pode ser classificada como **relativa** ou **absoluta**, em termos de massa total de eritrócitos. A anemia **relativa** pode se desenvolver pela expansão do volume plasmático, como em fêmeas gestantes e neonatos ou após fluidoterapia. A anemia **absoluta** é clinicamente importante e merece ampla investigação. Trata-se da forma mais comum de anemia, e é classificada de acordo com a morfologia dos eritrócitos, mecanismos patogênicos e resposta eritróide da medula óssea. Embora nenhum destes fatores seja completamente satisfatório quando considerado isoladamente, eles são complementares, e juntos proporcionam meios lógicos de se analisar a anemia. O objetivo de se classificar as anemias em vários tipos é determinar possíveis mecanismos patofisiológicos e causas prováveis. Anemia por uma causa particular pode envolver mais de um mecanismo patogênico (por exemplo, componente

hemolítico como supressão da eritropoiese). Uma prática comum é avaliar inicialmente um hemograma para se classificar a anemia morfológicamente com base no VCM (volume corpuscular médio) e no CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média). Evidência de reposição medular à anemia é então obtida através da determinação do grau de reticulocitose ou policromasia no sangue.

### **Classificação etiológica ou mecanismo patogênico**

A anemia pode ocorrer por **perda de sangue** (hemorragias), **destruição acelerada dos eritrócitos** ou **diminuição na produção eritrocitária** que é a hipoplasia ou aplasia da medula óssea, incluindo a utilização deficiente de nutrientes essenciais para a produção de eritrócitos.

A **hemorragia** pode ser aguda ou crônica. A hemorragia aguda pode ser causada por traumas, úlceras gastro-intestinais, cirurgias, defeitos na hemostasia (intoxicação por Warfarina, samambaia e outros), enquanto que as causas de hemorragia crônica podem ser: parasitismo, úlceras gastro-intestinais, hematúria, neoplasias, etc.

Os achados laboratoriais nas anemias por perda de sangue incluem: resposta regenerativa, a qual ocorre após dois a três dias; redução na concentração de proteína plasmática total, se a hemorragia for externa, pois deste modo não há reutilização de certos componentes (ferro e proteína plasmática), os quais podem ser reabsorvidos na hemorragia interna.

Poucas horas após a perda de sangue os valores do eritrograma permanecem normais, embora ocorra o movimento intravascular de fluido para o espaço extravascular, assim a anemia não é evidente nos primeiros momentos da perda aguda de sangue. A expansão do volume plasmático para um nível normal é indicada devido à diminuição da concentração de proteínas plasmáticas, seguida pela diminuição dos parâmetros do eritrograma. Esta redução da proteína é evidente em uma hora após a perda aguda. Se continuar a hemodiluição, há uma significativa queda nos valores do eritrograma e proteínas plasmáticas em quatro horas. A amostra de sangue colhida um ou dois dias após hemorragia revela anemia normocítica normocrômica acompanhada por hipoproteinemia. A resposta dos reticulócitos ocorre após três dias. A concentração de proteína tende a aumentar em dois a três dias e geralmente retorna ao normal em cinco a sete dias, antes dos parâmetros dos eritrócitos terem sido restaurados. Persistindo a proteína reduzida, sugere uma continuidade da perda de sangue.

A anemia por **destruição acelerada** dos eritrócitos é causada pela **hemólise**, que pode ser intra ou extravascular (fagocitose). A hemólise intravascular pode ser causada por bactérias como *Clostridium perfringens* tipo A ou C, *Clostridium hemolyticum*, *Leptospira sp*; produtos químicos como a fenotiazina, cebola, azul de metileno, cobre; imunomediada, causada por transfusão incompatível ou isoeritrolise neonatal. A hemólise extravascular é causada por parasitas de eritrócitos, como por exemplo, *Haemobartonella sp*, *Anaplasma sp*, *Eperythrozoon*

*sp*; imunomediada, como AHAI (anemia hemolítica auto-imune), lupus eritematoso, anemia infecciosa eqüina; defeitos eritrocíticos intrínsecos, como deficiência da enzima piruvato quinase.

Os achados laboratoriais presuntivos de anemia hemolítica são: resposta regenerativa, se o tempo for suficiente para apresentar esta resposta da medula óssea; concentração normal de proteína; leucocitose neutrofílica com desvio à esquerda, devido ao estímulo da medula óssea; hiperbilirrubinemia, hemoglobinúria e hemoglobinemia (na hemólise intravascular); coloração vermelha do plasma; hiperbilirrubinemia (cor amarela do plasma) associada com uma diminuição do VG sugere uma fagocitose aumentada dos eritrócitos. Observa-se a lâmina, buscando-se evidências de parasitas eritrocitários, eritrócitos fragmentados, esferócitos e corpúsculos de Heinz.

## **Classificação patofisiológica das anemias**

### **Perda sanguínea ou anemias hemorrágicas**

#### **- Aguda**

Procedimento cirúrgico ou traumas;

Lesões hemostáticas, desordens da coagulação, deficiência de vitamina K (dicumarol, warfarin), CID.

#### **- Crônica**

Lesões gastrointestinais (neoplasias, úlceras, parasitismo);

Neoplasias com sangramento cavitário (hemangiossarcoma no cão);

Trombocitopenias;

Parasitas (carrapatos, pulgas, parasitas gastrointestinais).

### **Destruição acelerada dos eritrócitos**

1. Parasitas sanguíneos, agentes virais, bacterianos e riquetsias - podem ter um componente imuno-mediado - *Anaplasma*, *Babesia*, *Haemobartonella*, *Ehrlichia*, *Clostridium spp*, *Cytauxzoon felis*, *Leptospira*, mastite estafilocócica, Anemia Infecciosa Eqüina.
2. Drogas e químicos - muitos são oxidantes – fenotiazina; acetaminofen, em gatos e cães; azul de metileno, em gatos e cães; vitamina K, em cães; cobre, chumbo, zinco
3. Plantas tóxicas (muitas são oxidantes) e acidentes ofídicos
4. Doenças metabólicas - falha hepática, no cavalo, hiperesplenismo, torção esplênica, no cão.
5. Defeitos intraeritrocitários - deficiência da piruvato quinase em cães e gatos, deficiência da fosfofruto quinase, em cães, deficiência da glicose-6-fosfatase desidrogenase, no cavalo.
6. Destruição imunomediada do eritrócito - AHAI, primariamente em cães, isoeritrolise neonatal, primariamente em cavalos e gatos, lupus eritematoso, primariamente em cães, reação transfusional, penicilina e cefalosporina.
7. Outras causas - intoxicação por água em bovinos, administração de fluido hipotônico em grandes animais.

### **Diminuição da produção dos eritrócitos**

#### **Eritropoiese reduzida**

Doença renal crônica (falta de eritropoietina)

Deficiência de proteínas, minerais (Fe, Cu, Co, Se), vitaminas (A, E, B<sub>12</sub>, ácido fólico, niacina, piridoxina, tiamina, ácido ascórbico).

#### **Anemia por doença inflamatória**

Inflamação e neoplasia

#### **Deficiências endócrinas**

Hipotireoidismo, hipoadrenocorticismo, hipoandrogenismo.

#### **Dano citotóxico da medula**

Drogas anticâncer citotóxica, toxicidade por estrógeno, cloranfenicol, em gatos, usualmente não anêmicos, fenilbutazona, trimetoprim-sulfadiazina, radiação em cães.

#### **Agentes infecciosos**

*Ehrlichia spp.*, em cães, cavalos e gatos, FeLV, tricostrongiloides, parasitas não sugadores de sangue nos ruminantes

#### **Mielopatias**

Leucemias mielógenas, leucemias linfóides, mieloma múltiplo, linfoma metastático e mastocitoma

#### **Imunomediada**

Aplasia seletiva eritróide em cães.

#### **Eritropoiese ineficaz**

##### **Desordem da síntese do heme**

Deficiência do ferro, cobre e piridoxina.

##### **Desordem da síntese do ácido nucléico**

Deficiência de folato e vitamina B<sub>12</sub>

### **Classificação morfológica das anemias**

As anemias podem ser classificadas com base nos índices eritrocitários, levando-se em consideração o tamanho e a morfologia das hemácias. Os termos usados para o tamanho são: normocítica (normal), macrocítica (maior) ou microcítica (pequena) e para as propriedades tintoriais da hemoglobina normocrômica (normal) e hipocrômica (diminuída). Os índices eritrocitários são: volume corpuscular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Esta classificação pode ser confirmada pelo exame microscópico da população eritrocitária. Esta classificação não é específica para a causa da anemia, mas é útil quanto ao mecanismo patofisiológico o que ajuda na seleção do protocolo de tratamento.

A anemia **macrocítica normocrômica** em humanos é característica de deficiência de vitamina B<sub>12</sub> e ácido fólico e em bovinos, na deficiência de cobalto ou pastagem rica em molibdênio. A anemia resulta de uma assincronia da eritropoiese causada por alterações na maturação no estágio de pró-rubricito a rubricito basofílico, produzindo eritrócitos megaloblásticos na medula óssea. Em cães poodle os eritrócitos macrocíticos normocrômicos não são acompanhados por anemia.

A anemia **macrocítica hipocrômica** é tipicamente observada durante remissão em perda aguda de sangue ou hemólise aguda. O grau de macrocitose e hipocromia depende da severidade da anemia, associada à intensidade da resposta eritropoiética medular, o que leva a reticulocitose sangüínea. A reticulocitose em resposta à anemia aumenta o VCM e reduz o

CHCM. Entretanto, muitos dias devem passar desde a manifestação da anemia antes da alteração da morfologia eritrocítica se mostrar aparente.

A anemia **normocítica normocrômica** ocorre pela depressão seletiva da eritropoiese em doenças crônicas como infecções, doença renal crônica, malignidades e certas desordens endócrinas. Nestes casos, a resposta de reticulócitos está ausente ou insignificante. Os esforços devem ser direcionados mais para o diagnóstico da doença primária do que para o tratamento da anemia, uma vez que o uso de hematínicos está contra-indicado, pois o tecido eritropoiético não pode fazer uso destas substâncias.

A anemia **microcítica hipocrômica** resulta de deficiência de ferro ou incapacidade de utilização do ferro para a síntese da hemoglobina. Alterações na morfologia dos eritrócitos dependem da duração e severidade da anemia. Na anemia microcítica a divisão celular é normal, mas a síntese da hemoglobina é demorada com anormalidades na síntese do heme e da globina, ocorrendo uma ou mais divisões extras, durante o desenvolvimento das células eritróides, resultando na formação de micróciticos. Outras causas de anemia microcítica são: doenças inflamatórias, devido aos mediadores inflamatórios que, direta ou indiretamente, inibem a eritropoiese, reduzem o ferro no soro e encurtam a expansão de vida dos eritrócitos; deficiência de piridoxina; deficiência de cobre, o que resulta em uma deficiência funcional de ferro devido à mobilização inadequada dos estoques de ferro, causada pela diminuição na concentração de ceruloplasmina circulante, a maior proteína que contém ferro no plasma; toxicidade por drogas (cloranfenicol) ou químicos (chumbo), pois estes agentes bloqueiam a síntese do heme, formando eritrócitos microcíticos. Nas Tabelas 3 e 4 estão representadas as classificações morfológicas dos eritrócitos e nas Tabelas 5 e 6 a fórmula e exemplos.

Tabela 3. Classificação morfológica das anemias.

| <b>Tamanho (VCM)</b> | <b>Cor (CHCM)</b>      |
|----------------------|------------------------|
| <i>Normocítica</i>   | <i>Normocrômica</i>    |
| <i>Macroscítica</i>  | <i>Hipocrômica</i>     |
| <i>Microcítica</i>   | <i>(Hiperocrômica)</i> |

Tabela 4. Valores normais de índices hematimétricos para as espécies domésticas.

|         | <b>VCM (fl)</b> | <b>CHCM (g%)</b> |
|---------|-----------------|------------------|
| Caninos | 60 - 77         | 32 - 36          |
| Felinos | 39 - 55         | 30 - 36          |
| Bovinos | 40 - 60         | 30 - 36          |
| Equinos | 34 - 58         | 31 - 37          |



Tabela 5. Fórmulas para calcular os valores de VCM e CHCM.

|   |  |
|---|--|
| $VCM (fL) = \frac{VG (\%) \times 10}{\text{hemácias (milhões/mm}^3)}$ | $CHCM (\%) = \frac{\text{hemoglobina (g/dl)} \times 100}{VG (\%)}$ |
|---|--|

Tabela 6. Classificação das anemias considerando a morfologia.

| VCM         | CHCM         | Características   |
|-------------|--------------|---|
| Macrocítica | Hipocrômica  | Sempre regenerativas<br>Perda aguda de sangue/anemia hemolítica aguda   |
|             | Normocrômica | Anemias não regenerativas (diminuição do CHCM ainda não está presente), deficiência de ácido fólico, FeLV (sem nenhuma reticulocitose), eritroleucemia  |
| Microcítica | Hipocrômica  | Deficiência de ferro por perda:<br>- Perda crônica de sangue: tumores, úlceras.<br>- Parasitas: <i>Ancylostoma</i> , <i>Haemonchus</i><br>Deficiência de ferro por fatores que atuam no seu uso<br>- piridoxina, riboflavina, cobre   |
| Microcítica | Normocrômica | Doença crônica  |
| Normocítica | Normocrômica | Hemorragia e hemólises aguda sem tempo para a resposta, deficiência de ferro (antes de predominar micrócitos), inflamação e neoplasias crônicas, transtornos endócrinos, aplasia eritróide seletiva, hipoplasia e aplasia da medula óssea, intoxicação por chumbo e deficiência de vitamina B <sub>12</sub> |

### Classificação baseada na resposta medular

A eritropoiese é regulada pela eritropoietina, que é produzida primariamente pelos rins em resposta a hipóxia tecidual. A síntese de eritropoietina é inversamente proporcional à massa de eritrócitos e concentração de hemoglobina. A eritropoiese é estimulada pelo recrutamento de células progenitoras, mitose acelerada e maturação de células eritróides e rápida entrada de reticulócitos ou células jovens para a circulação. A liberação de grandesreticulócitos (stress) no sangue pode estar acompanhada pela liberação de um pequeno número de células vermelhas nucleadas.

Baseado na resposta eritropoiética medular evidente no sangue periférico, as anemias podem ser classificadas como **regenerativas** ou **arregenerativas**. Esta é útil na diferenciação

de perda sanguínea e anemias hemolíticas (geralmente regenerativas) de anemias por depressão (arregenerativas) (Tabela 7).

Na anemia regenerativa o eritrograma apresenta elementos que revelam regeneração ou resposta medular, que são: reticulocitose, anisocitose e policromasia, podendo encontrar-se muitas vezes presença de metarrubricitos, principalmente no cão e no gato. São necessários dois a três dias para uma resposta regenerativa tornar-se evidente no sangue.

A anemia arregenerativa, por sua vez, é causada por lesões na medula óssea ou ausência de elementos necessários para a produção de eritrócitos. Este tipo de anemia apresenta curso clínico crônico e início lento, é acompanhada de neutropenia e trombocitopenia. Pode ser causada por eritropoiese reduzida (medula óssea hipoproliferativa), como na ausência de eritropoietina (insuficiência renal crônica), na doença endócrina (hipoadrenocorticismo, hiperestrogenismo, hipoandrogenismo), na inflamação crônica, lesão tóxica da medula (radiação, químicos, intoxicação por samambaia, infecção por vírus e rickettsias como a *Ehrlichia canis*). São anemias normocíticas normocrômicas. Na anemia arregenerativa não existem reticulócitos e nem policromasia.

Principais sinais de boa resposta medular:

- A. Policromasia
- B. Reticulocitose
- C. Presença de corpúsculos de Howell-Jolly
- D. Metarrubricitos

Tabela 7. Exemplos de anemias quanto à resposta medular.

| <b>Regenerativa</b>                | <b>Arregenerativa</b>                   |
|------------------------------------|---|
| <b>- Perda sanguínea</b>           | Doença renal crônica                    |
| Traumas ou cirurgias               | Neoplasias crônicas e/ou metastáticas   |
| Intoxicação por dicumarol          | Leucemias                               |
| CID                                | Erlichiose:destroem cel. pluripotencial |
|                                    | Panleucopenia felina                    |
| <b>- Hemólise</b>                  | Hiperestrogenismo                       |
| Hemoparasitas:tristeza parasitária | Hipoadrenocorticismo                    |
| Anemia auto-imune                  | Hipoandrogenismo                        |
| Reação transfusional               | Linfossarcoma                           |

## **Policitemia**

É o aumento do número de eritrócitos circulantes acima dos valores normais. Está classificada em policitemia absoluta (primária ou secundária) e relativa (Figura 7). Quando o hematócrito alcança 60%, suspeita-se de policitemia absoluta ou relativa. Quando alcança 70%, suspeita-se de policitemia primária.

### **Policitemia absoluta**

Ocorre uma elevação do número de eritrócitos circulantes, causado pelo aumento da massa total de eritrócitos, mas a concentração de proteína plasmática está normal. A cianose e a congestão características das membranas mucosas são causadas pelo fluxo lento de sangue desoxigenado que é exorbitantemente rico em células vermelhas. O excesso de massa de eritrócitos aumenta a viscosidade sangüínea e a resistência vascular pulmonar e diminui o débito cardíaco. Estas anormalidades levam a um fluxo sangüíneo reduzido, oxigenação tecidual reduzida, distúrbios neurológicos e aumento do risco de trombose. A viscosidade sangüínea e o grau de transporte de oxigênio alteram-se desproporcionalmente com aumentos do hematócrito acima de 50%. A policitemia absoluta está classificada em primária e secundária.

A **policitemia primária**, verdadeira ou Vera consiste em uma desordem mieloproliferativa, caracterizada por uma proliferação anormal das células eritróides, dos granulócitos e dos megacariócitos, levando a um aumento absoluto da massa de eritrócitos, contagem de leucócitos e de plaquetas.

A **policitemia secundária** ocorre pelo aumento da taxa de eritropoietina, não é acompanhada de aumento nas contagens de leucócitos e plaquetas nem de redução significativa no volume plasmático. Os níveis de eritropoietina aumentam como uma resposta fisiológica compensatória pelos rins à hipóxia tecidual, ou como resultado de produção autônoma independente de suprimento de oxigênio tecidual. É vista em animais levados a grandes altitudes, doença cardíaca e pulmonar crônica, tetralogia de Fallot (provoca mistura dos sangues arterial e venoso, diminuindo a oxigenação dos tecidos). Pode ocorrer também devido à elaboração inadequada de eritropoietina, encontrada em alguns casos de hidronefrose, cistos renais, tumores secretantes de eritropoietina (nefroma embrionário) e certas doenças endócrinas como o hiperadrenocorticismismo.

### **Policitemia relativa**

É comumente encontrada nos animais como resultado da redução do volume plasmático causado pela desidratação. O consumo hídrico, por animais enfermos, geralmente é inadequado para manter o conteúdo de água corporal normal. Doenças acompanhadas por excessiva perda de água (diarréia, vômito, poliúria) podem rapidamente produzir desidratação. A hemoconcentração aumenta o hematócrito e a proteína plasmática devido à diminuição do volume de plasma.

A policitemia relativa ocorre em animais facilmente excitáveis, como certas raças de cães e cavalos, tendo como resultado o aumento da massa de eritrócitos na circulação devido à

contração esplênica. A contração esplênica também pode ocorrer em condições de severa dor, como por exemplo, na síndrome cólica.

### Testes laboratoriais para estabelecer o diagnóstico do tipo de policitemia

1. Determinação da PO<sub>2</sub> arterial
2. Mensuração da eritropoietina no soro.

Na vigência de policitemia secundária, a PO<sub>2</sub> estará reduzida e a eritropoietina aumentada; quando se trata de uma policitemia primária, a PO<sub>2</sub> estará normal, enquanto que a eritropoietina poderá encontrar-se diminuída ou normal; em ocorrência de policitemia relativa, todos os parâmetros encontram-se dentro da normalidade.

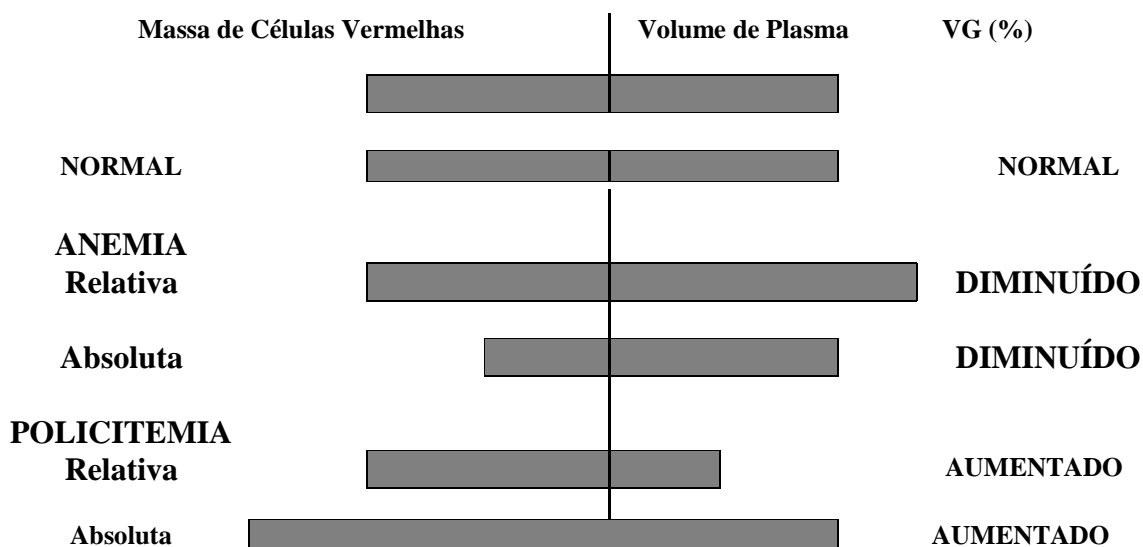


Figura 7. Mudanças relativas ocasionadas na massa do eritrócito e volume de plasma nas anemias e policitemias (JAIN, 1993).

Tabela 8. Interpretação clínica associada ao volume globular (VG) e as proteínas plasmáticas totais (PT).

| VG | PT | Interpretação   |
|----|----|---|
|    | ↓  | Hiper-hidratação, perda crônica de hemácias                   |
| ↓  |    |   |
|    | ↑  | Doenças crônicas: anemia e doenças linfoproliferativas        |
|    | ↓  | Perda trato gastro-intestinal, proteinúria, problema hepático |
| N  |    |   |
|    | ↑  | Anemia mascarada, hipergamaglobulinemia                       |

N= normal; ↑= aumento; ↓= diminuição

## AULA PRÁTICA - Hemograma

### Introdução

O hemograma é o exame realizado com o sangue periférico colhido com anticoagulante, com o objetivo de obter-se informações a cerca do que está se passando no organismo do animal no momento da colheita. Ele é composto de duas partes: o *Eritrograma* e o *Leucograma*. Na solicitação do exame necessitamos observar os seguintes aspectos:

**Identificação:** rótulo no frasco de colheita, ficha contendo nome do proprietário, data, espécie animal, raça, sexo, idade, hora da colheita, diagnóstico provisório, tratamento, história clínica resumida, nome, assinatura e CRMV do requisitante e do examinador.

### Eritrograma

O eritrograma compreende:

O número total de hemácias/ $\mu$ l, concentração de hemoglobina (g/dl), volume globular (%), VCM (fl), CHCM (%), proteínas plasmáticas (g/dl), reticulócitos (%), metarrubricitos/100 leucócitos. Observações no esfregaço sangüíneo: anisocitose, policromasia, hemoparasitas, etc.

### Valores normais

Há que se entender que os valores de tabela ou de referência são frutos da média de exames realizados numa população clinicamente sadia e, portanto obedecem a uma curva normal de distribuição. Deste modo pode existir um pequeno percentual de animais da população sadia com resultados laboratoriais próximos aos extremos (border line), ou fora deles; e o inverso também, ou seja, animais doentes com valores dentro da faixa de referência. Por isso estes exames devem ser interpretados clinicamente (Figura 8).

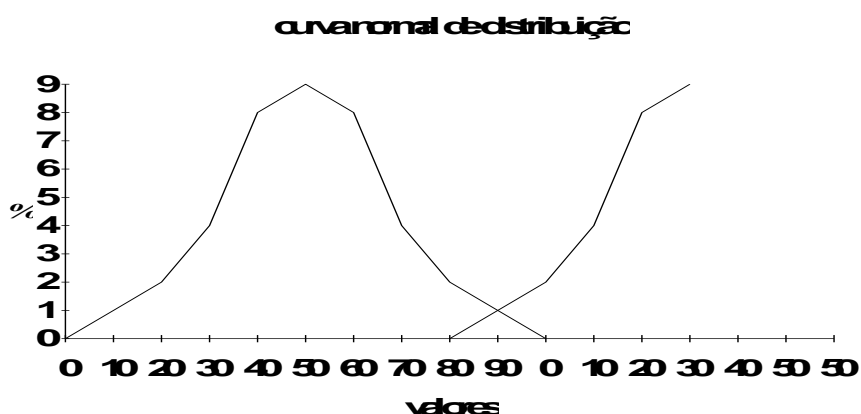


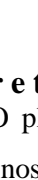


Figura 8. Curva normal de distribuição.

## Hematócrito ou Volume Globular (%)

O hematócrito é a percentagem de eritrócitos no sangue (Tabela 9). Os métodos de centrifugação dão um volume de células sedimentadas, que corresponde a uma mensuração muito exata. É um dos exames mais úteis no estudo da série vermelha e com ele podemos obter inúmeras informações como: a coloração do plasma, a capa leucocitária e microfilárias. O plasma obtido por este método pode ser empregado em outros exames, como concentração de proteínas plasmáticas totais e concentração de fibrinogênio plasmático, utilizando-se a precipitação pelo calor e refratometria.

Tabela 9. Hematócrito e a relação dos constituintes sanguíneos.

|   |  |   |
|---|--|---|
|  <b>Plasma</b>      | cor normal   | <b>incolor</b> : cão /gato/ homem<br><b>amarela</b> : herbívoros (caroteno)<br><b>amarela</b> : ictérico no cão/ gato/ homem  |
|   | cor anormal  | <b>branca</b> :<br>- <b>fisiológico</b> : lipemia pós-prandial<br>- <b>patológico</b> : diabetes, hipotireoidismo, outros<br><b>vermelho</b> :<br>- <b>artefato de técnica</b> : hemólise<br>- <b>anemia hemolítica</b> : Lupus, Babesia, intoxicação |
|  <b>Leucócitos</b> | quando avermelhado significa leptócitos (são + leves)<br>noção da contagem leucocitária<br>fibrinogênio após banho-maria a 57 °C |   |
|  <b>Hemácias</b>   | leitura do volume globular eritrocitário<br>noção da contagem global de eritrócitos  |   |

## Cor e transparência do plasma

O plasma normal é límpido e incolor (caninos e felinos) ou ligeiramente amarelado nos eqüinos e bovinos, devido ao caroteno e à xantofila presentes na alimentação dos herbívoros. Plasma ictérico é amarelo e límpido; plasma hemoglobínico é límpido, variando de rosa a vermelho; plasma lipêmico é esbranquiçado e turvo. Ao exame microscópico do plasma, podemos observar as microfilárias, logo acima da camada branca (capa flogística).

## Modificações eritrocitárias

### Tamanho

**Anisocitose**: diferença patológica de tamanho das hemácias. Quanto mais grave a anemia, maior é a ocorrência de anisocitose.

**Macrocitose**: predominância de hemácias grandes. Geralmente hemácias jovens, recém produzidas. Ocorrem nas reticulocitose, hipertireoidismo, deficiência de fatores de

multiplicação (vit. B<sub>12</sub>, ácido fólico e cobalto), em cães da raça poodle, mas sem anemia e cães jovens.

**Microcitose:** predominância de hemácias pequenas. Ocorre em anemia crônica, principalmente ferropriva. É fisiológica em animais idosos e cães da raça Akita.

### **Forma**

**Normal:** bicôncava

**Poiquilócitos:** são alterações morfológicas indistintas da forma das hemácias.

### **Concentração de hemoglobina**

O método mais usado para determinar a concentração de hemoglobina é o cianometahemoglobina, onde a margem de erro está próxima dos 5%. Para que esta técnica seja realizada, é necessário um fotolorímetro ou espectrofotômetro. Aparelhos automáticos medem diretamente a densidade ótica da oxi-hemoglobina, sendo bastante utilizados. Outro método existente é o da hematina ácida, bastante simples e barato, porém a margem de erro está dentro dos 12%. Para a sua realização utiliza-se o hemoglobinômetro de Sahli. A hemoglobina corresponde, em média a 1/3 do hematócrito.

### **Contagem de eritrócitos**

A contagem de eritrócitos pode ser feita por hemocítômetro, mas tem valor limitado em virtude da grande possibilidade de erros. A contagem por contadores automáticos permite valores mais exatos.

### **Fatores que afetam o hematócrito, hemoglobina e contagem de eritrócitos.**

Alterações na massa do eritrócito afetam os três parâmetros.

- A anemia produz valores baixos que podem ser desproporcionais se o tamanho celular e/ou o conteúdo de hemoglobina também estiverem alterados;
- A policitemia absoluta produz valores altos;
- A contração esplênica produz valores altos e é especialmente comum em cavalos excitados.

**Alterações na hidratação** (volume plasmático) afetam os três parâmetros. Portanto o exame deve ser interpretado conhecendo-se o estado de hidratação do animal, através do exame físico e análise de proteínas plasmáticas totais.

- Desidratação produz valores altos.
- Hidratação excessiva causa redução no volume, o que pode estimular anemia.

## **ROTEIRO DE AULAS PRÁTICAS**

### **Colheita de sangue venoso periférico**

- Conter o animal adequadamente proporcionando o mínimo de estresse, para obter-se um resultado hematológico representativo.

- Após antissepsia introduzir agulha percutaneamente através da veia distendida por prévio garrote manual abaixo do ponto de colheita. A colheita pela veia jugular é o local mais adequado para análises hematológicas na maioria das espécies (Quadro 8).
- Conectar seringa descartável graduada e colher lentamente o sangue, correspondente à quantidade de anticoagulante contido no frasco de acondicionamento.
- Após completar o volume desejado, retirar a seringa. Desfazer o garrote antes de remover a agulha e comprimir manualmente o local de punção com algodão embebido em álcool iodado.
- Colocar o sangue colhido na seringa, com suave compressão do êmbolo para evitar hemólise, dentro de vidro estéril contendo anticoagulante EDTA (etilenodiaminotetracético) na concentração de 2,0 mg / ml de sangue. Este anticoagulante é o mais indicado ao estudo da morfologia sanguínea, e será utilizado diluído a 10 % na proporção de 0,1 ml para cada 5 ml de sangue. Esta amostra será utilizada para a realização do hemograma completo, fibrinogênio e contagem de plaquetas.

Tabela 10. Locais e agulhas mais utilizados na colheita de sangue.

| <b>Espécie animal</b> | <b>Local de venopunção</b>        | <b>Tamanho da agulha</b> |
|-----------------------|-----------------------------------|--------------------------|
| Cão                   | cefálica, jugular, safena         | 25x7*, 25x8, 25x9, 40x12 |
| Gato                  | cefálica, jugular, safena         | 25x7, 25x8               |
| Bovino                | jugular, caudal, mamária          | 40x12, 40x16             |
| Eqüino                | jugular                           | 40x12, 40x16             |
| Ovinos e caprinos     | jugular                           | 40x10, 40x12, 40x16      |
| Suínos                | cava anterior, marginal da orelha | 40x12, 40x16             |
| Coelhos               | marginal da orelha, cardíaca      | 25x7, 40x12              |

\*25x7 (22 Gauge): 25 mm de comprimento e 0,7 mm de calibre

#### **Importantes causas de hemólise:**

- seringas e agulhas molhadas e/ou quentes.
- descarga violenta da seringa no frasco, ou feita com a agulha.
- homogeneização violenta com o anticoagulante.
- calor excessivo.

### **Anticoagulantes**

#### **EDTA (Etileno diamino tetra acetato de sódio ou de potássio)**

**Modo de ação:** reage através de seus dois radicais ácidos com cálcio plasmático, formando um quelato com os elementos alcalino-terrosos, tornando-se insolúvel.

**Uso:** Recomendado para a rotina hematológica porque não interfere na morfologia celular, preservando-a por até 24 horas quando refrigerado adequadamente. É pouco solúvel, e o sal de potássio é o mais solúvel e mais caro. A diluição é realizada a 10%, e toma-se 0,1ml de EDTA para 5ml de sangue.

#### **Fluoreto de sódio**

**Modo de ação:** quelante de cálcio, com a formação de sais insolúveis.



**Uso:** Como impede a glicólise sanguínea, realizada in vitro principalmente pelos eritrócitos, é indicado para determinação da glicose. Há produto comercial pronto para uso, na medida de 1 gota para cada 3ml de sangue.

### Heparina

**Modo de ação:** atividade como inibidor da trombina e tromboplastina

**Uso:** Alguns bioquímicos. Como interfere na coloração do esfregaço sanguíneo, não é recomendado para hemograma. A diluição é de 0,1ml de solução a 1% para não coagular 5,0ml de sangue. A heparina retarda a coagulação do sangue por apenas 8 horas.

### Citrato de sódio

**Modo de ação:** quelante de cálcio, com a formação de sais insolúveis.

**Uso:** Provas de coagulação (tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada). Seu emprego se faz em soluções 1,34 g%, na proporção de 10%, ou seja, 0,5ml para 4,5ml de sangue.

### Preparo do esfregaço e coloração

#### Esfregaço

- Preparar duas lâminas novas e desengorduradas, sendo uma com os cantos arredondados.
- Homogeneizar o sangue no frasco de colheita fechado, por inversão, e colocar com o capilar do micro-hematócrito, antes de fechá-lo, uma gota de sangue na lâmina.
- Colocar a outra lâmina (recortada) a frente da gota de sangue, num ângulo de 45°. Fazer um ligeiro movimento para trás até o sangue espalhar -se pela lâmina.
- Com um movimento uniforme, para frente, fazer esta lâmina deslizar sobre a outra. O sangue se estenderá por sobre a lâmina, formando o esfregaço (Figura 9).
- Agitar a lâmina até secar o esfregaço completamente e identificá-lo com lápis na borda mais espessa do esfregaço.

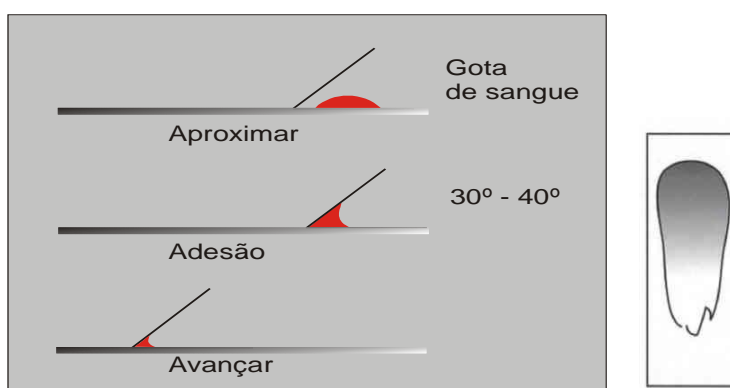


Figura 9. Elaboração correta do esfregaço de sangue.

## Corantes

### Leishman

- Colocar 20 gotas do corante e deixar agir por 3 minutos.
- Acrescentar 20 a 25 gotas de água destilada tamponada ( $\text{pH} \pm 7,2$ ).
- Deixar agir por 15 minutos.
- Lavar em água corrente e secar.

### Preparo

- Diluir 1,5 g de Eosina-Azul de Metileno segundo Leishmann em 1 litro de metanol.
- Colocar em banho-maria a  $37^\circ\text{C}$  por 24 horas. Acondicionar em frasco âmbar.
- Maturar o corante deixando-o em repouso por 1 semana, ao abrigo da luz.
- Corrigir o pH, se necessário, para 7,6
- Filtrar e usar.

### Panótico

Solução comercial pronta para uso com três corantes em série

### Determinação do número total de hemácias

- Tomar o frasco com sangue mais anticoagulante e homogeneizar
  - Com a pipeta de Thoma para glóbulos vermelhos aspirar o sangue até a marca 0,5
  - Limpar o sangue da parte externa da pipeta com gaze.
  - Diluir em seguida com solução fisiológica até a marca 101
  - Agitar, desprezar as primeiras gotas e encher a câmara de Neubauer por capilaridade.
  - Contar as hemácias de cinco quadrados médios, multiplicar o resultado por  $10.000/\mu\text{l}$
- Outras soluções diluentes que podem ser utilizadas em substituição à solução fisiológica para contagem de hemácias (Figura 10).

### Dilute de Gower (mais utilizado para ruminantes)

|                       |        |
|-----------------------|--------|
| Sulfato de sódio      | 12,5g  |
| Ácido acético glacial | 33,3ml |
| Água destilada q.s.p. | 200ml  |

### Dilute de Marcano

|                       |        |
|-----------------------|--------|
| Sulfato de sódio      | 50g    |
| Formol 40%            | 10ml   |
| Água destilada q.s.p. | 1000ml |

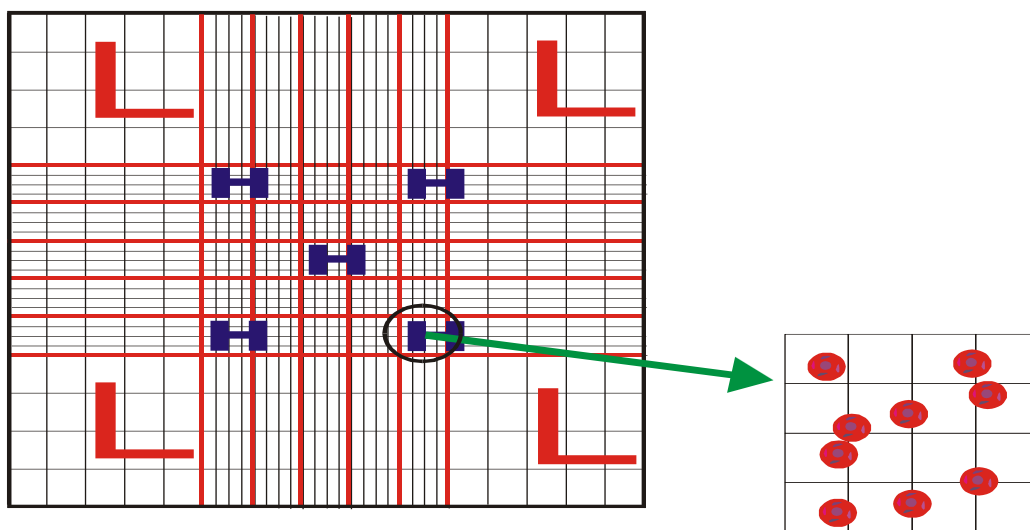


Figura 10. Esquema da câmara de Neubauer para contagem de hemácias.

### Cálculo

Área central:  $1\text{mm}^2$

Volume da área central:  $1/10\text{mm}^2$

Profundidade:  $1/10\text{mm}$

Volume de cada quadrado médio central:  $1/250\text{mm}^2$

Números de quadrados médios centrais contados: 5

Diluição da pipeta:  $1/200$

$$\text{Portanto: } \frac{5}{250} \times \frac{1}{200} = \frac{5}{50.000} = \frac{1}{10.000}$$

Ou seja, o fator é 10.000.

Nº total de hemácias contadas x 10.000 = nº total de hemácias/ $\mu\text{l}$

## Determinação de hemoglobina

### Método da cianometahemoglobina

#### Princípio

Diluição do sangue em solução contendo cianeto de potássio e ferrocianeto de potássio (Reativo de Drabkin), que convertem a hemoglobina em cianometahemoglobina.

#### Solução de Drabkin

- Ferrocianeto de Potássio 20 mg
- Cianeto de Potássio 50 mg

- Água (destilada ou deionizada) 1000 ml

- Tomar o frasco com sangue mais anticoagulante e homogeneizar.
  - Preencher pipeta de Sahli com 20  $\mu\text{l}$  do sangue.
  - Limpar o sangue da parte externa da pipeta com gaze, adicionar a 4 ml de reativo de Drabkin e agitar por inversão.
  - Repousar por um mínimo de 10 minutos à temperatura ambiente.
  - Ler em espectrofotômetro a 546 nanômetros, usando-se tubos específicos.
- Obtém-se o resultado visualmente no aparelho na unidade de g %.

## Determinação do volume globular pela técnica do micro-hematócrito

#### Princípio

Sedimentação dos elementos figurados do sangue, obtendo-se a proporção destes elementos em relação ao plasma.

- Tomar o frasco com sangue mais anticoagulante e homogeneizar
- Pegar o tubo capilar (75 mm x 1 mm) e por capilaridade deixar o sangue preencher 2/3 do tubo.
- Fechar a extremidade seca em chama de bico de Bunsen, girando-se o tubo.
- Centrifugar o tubo a 1.200 rpm (aproximadamente 1580 G) por 5 minutos.
- Ler em tabela que acompanha centrífuga, obtendo-se o resultado em %.

## Reticulócitos pelo método supravital com Azul de Cresil Brilhante

- Amostra de sangue com anticoagulante EDTA, homogeneizar.
- Colocar em tubo de hemólise 0,5ml de sangue.
- Acrescentar ao tubo 0,5ml corante Azul de Cresil Brilhante ou Novo Azul de Metileno.
- Homogeneizar a solução.
- Levar ao banho-maria por 15 minutos (37°C).
- Retirar o tubo do banho-maria, agitar e fazer o esfregaço em lâmina.
- Fixar em lâmina, contar os reticulócitos em no mínimo dez campos e realizar a leitura em % dos demais eritrócitos.
- Pode-se contra-corar a lâmina com corantes de rotina, se não obter uma boa visualização dos reticulócitos.

## LEUCÓCITOS

Os leucócitos ou glóbulos brancos são células produzidas na medula óssea que fazem parte do sangue juntamente com os eritrócitos e as plaquetas.

### Origem

Os leucócitos são produzidos na medula óssea a partir de uma célula pluripotencial, também chamada célula tronco ou “stem cell” que vai repopular a medula óssea. A capacidade proliferativa da célula tronco depende de estímulos apropriados de hormônios estimuladores da leucopoiese.

### Classificação dos leucócitos

Os leucócitos ou glóbulos brancos são classificados como polimorfonucleares e mononucleares. Os leucócitos polimorfonucleares têm núcleo condensado e segmentado. São células comumente referidas como granulócitos porque elas contêm grande número de grânulos citoplasmáticos que são lisossomas, contendo enzimas hidrolíticas, agentes antibacterianos e outros compostos. Os grânulos presentes no citoplasma dos neutrófilos são grânulos primários e secundários. Os grânulos primários são sintetizados no citoplasma do mieloblasto ou no pró-mielócito precoce. Os grânulos secundários aparecem no estágio de mielócitos. Três tipos de granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) são identificados pelas características de coloração de seus grânulos secundários.

Os leucócitos mononucleares no sangue são classificados como linfócitos e monócitos. Estas células não são destituídas de grânulos, mas certamente têm menor número de grânulos citoplasmáticos que os granulócitos.

### Granulopoiese e granulocinética

#### Granulopoiese

A granulopoiese ou granulocitopoiese envolve a produção de neutrófilos, eosinófilos e basófilos, através de um processo ordenado. O tradicional conceito de granulopoiese determina a formação de neutrófilos, eosinófilos e basófilos com origem em um precursor celular, o pró-mielócito. Recentes estudos, no entanto, têm demonstrado que cada um destes três tipos de granulócitos possui um pró-mielócito jovem específico e com características ultra-estruturais e citoquímicas próprias.

Na medula óssea, sob estímulos apropriados, a célula pluripotencial origina células progenitoras confinadas que produzem os vários granulócitos. Esta célula com potencial de produção de neutrófilos e monócitos é conhecida como Unidade Formadora de Colônia

Granulocítica-Monocítica (UFC-GM), pois em seu estágio inicial é bipotencial. Em seguida, sob estímulo apropriado, a UFC-GM diferencia-se em células unipotenciais, UFC-G e UFC-M. Similarmente há também a existência de progenitores celulares distintos para eosinófilos (UFC-Eos) e basófilos (UFC-Bas).

As células unipotenciais são morfológicamente identificáveis e são precursores conhecidos como mieloblastos, que dividem-se, diferenciam-se e maturam-se nos granulócitos sanguíneos específicos.

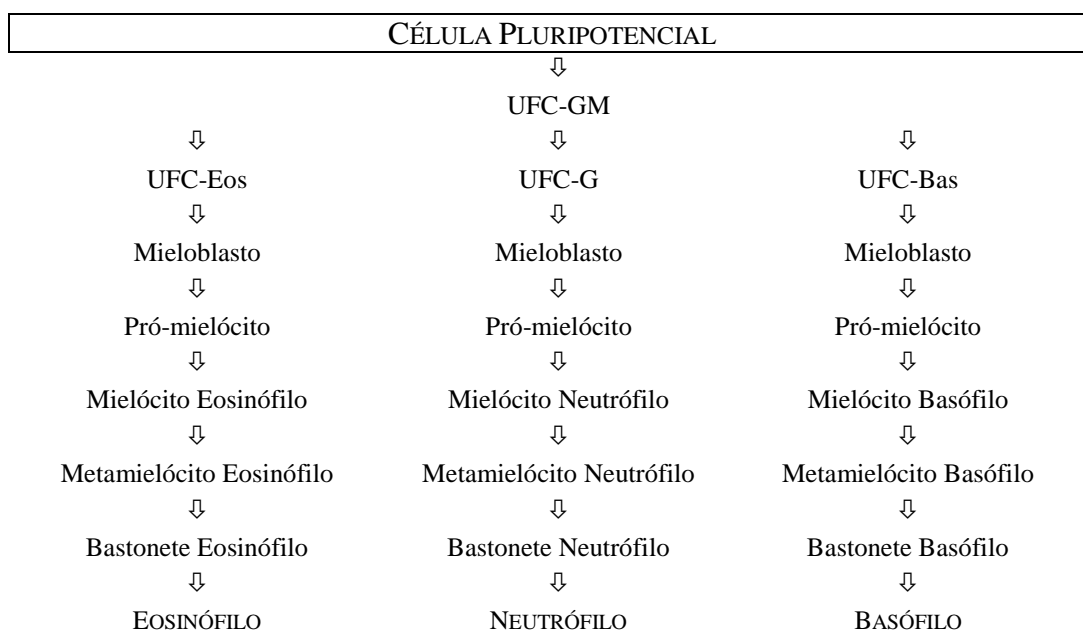


Figura 10. Esquema da granulopoiese.

### Regulação da granulopoiese

O número de leucócitos específicos que adentram e deixam o sangue é mantido constante mediante diversos mecanismos e condições (Tabela 11).

### Granulocinética

É a informação quantitativa sobre a produção de granulócitos na medula óssea e suas fases intravascular e tecidual. Em estudos dos granulócitos, no sangue e medula óssea, marcados com radioisótopos, foi possível determinar os compartimentos dos neutrófilos em humanos. Também alguns estudos foram realizados em animais.

Tabela 11. Estimuladores e inibidores da granulopoiese.

| Processo      | Estimuladores   | Inibidores  |
|---------------|---|---|
| Granulopoiese | UFC-GM, UFC-G<br>Granulopoietina<br>Linfocinas (IL-3)<br>Eosinofilopoietina<br>Basofilopoietina | Fator Inibidor de Colônia<br>Lactoferrina, Transferrinas<br>Linfocinas PGE1 e PGE2<br>Fator esplênico<br>Ferro em diferentes quantias |
| Linfopoiese   | Interleucina - Interferon   | Corticóide  |

### Compartimentos funcionais de granulócitos na medula óssea

Três compartimentos funcionais de granulócitos são reconhecidos na medula óssea

1. Compartimento proliferativo ou mitótico, consistindo de mieloblastos, pró-mielócitos e mielócitos;
2. Compartimento de maturação ou pós-mitótico, consistindo de metamielócitos e bastonetes;
3. Compartimento de estoque ou reserva, primariamente composto de neutrófilos maturo e alguns bastonetes.

Um precursor neutrofílico no compartimento de multiplicação geralmente sofre 4 mitoses, uma no estágio de mieloblasto, outra no de pró-mielócito e duas na fase de mielócito. Sob certas circunstâncias, a mitose pode se manter ou mitoses adicionais podem ocorrer, numa taxa de 3 a 7 mitoses (Tabela 12).

Tabela 12. Principais compartimentos de granulócitos.

| Compartimento de Granulócitos |               |               |                            |                        |
|-------------------------------|---------------|---------------|----------------------------|------------------------|
| Medula Óssea (5 a 7 dias)     |               |               | Circulação (24 a 48 horas) |                        |
|                               |               | Reserva       |                            | Tecido                 |
| Multiplicação                 | Maturação     | Armazenamento |                            |                        |
| Mieloblasto                   | Metamielócito | Bastonete     | Marginal                   |                        |
| ↓                             | ↓             | ↓             | ↕                          |                        |
| Pró-mielócito                 | Bastonete     | Segmentado    | Circulante                 |                        |
| ↓                             |               |               |                            | Tecidual (5 a 6 horas) |
| Mielócito                     |               |               |                            |                        |

### Neutrófilos

#### Liberação de neutrófilos da medula óssea para o sangue

Neutrófilos maduros normalmente emergem à corrente sanguínea em torno de 3 a 5 dias no cão, 4 a 6 dias no bovino e 7-11 dias no homem. O compartimento de reserva é geralmente

extenso e pode suprir de neutrófilos o cão por 4 a 8 dias. Estas células do compartimento de reserva podem ser rapidamente mobilizadas na demanda corpórea, e a depleção dos estoques reflete-se numa neutropenia e desvio à esquerda da medula óssea e provavelmente também no sangue periférico. A expansão do compartimento de multiplicação com acréscimo da granulopoiese efetiva ocorre em resposta ao consumo, gerando uma neutrofilia; no entanto este fato leva em torno de 3 a 4 dias no cão, e um pouco mais nos bovinos.

#### **Fatores que influenciam a liberação de neutrófilos**

A liberação de neutrófilos no sangue é influenciada por vários fatores, incluindo micro-ambiente medular, localização anatômica, propriedades celulares como a deformabilidade, fluxo nos sinusóides medulares, fatores de liberação celular e fatores neuro-hormonais. Os neutrófilos maduros são os primeiros a migrar através das junções intercelulares dos sinusóides medulares, pois possui maior capacidade de deformabilidade e motilidade.

#### **Compartimentos funcionais de neutrófilos**

O compartimento marginal é primariamente localizado no baço e pulmões, e consiste de leucócitos aderidos transitoriamente na parede de capilares e pequenos vasos sanguíneos. A capacidade deste compartimento varia com a espécie, sendo que o cão, bovino e equino possui no marginal metade dos neutrófilos vasculares, enquanto que no gato esta reserva chega a 2,5 vezes o compartimento circulante. Bezerros de 8 a 16 dias de idade têm um maior compartimento de granulócitos que bovinos de 6 meses a um ano de idade. Os neutrófilos no sangue permanecem em um equilíbrio dinâmico. O compartimento marginal pode ser mobilizado rapidamente sob a influência de epinefrina e corticóides endógenos liberados por estímulos fisiológicos ou patológicos como estresse, exercício, traumas e infecções.

#### **Fatores envolvidos na marginação dos neutrófilos**

Os fatores que estão envolvidos na marginação dos neutrófilos incluem: C5a, prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) produzidas pelas células endoteliais das paredes dos vasos e, com maior importância, alguns componentes dos grânulos dos neutrófilos, incluindo moléculas de adesão dos leucócitos. A adrenalina diminui a aderência dos neutrófilos por aumentar a produção de AMP cíclico.

#### **Expansão de vida intravascular dos neutrófilos**

O compartimento circulante é composto dos neutrófilos que livremente circulam pelo sangue, estes possuindo uma meia vida em torno de 7 a 14 horas. Os neutrófilos aleatoriamente saem da circulação para os tecidos e cavidades corpóreas, normalmente sem retorno, onde

podem permanecer por 2 a 3 dias fisiologicamente ou menos quando em processos patológicos. A exceção é para os neutrófilos leucêmicos.

### **Função dos neutrófilos**

A função primária dos neutrófilos é fagocitose e morte de microorganismos. Os neutrófilos também podem causar dano tecidual e exercer efeito citotóxico, como atividade parasiticida mediada por anticorpo e atividade tumoricida. A liberação de substâncias bioativas ou sua produção pelos neutrófilos tem sido reconhecida, como exemplo: liberação de pirógenos endógenos e moléculas de adesão. Os neutrófilos ativados secretam citocinas como o fator de necrose tumoral (TNF), FEC-G e FEC-M.

O papel do neutrófilo para a manutenção da saúde pode ser melhor entendido pela sequência de eventos que podem ocorrer após uma infecção local com estafilococos ou coliformes. Inicialmente as toxinas bacterianas elaboradas localmente e substâncias químicas, liberadas dos tecidos lesados, aumentam a permeabilidade vascular, principalmente à liberação de proteínas do plasma e acumulação de leucócitos, predominantemente neutrófilos, na área inflamada. Subseqüentemente, a liberação de substâncias químicas dos neutrófilos danificados ou mortos, assim como a geração de componentes complementos ativados, acentua o processo inflamatório. Com o tempo, a atividade fagocítica e bactericida dos neutrófilos e monócitos infiltrantes, a ação de anticorpos e componente complemento ativado controlam o crescimento bacteriano.

Vários passos estão envolvidos na resposta funcional dos neutrófilos para o controle da infecção. Alguns eventos geralmente ocorrem quando os monócitos atuam similarmente. Estes passos incluem adesão, quimiotaxia, opsonização, fagocitose, degranulação, ação microbicida e exocitose. As funções características dos neutrófilos são:

**Aderência:** extravasamento de neutrófilos (diapedese) que se inicia logo após a infecção microbiana e é normalmente seguida por atração quimiotática até o microorganismo e sua destruição fagocítica. Durante a diapedese, os neutrófilos circulantes primeiro aderem-se ou margeiam ao redor da superfície endotelial venular alterada, emigrando através das junções intracelulares, pela membrana basal, até penetrar no tecido.

A adesão de neutrófilos ao endotélio vascular e extravasamento são muito influenciados pelas moléculas de adesão da superfície da célula.

**Quimiotaxia:** é definida como um movimento direcionado dos leucócitos a um alvo em particular (bactérias principalmente), sob influência do gradiente de concentração de substâncias quimiotáticas no local. A quimiotaxia é um processo ativo e envolve a participação de componentes citoesqueléticos e outras proteínas de mobilidade, como a miosina.



**Fagocitose e Degranulação:** a fagocitose é um processo ativo de ingestão de uma partícula microscópica pelo leucócito por meio da extensão de pseudópodes citoplasmáticos ao redor do alvo. A pinocitose refere-se a internalização da vesícula fluída por células específicas. Células imaturas como bastonetes e metamielócitos possuem menor capacidade fagocitária, enquanto que mielócitos e precursores imaturos são geralmente afuncionais na defesa do hospedeiro.

A fagocitose é influenciada por vários fatores físicos e químicos, tanto do fagócito como da partícula, e também pelas condições micro-ambientais. À aderência de opsoninas na superfície da bactéria e outras partículas estranhas alteram as suas características superficiais e atuam como receptores para a fagocitose.

**Atividade antimicrobiana:** grânulos lisossomais no interior dos vacúolos fagocíticos fundem-se com a membrana vacuolar para formar um fagolisossomo e liberar seus componentes para matar e digerir a bactéria (Tabela 13).

**Exocitose:** refere-se à descarga extracelular de conteúdo celular através da fusão dos vacúolos fagocíticos com a membrana celular. Bactérias mortas, produtos de bactérias degradadas ou grânulos do neutrófilo e seus componentes podem ser exocitados.

Tabela 13. Mecanismos microbicidas dos neutrófilos.

| <b>Principais mecanismos microbicidas</b> |  |   |
|---|--|---|
| Oxigênio dependente                       | Mieloperoxidase independente   | Oxigênio independente   |
| Mieloperoxidase                           | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub><br>Ânion superóxido<br>Radical hidroxila | Acidez fagossomal<br>Lisozima / lactoferrina<br>Proteases / Fosfol.A2 |

### **Anormalidades funcionais e morfológicas dos neutrófilos**

Marcadas mudanças qualitativas e quantitativas nos neutrófilos podem predispor à infecção. Alguns fatores contribuem para a diminuição da resistência às infecções, o qual podem ser fatais, como: defeito de aderência, migração, quimiotaxia, degranulação, ingestão e atividade antimicrobiana.

### **Anormalidades morfológica**

As anormalidades morfológicas nos neutrófilos geralmente incluem aberrações de maturação, tamanho da célula, forma nuclear, características dos grânulos e citoplasma. Estas anormalidades são chamadas como mudanças tóxicas. São vistas em pacientes com severa infecção bacteriana, septicemia, condição inflamatória aguda e extensiva destruição tecidual. Os efeitos tóxicos durante a granulopoiese são refletidos como basofilia citoplasmática, presença de grânulos tóxicos e corpúsculo de Döhle, núcleo hipersegmentado e a produção de neutrófilos gigantes e bizarros. A basofilia é o resultado da retenção de ribossomos e RER. Os grânulos

tóxicos tornam-se visíveis nos neutrófilos mielócitos tóxicos e entre os neutrófilos maduros pela retenção do ácido mucopolissacarídeo.

Corpúsculo de Döhle são inclusões citoplasmáticas que resultam da agregação lamelar do RER. São mais comuns em gatos do que em outras espécies animais.

## **Eosinófilos**

### **Local de produção**

O maior sítio de produção de eosinófilos é a medula óssea, embora também ocorra em menor grau em outros tecidos como baço, timo e linfonodos cervicais. Em geral, os eosinófilos são produzidos em torno de 2 a 6 dias e adentram no sangue periférico aproximadamente 2 dias após. Sua meia vida intravascular é de 4 a 6 horas em humanos e menos de 1 hora nos cães; a seguir entram tecidualmente e normalmente não retornam para a circulação sanguínea.

A entrada de eosinófilos para os tecidos é influenciada por quimiotáticos locais e específicos. Várias substâncias são quimiotáticas para eosinófilos, incluindo complexos antígeno-anticorpo envolvendo primariamente IgE, produtos de mastócitos como histamina e fator quimiotático a eosinófilos (FQE), componentes da ativação do complemento (C5a, C567), metabólitos do ácido aracdônico, linfocinas, fibrinogênio e fibrina, e alguns produtos resultantes do dano tecidual.

Os eosinófilos têm participação na regulação alérgica e resposta aguda inflamatória e pode induzir dano tecidual. Podem ainda participar na coagulação e fibrinólise através da ativação do fator XII e plasminogênio.

### **Principais funções dos eosinófilos**

- Fagocitose e atividade bactericida
- Atividade parasiticida
- Regulação das respostas alérgicas e inflamatórias
- Injúria tecidual

### **Regulação da resposta alérgica e inflamatória**

O papel regulatório dos eosinófilos na resposta alérgica tem sido sugerido pelas seguintes observações:

- Os eosinófilos podem fagocitar complexos imunes e grânulos dos mastócitos;
- As prostaglandinas (PGE<sub>1</sub> e PGE<sub>2</sub>) e zinco dos eosinófilos inibem a liberação de histamina, serotonina e FAP dos mastócitos;
- Os eosinófilos contém fatores que inibem o fornecimento de histamina pelos mastócitos;
- A histaminase dos eosinófilos inativa a histamina livre;
- A fosfolipase C dos eosinófilos inibe a liberação FAP pelos mastócitos.

O papel regulatório dos eosinófilos na inflamação aguda tem sido inferido às propriedades anti-histamínica e anti-inflamatória dos eosinófilos. Além disso, os grânulos dos eosinófilos contêm substâncias que inibem as propriedades de indução do edema como a serotonina e bradicinina.

Tabela 14. Principais funções dos grânulos dos eosinófilos.

| <b>Tipo de grânulo</b>           | <b>Função</b>   |
|----------------------------------|---|
| Proteínas catiônicas (PBM e PCE) | Neutralizam a heparina, destruição de parasitas, citotoxicidade. Promovem coagulação e fibrinólise. |
| Fator de Hageman                 | Ativa a sequência de coagulação.  |
| Histaminase                      | Inativa a histamina.  |
| Quinase                          | Regula a produção das cininas e atividade destrutiva.   |
| Enzimas lisossomais              | Ação proteolítica.  |
| Peroxidase                       | Parasiticida, antibacteriano, atividade citotóxica  |
| Fagocitose                       | Engloba microorganismos e outras partículas   |
| Fosfolipase C                    | Degrada fator de ativação plaquetária dos mastócitos  |
| Ativador de plasminogênio        | Ativa fibrinólise   |
| Prostaglandinas PGE1 e 2         | Inibe a ressíntese de histamina   |
| Zinco                            | Inibe a liberação de histamina, serotonina e Fator de ativação plaquetária dos mastócitos           |

### **Atividade parasiticida dos eosinófilos**

As ações parasiticidas dos eosinófilos ocorrem por intermédio da interação com os mastócitos e os linfócitos que estão representados na figura 11.

A infecção pelo parasita estimula a resposta humoral e celular. Os anticorpos IgG específicos produzidos pode se ligar ao parasita, fixar complemento, iniciar a reação inflamatória e provavelmente infligir algum dano ao parasita. Enquanto, os anticorpos IgE específicos irão ligar-se aos mastócitos tecidual e causar a degranulação e liberação de substâncias bioativas como histamina, fator de anafilaxia quimiotático para eosinófilos (FQE-A) e fator de ativação plaquetária (FAP). As linfocinas (IL-3, IL5, FEC-Eos, FECrescimento-Eos.), produzidos pelos linfócitos T ativados pelos antígenos dos parasitas, podem estimular a produção e liberação de eosinófilos, sendo refletido no sangue como eosinofilia.

O influxo de eosinófilo da medula para o sangue é também influenciado pelos níveis circulantes de histamina, que resulta da degranulação dos mastócitos nos tecidos. A eosinofilia tecidual resulta da resposta a quimioatraentes como a histamina, componente complemento ativado que são gerados no local da infecção parasitária.

## Monócitos

### Cinética dos monócitos

O monócito é um descendente da célula progenitora bipotencial, a UFC - GM, que pode produzir tanto neutrófilos como monócitos. A diferenciação de UFC - GM em UFC - M e a proliferação dos precursores monocíticos (monoblastos e pró-monócitos) em monócitos são influenciados por um fator específico chamado fator estimulador de colônia monocítica (FEC - M) (Figura 12).

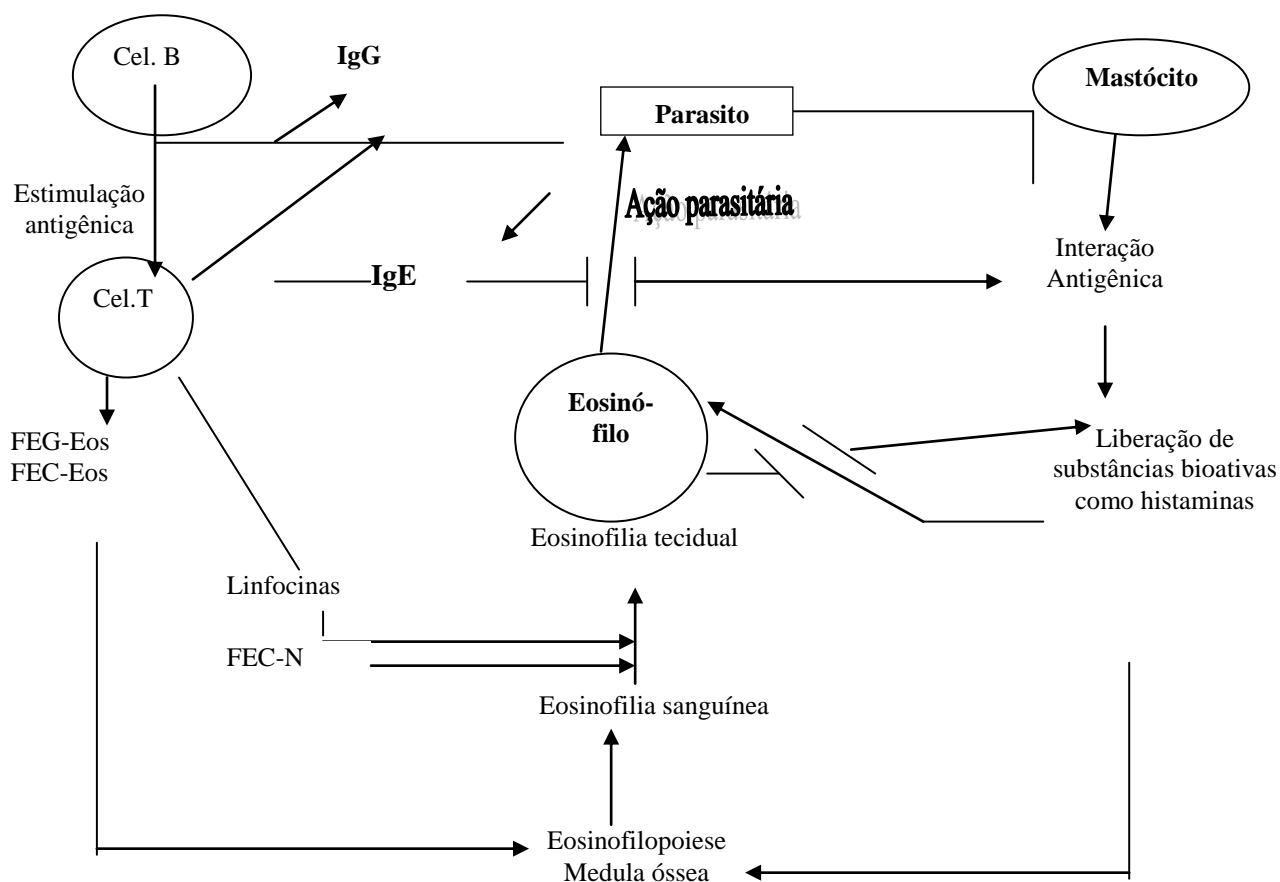


Figura 11. Esquema da ação parasiticida dos eosinófilos (Jain, 1993).

O monoblasto divide-se uma vez e o pró-monócito uma ou duas, mas o monócito normalmente não se divide na medula óssea. Os monócitos aparecem em pequena quantidade na medula óssea, mas os monoblastos e pró-monócitos são raros de se observar. O tempo médio de liberação dos monócitos na medula óssea é em torno de 2 a 2,5 dias. Não há reserva de monócitos na medula óssea, como para os neutrófilos; no entanto monócitos jovens são rapidamente liberados, num período de até 6 horas. Os monócitos são distribuídos no sistema vascular entre os compartimentos circulatório e marginal na proporção de 1 : 3,5. A meia vida

de sobrevivência na circulação sanguínea é estimada em torno de 8 a 71 horas. Os monócitos geralmente deixam o sangue para adentrar aos tecidos.

Os macrófagos teciduais são originados dos monócitos, mas são mais numerosos que os monócitos circulantes; aproximadamente uma proporção de 50:1. Os monócitos migram para os tecidos através de regiões interendoteliais das paredes vasculares; no entanto a demanda é mais suprida pela proliferação local de macrófagos que se dividem que pelos monócitos sanguíneos.

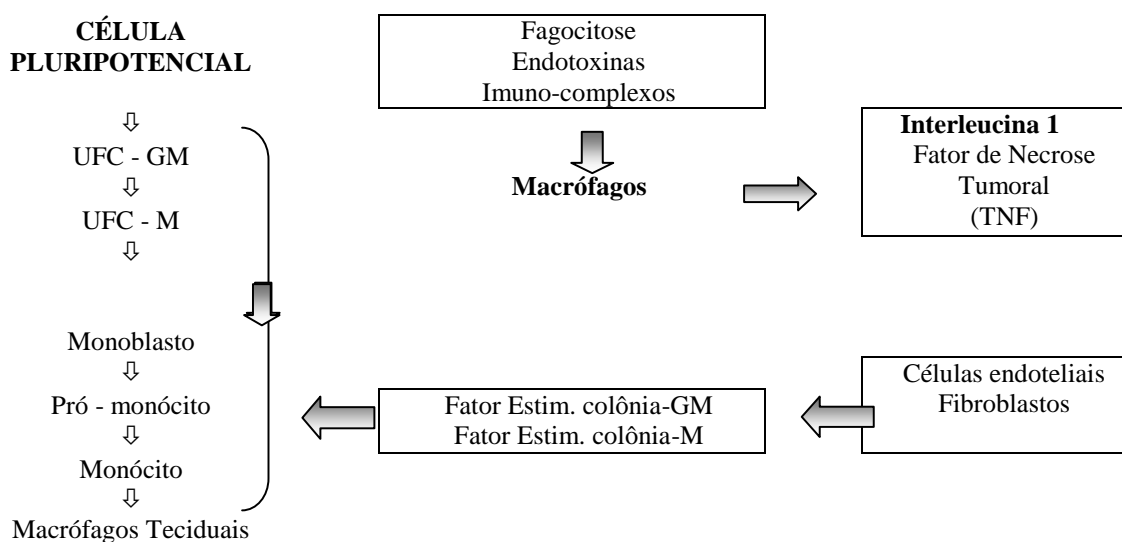


Figura 12. Esquema da formação de monócitos.

### Principais produtos secretados pelo Sistema Fagocítico Mononuclear

- Componentes do sistema complemento
- Substâncias citotóxicas e antimicrobianas
- Produtos do metabolismo do ácido aracdônico
- Enzimas lisossomais
- Fatores moduladores de outras células incluindo interleucinas
- Fatores fibrinolíticos e pró-coagulantes
- Outros fatores

### Funções dos monócitos

- Transformação de monócitos em células efetoras teciduais
- Ação fagocítica e microbicida
- Regulação da resposta imune
- Remoção fagocitária de debris e outros restos celulares
- Secreção de monocinas, enzimas lisossomais, e outros
- Efeito citotóxico contra células tumorais e eritrócitos
- Regulação da hematopoiese: granulo, mono, linfo e eritro
- Regulação da inflamação e reparo tecidual
- Coagulação e fibrinólise

## **Linfócitos**

### **Linfopoiese e cinética linfocitária**

Os linfócitos representam um grupo heterogêneo de células tanto morfológica como funcionalmente. Eles são a base no desencadeamento e execução da resposta imune. Os linfócitos são produzidos na medula óssea, nos órgãos linfóides como o timo, linfonodos e baço, além dos tecidos linfóides viscerais, que incluem as placas de Peyer, tonsilas e apêndices. A medula óssea nos mamíferos é o maior órgão linfopoietico; no entanto exceto no suprimento de precursores linfóides para colonização dos órgãos linfóides periféricos, a linfopoiese na medula óssea e timo é ineficaz.

Durante a vida intra-uterina à célula tronco pluripotencial indiferenciada origina-se primeiro do saco vitelino e depois do fígado, baço e medula óssea fetais. Sob influência de apropriado micro-ambiente e outros estímulos, estes progenitores linfóides originados na medula óssea continuamente colonizam os órgãos linfóides primários - Bursa de Fabrícus nas aves ou medula óssea nos mamíferos, e o timo. Nestes sítios duas populações funcionais e fenotipicamente distintas de precursores linfocíticos desenvolvem-se. Estas células então migram para os órgãos linfóides secundários ou periféricos (como linfonodos e baço), onde se tornam preferencialmente localizadas em porções típicas e dão início, em resposta a estímulo antigênico apropriado, à proliferação de subséries imunocompetentes de linfócitos T ou B.

Os linfócitos que suprem o sangue são produzidos de maneira passo a passo, primariamente nos linfonodos e, em extensão limitada, em outros tecidos linfóides. Linfoblastos, pró-linfócitos e linfócitos podem ser identificados morfológicamente, mas sua linhagem T e B não. O tempo de produção dos linfócitos é estimada entre 6 e 8 horas, e em alguns casos podem levar menos de 2 horas. O número de mitoses envolvido varia com o tipo celular (6 a 8 h para células T e 2 a 3 h para B). A linfopoiese (Figura 13) é estimulada por exposição antigênica e deprimida por corticóides, hormônios sexuais e má nutrição.

### **Subpopulações de linfócitos**

A população total de células B e T no sangue da maioria das espécies animais está em torno de 70% de células T, 20% de células B e o restante provavelmente composto por células “nulas”, de função e origem desconhecidas. Dentre os tecidos linfóides, as células T predominam no timo, linfonodos e ducto linfático torácico; as células B predominam na medula óssea e baço. No sangue e vários tecidos a maior parte das células T são de vida longa, e a maioria dos linfócitos B são de vida curta; as células T e B de memória são de vida longa. A média de meia vida dos linfócitos humanos de vida longa é estimada em 4,3 anos e em torno de

1% sobrevivem até 20 anos. A sobrevivência de linfócitos de vida curta se situa entre poucas horas a 5 dias.

### **Recirculação de linfócitos**

Em contraste com os granulócitos, em torno de 70% dos linfócitos do sangue periférico que saem através do tecido retornam ao sistema vascular para recirculação. Esta propriedade dos linfócitos torna difícil e imprecisa a estimativa da meia vida dos linfócitos. A população recirculante demora em torno de 15 a 48 horas para recircular e consiste primariamente de linfócitos T e linfócitos B, exceto os de memória que são considerados não circulantes.

O fenômeno de recirculação é de suma importância biológica porque proporciona um mecanismo de distribuição generalizada de células linfóides ocupadas com a resposta imune sistêmica. Como resultado, um grande número de linfócitos podem ser expostos a um antígeno depositado localmente no tecido. Estas células antígenicamente expostas podem ser transportadas por vários lugares no corpo para propagar e montar uma vigorosa resposta imune.

Os linfócitos recirculam do baço, timo e medula óssea para o sangue periférico daí vão aos tecidos, dos tecidos à linfa, linfonodos e assim sucessivamente.

### **Funções**

Os linfócitos T e B exercem diferentes funções e possuem receptores de membrana para o reconhecimento de antígeno. Existe uma terceira população de linfócitos que não expressam receptores de antígenos em suas membranas, as células exterminadoras naturais (Natural Killer), são derivadas da medula óssea e são funcionalmente distintas das células T e B pela sua habilidade de lisar certas linhagens de células tumorais sem prévia sensibilização. Do ponto de vista morfológico estas células são linfócitos grandes granulares. Estes linfócitos apresentam grânulos no seu citoplasma que constituem os lisossomas primários e aparelho de Golgi bem desenvolvidos.

### **Principais funções linfocitárias**

- Imunidade humoral
- Imunidade celular
- Regulação imune
- Atividade citotóxica
- Vigilância imune e Secreção de linfocinas

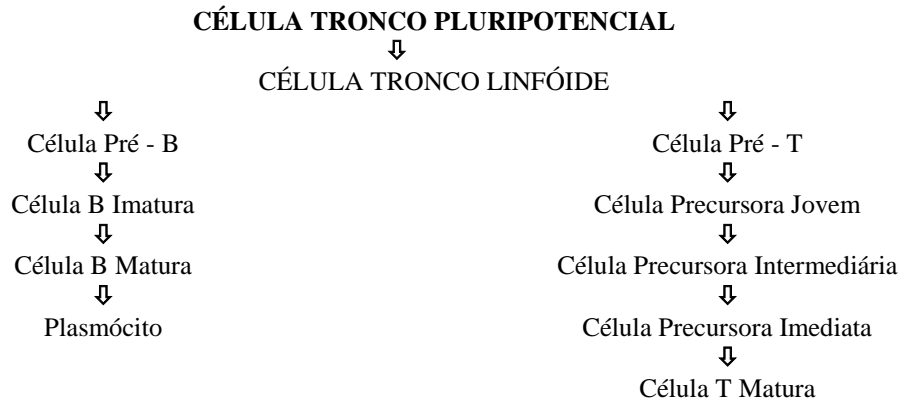


Figura 13. Esquema da linfopoiese.

### Basófilos

São células pouco estudadas porque são raras no sangue e medula óssea. Os basófilos são freqüentemente comparados com os mastócitos por causa de algumas similaridades morfológicas e funcionais. A produção dos basófilos é na medula óssea semelhante aos demais granulócitos, no entanto os mastócitos são produzidos de células mesenquimais indiferenciadas no tecido conectivo da medula óssea.

Os basófilos e os mastócitos contêm várias substâncias de importâncias biológicas, e podem sintetizar inúmeras substâncias imunológicas e não imunológicas. A composição dos grânulos varia entre espécies. Seus grânulos são particularmente ricos em histamina, heparina e em algumas espécies serotonina. Quando estimulado antígenoicamente sintetiza importantes fatores como Fator ativador plaquetário (FAP), substâncias de reação à anafilaxia (SRA) e tromboxano  $A_2$  ( $TxA_2$ ). Os mastócitos contêm um fator chamado Fator quimiotático eosinofílico de anafilaxia (FQE-A) e os basófilos sintetiza-os na estimulação. A basofilia e eosinofilia algumas vezes ocorrem simultaneamente, devido a interação dos dois tipos de células.

### Interpretação dos parâmetros leucocitários

A interpretação dos parâmetros leucocitários requer um conhecimento dos fatores que podem influenciar os valores hematológicos. Informações sobre a coleta da amostra, morfologia normal das células, características espécie específicas e variações fisiológicas são necessárias para o reconhecimento de anormalidades hematológicas. A história e o exame clínico do paciente complementam os resultados laboratoriais para o diagnóstico das doenças.

A contagem diferencial e total de leucócitos, o qual compreendem o leucograma, são de ajuda valiosa na avaliação hematológica da resposta do hospedeiro a infecção bacteriana e no diagnóstico de leucemias e outras doenças. Na interpretação do leucograma é necessário conhecer não somente a contagem total e diferencial dos leucócitos, mas reconhecer que,



mudanças morfológicas pertinentes aos leucócitos e informações sobre outros componentes sanguíneos devem ser obtidos, como proteína plasmática total, concentração de fibrinogênio. Também são importantes informações sobre o eritrograma, a contagem de reticulócitos e células nucleadas.

### **Fibrinogênio**

O fibrinogênio é uma proteína de fase aguda produzida no fígado. Nos processos inflamatórios de várias causas, a concentração do fibrogênio pode elevar-se entre 3-4 dias e permanecer alto por vários dias ou semanas como nas doenças crônicas. Geralmente a resposta do fibrinogênio inicia-se com a resposta dos leucócitos, persistindo por mais tempo que os leucócitos.

Em bovinos o fibrinogênio é um importante parâmetro a ser avaliado, porque pode ser a única indicação de uma resposta inflamatória ativa. Nas doenças que ocorrem excessivo depósito de fibrinogênio tecidual sua concentração no sangue pode não estar elevada, ficando entre os valores de referência ou até mesmo abaixo destes valores.

### **Contagem total de leucócitos**

A contagem total de leucócitos varia com a espécie animal e também é influenciada pela idade. Esta é alta ao nascimento e diminui gradualmente para atingir valores de adulto entre 2 a 12 meses de idade. A contagem total de leucócitos é avaliada pelo aumento, acima dos valores de referência, como leucocitose ou diminuição leucopenia. Os sufixos citose e filia denotam um aumento na contagem de leucócitos, entretanto, penia indica uma diminuição comparada com os valores de referência. As leucocitoses são muito mais comuns que as leucopenias e não são um sinal de mau prognóstico como a leucopenia.

### **Tipos de leucocitose**

- Fisiológica
- Reativa
- Proliferativa (autônoma)

As mudanças na contagem total de leucócitos podem envolver anormalidades de produção, liberação, distribuição intravascular, vida média e ingresso tecidual de vários leucócitos. Por exemplo: os neutrófilos circulantes estão num equilíbrio dinâmico com os neutrófilos no compartimento marginal e reserva da medula óssea. Uma demanda funcional imediata de neutrófilos é feita primeiro pela mobilização das células do pool marginal e circulante, seguida pela reserva da medula óssea e finalmente pelo aumento da granulopoiese e liberação acelerada. O aumento de liberação de células é observado no sangue periférico como um desvio à

esquerda. Assim o tamanho dos compartimentos marginal, circulante, reserva e capacidade proliferativa da medula óssea, são determinantes importantes na resposta dos leucócitos às doenças.

### **Leucocitose fisiológica**

A leucocitose fisiológica ocorre como uma resposta a adrenalina, no qual o compartimento marginal de neutrófilos e/ou linfócitos são mobilizados para a circulação geral, aumentando a contagem total de leucócitos e o número de neutrófilo absoluto e/ou linfócitos. Assim uma neutrofilia ou linfocitose transitória, ou ambas, podem se manifestar. Esta condição é comum em animais jovens e geralmente é desencadeada por distúrbios emocional e físico. Raramente o número de monócitos e eosinófilos aumentam.

Leucocitose induzida por corticosteróide ou estresse – a leucocitose pode ocorrer em condição de saúde ou nas doenças, sendo assim ela pode ser: fisiológica ou patológica. A liberação de glicocorticóide endógeno ou administrado terapêuticamente causa consideráveis mudanças hematológicas. Tipicamente produz leucocitose causada por neutrofilia, usualmente sem desvio à esquerda, linfopenia e eosinopenia. Monocitose ocorre no cão. A neutrofilia ocorre pela mobilização dos neutrófilos segmentados do compartimento de reserva da medula óssea e pela diminuição da diapedese das células para os tecidos. A linfopenia ocorre principalmente pela linfólise dos linfócitos T sensíveis a esteróides no sangue e tecido linfóide, ou pela marginação e seqüestro dos linfócitos nos locais extravasculares. Eosinopenia ocorre principalmente pela diminuição da saída destas células da medula óssea, devido à interferência com o efeito quimiotático da histamina nos eosinófilos. A causa de monocitose permanece desconhecida. A resposta dos basófilos, ao corticóide, é similar a dos eosinófilos, mas não é reconhecida usualmente, porque os basófilos são raros no sangue.

### **Leucocitose reativa**

A leucocitose reativa ocorre em resposta às doenças. Certas doenças podem induzir uma resposta específica, mas usualmente um padrão geral de resposta dos leucócitos é evidente, indiferente da doença. A leucocitose reativa pode ocorrer com ou sem desvio à esquerda. O grau de leucocitose varia com as espécies e é usualmente relativa para a relação neutrófilos: linfócitos (N:L). Animais com alta relação N:L, como o cão e o gato, apresentam uma maior resposta que animais com baixa relação N:L como eqüinos e bovinos.

Uma resposta induzida por corticosteróide ou, menos comumente, por adrenalina pode ocorrer simultaneamente com uma leucocitose reativa. Diferenciação da leucocitose reativa da leucocitose por corticosteróide ou epinefrina. A leucocitose é considerada reativa quando um ou mais dos seguintes itens são encontrados:

- Leucocitose com desvio à esquerda;
- Hiperfibrinogenemia;
- Monocitose em outras espécies que não o cão;
- Ausência de linfopenia ou eosinopenia.

No cão a monocitose acompanhada de um ou mais dos outros quatro critérios, ou o valor da contagem absoluta de monócitos deve ser duas vezes maior que o normal.

### **Leucocitose proliferativa**

A leucocitose proliferativa ou autônoma resulta de uma mudança neoplástica da célula pluripotencial. As formas mais comuns de leucemias são: linfocíticas, mielógenas, mielomonocítica e monocítica. As leucemias eosinofílicas e basofílicas são raras. É importante observar que muitas vezes o câncer das células sanguíneas não manifesta uma leucocitose, portanto, a contagem de leucócitos pode estar normal ou mesmo diminuída e a população de células na medula óssea pode estar alterada com pequena ou nenhuma evidência no sangue periférico.

### **Leucopenia**

A leucopenia, em muitos animais, ocorre por neutropenia e linfopenia. A neutropenia é causa primária de leucopenia em animais com uma relação N:L maior que 1, e linfopenia em animais que a relação N:L é menor que 1. A neutropenia é mais comum em infecções bacterianas e linfopenia em infecções virais. Severas infecções bacterianas e virais podem causar leucopenia associada com neutropenia e linfopenia, ou ambas e também podem reduzir o número de outros leucócitos. Salmonelose no cavalo e mastitis coliformes são exemplos clássicos de infecção bacteriana que leva a neutropenia e linfopenia e a infecção do vírus da panleucopenia felina é um exemplo de infecção viral. O retorno dos linfócitos e dos eosinófilos no sangue, determinado por hemograma sequenciais, indica convalescência e é geralmente um sinal de bom prognóstico.

A leucopenia ocorre freqüentemente durante o estágio precoce da cinomose e é seguida de leucocitose por uma infecção bacteriana secundária. Uma marcada linfopenia é um quadro consistente na cinomose, devido a atrofia e necrose do tecido linfóide, produzido pelo vírus. Ambos os linfócitos T e B estão reduzidos e a imunidade humoral e celular estão suprimidas em animais sobreviventes. Em cães sobreviventes, o número de linfócitos no sangue permanecem baixos por um período prolongado.

As neutropenias podem ser agrupadas:

- Sobrevivência reduzida de neutrófilos maduros
- Produção reduzida pela medula óssea
- Produção ineficaz de neutrófilo
- Sequestração

### **Sobrevivência reduzida de neutrófilos maduros**

Ocorre quando há uma demanda tecidual aguda e maciça que esgota rapidamente o compartimento de neutrófilos no sangue. Uma demanda excessiva, continuada, leva a exaustão da medula óssea (estoque) e excede a produção, resultando em um desvio à esquerda degenerativo, há mais neutrófilos imaturos que maduros. A contagem total de neutrófilos pode estar normal ou diminuída. Desvio à esquerda degenerativo indica uma situação sistêmica desfavorável. Mudanças morfológicas tóxicas são muitas vezes observadas nos neutrófilos. Estas mudanças incluem: basofilia citoplasmática, vacuolização e corpúsculo de Döhle.

### **Produção reduzida pela medula óssea**

É associada com a falência primária da medula óssea. Outras linhas de células podem também ser afetadas. A neutropenia não é acompanhada por desvio para a esquerda. Causas conhecidas incluem: infecção (parvovirose canina e felina, *Ehrlichia sp*, vírus da leucemia felina, vírus imunossupressivo felino), drogas (trimetoprim fenilbutazona, estrógeno, agentes quimioterápicos) e hematopoiese cíclica dos collies cinzas.

### **Produção ineficaz**

Neutropenia imuno-mediada, resultando em sobrevivência reduzida. Ocorre em animais, mas não tem sido bem documentada. Não há desvio para a esquerda e o compartimento de estoque na medula óssea aparece normal no exame.

### **Neutropenia por seqüestração**

Ocorre com o choque anafilático e endotoxemia, causando um rápido desvio para compartimento marginal. As endotoxinas causam efeito via ativação complemento, resultando na agregação e sequestração dos neutrófilos e plaquetas nos capilares pulmonares.

## **Leucograma**

### **Introdução**

O leucograma é a parte do hemograma que pesquisa alterações quantitativas e/ou morfológicas das séries leucocitárias. Ele é composto da contagem global de leucócitos e suas contagens diferenciais, consideradas em seu número relativo e absoluto. Além disso, devem ser registradas as observações sobre as alterações morfológicas encontradas no esfregaço sanguíneo; defeitos funcionais somente serão notados quando acompanhados de morfologia alterada.

### Contagem total de leucócitos

A contagem dos leucócitos pode ser estimada indiretamente no esfregaço sanguíneo. Na interpretação do leucograma deve ser utilizado o resultado absoluto da contagem leucocitária, pois o resultado relativo não expressa a realidade leucocitária.

Um caminho adicional na avaliação de um leucograma é examinar rapidamente a proporção neutrófilos maduros para linfócitos, usando a seguinte proporção normal (%):

Cão: 2,5 a 3,5:1      Gato: 1,8:1      Cavalo: 1,5:1      Bovino: 0,5: 1      Suino: 0,7:1

**Exemplo:** Se um diferencial revela 95% de neutrófilos e 5% de linfócitos em um cão, há uma linfopenia ou uma neutrofilia ou a combinação de ambas? Se a contagem de leucócitos for 20000 teria uma neutrofilia (3000-12000) e linfócitos normais (1000-4900) ao passo que, se a contagem de leucócitos for 8 000 o que é evidente é uma linfopenia.

**Observação:** É necessário fazer a correção da contagem de células nucleadas que são contadas nos contadores automáticos.

Correção da contagem total de leucócitos:

$$\text{Contagem corrigida} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de células nucleadas} \times 100}{100 + \text{n}^\circ \text{ de eritrócitos nucleados em 100 leucócitos}}$$

**Exemplo:** Se a contagem de leucócitos for 20 000/ $\mu\text{l}$ .

Diferencial revelar 80% neutrófilos segmentados, 20% linfócitos, mas também 40 eritrócitos nucleados.

$$\text{Aplicar a fórmula de correção: } X = \frac{20.000 \times 100}{100+40} = 14\ 285 \text{ células}/\mu\text{l}.$$

### Alterações quantitativas dos leucócitos

As alterações quantitativas dos leucócitos são a leucocitose e a leucopenia (Tabela 15). Para avaliar estas alterações é fundamental ter em mente os valores normais da espécie considerada, visto que normalmente a leucocitose no cão é devido à neutrofilia, e nos bovinos pode ser pela linfocitose (Tabela 16).

Tabela 15. Causas de leucocitoses e leucopenias.

| Causas de Leucocitose |                               | Causas de Leucopenia |                              |
|-----------------------|-------------------------------|----------------------|------------------------------|
| ✓                     | Infecção bacteriana           | ✓                    | Doenças virais               |
| ✓                     | Efeito de esteróides          | ✓                    | Severa infecção bacteriana   |
| ✓                     | Desordens linfoproliferativas | ✓                    | Anafilaxia                   |
| ✓                     | Peritonite Infecçiosa Felina  | ✓                    | Drogas e químicos tóxicos    |
| ✓                     | Necrose tecidual              | ✓                    | Neoplasias de Medula Óssea   |
| ✓                     | Severa inflamação             | ✓                    | Toxemias endógenas: uremia   |
| ✓                     | Prenhez e parição em cadelas  | ✓                    | Toxoplasmose / Ehrlichiose / |
| ✓                     | Desordens mieloproliferativas | ✓                    | Leishmaniose                 |
| ✓                     | Hipertireoidismo em gatos     |                      |                              |

## **Diferencial de Leucócitos**

O diferencial leucocitário é realizado no exame do esfregaço sanguíneo, em contagem percentual de 100 leucócitos. Há uma técnica padrão para a confecção do esfregaço sanguíneo e leitura diferencial leucocitária, para que se tenha homogeneidade dos resultados. Um esfregaço com sangue mal homogeneizado, principalmente em cavalos, poderá trazer diferenças diagnósticas pela desuniformidade na distribuição dos leucócitos na lâmina.

## **Desvio à esquerda**

Normalmente o sangue periférico contém pequeno número de neutrófilos imaturos. Em muitas espécies este consiste de menos de 300 bastonetes/ $\mu$ l de sangue. O aumento da liberação da medula óssea de neutrófilos imaturos para o sangue ocorre quando aumenta a demanda funcional de neutrófilos para os tecidos ou em casos de leucemias mielógenas ou mielomonocíticas agudas ou crônicas. A presença de neutrófilos imaturos no sangue, acima do número normal para a espécie, constitui um desvio à esquerda. A extensão do desvio à esquerda indica a severidade da doença, entretanto a magnitude da contagem de células reflete a habilidade da medula óssea para suprir a demanda.

## **Classificação do desvio à esquerda**

**Desvio à esquerda regenerativo:** A contagem total de leucócitos é moderadamente ou marcadamente elevada por causa da neutrofilia e o número de neutrófilos imaturos (bastonetes) encontra-se abaixo do número de neutrófilos maduros (segmentados). Isto indica uma boa resposta do hospedeiro, e ocorre quando a medula óssea tem tempo suficiente (usualmente 3-5 dias) para responder à demanda tecidual aumentada de neutrófilos.

**Desvio à esquerda degenerativo:** A contagem total de leucócitos varia, podendo ser normal, abaixo do normal ou moderadamente elevada. A resposta principal é a presença de neutrófilos imaturos acima dos neutrófilos maduros. O desvio degenerativo à esquerda indica que a medula óssea, para o momento, tem um esgotamento no compartimento de reserva de neutrófilos segmentados e conseqüentemente ocorre a liberação de células imaturas, ultrapassando os neutrófilos maduros. Em muitas espécies isso é um sinal de prognóstico desfavorável que requer um rigoroso protocolo terapêutico. No entanto, em bovinos o desvio à esquerda degenerativo é comum durante o estágio inicial de doenças infecciosas ou inflamatórias hiperagudas a agudas. Isso ocorre, provavelmente, devido ao compartimento de reserva da medula óssea de bovinos ter um suprimento limitado de neutrófilos maduros. Sendo assim, o desvio à esquerda degenerativo

em bovinos não deve ser considerado como um sinal sério no prognóstico, a não ser que este tenha persistido por vários dias.

### **Desvio à direita**

É a presença no sangue circulante de vários neutrófilos hipersegmentados, isto é; neutrófilos com mais de 5 lóbulos. A hipersegmentação nuclear ocorre devido a presença circulante de corticosteróides, tanto endógenos como exógenos. A deficiência da Vitamina B<sub>12</sub> também pode levar a hipersegmentação, mas é uma condição muito rara.

### **Reação leucemóide**

A reação leucemóide é geralmente uma leucocitose reativa, consistindo de uma alta contagem de leucócitos com uma contagem absoluta de um tipo de leucócito, ou também um marcado a extremo desvio à esquerda sugestivo de leucemia. Portanto, é um processo patológico benigno, embora se assemelhe a leucemia granulocítica. Geralmente a reação leucemóide envolvendo os neutrófilos é similar ao desvio à esquerda regenerativo e, infreqüentemente, um severo desvio à esquerda degenerativo pode dar esta indicação. Ocasionalmente, o quadro sangüíneo leucemóide pode envolver outros tipos de leucócitos, como os linfócitos ou eosinófilos. Os resultados laboratoriais e a avaliação do paciente revelam que a doença não é uma leucemia. Exemplos de reações leucemóides:

- um extremo desvio à esquerda regenerativo visto na piometra e peritonite ativa crônica em cães;
- marcada linfocitose em condições supurativas crônicas como, por exemplo, reticulite traumática.

### **Neutrófilos**

Normal do cão: ausência de mielócitos e metamielócitos, bastonetes: 0-3% (0-300/ $\mu$ l), neutrófilos: 60-77% (3 a 11.500/ $\mu$ l).

Tabela 16. Alterações orgânicas que levam a neutrofilia e neutropenia.

| <b>Leucocitose associada a neutrofilia</b> | <b>Leucopenia associada a neutropenia</b> |
|--|---|
| Infecções locais ou generalizadas          | Degeneração                               |
| Intoxicações                               | Depressão                                 |
| Reabsorção tecidual                        | Depleção ou exaustão                      |
| Leucemias                                  | Destruição                                |
| Corticóides                                |   |

A leucopenia por neutropenia pode ser causada por:

**Degeneração:** o agente ou toxina compromete o compartimento de maturação, causando, portanto predominância de células jovens.

**Depressão:** principalmente doenças crônicas, comprometendo o compartimento de multiplicação, causando predominância de células adultas.

**Depleção ou exaustão:** causada geralmente por consumo agudo, pelo grande afluxo de neutrófilos para o local de inflamação. Ocorre na mastite bovina e cólica eqüina. A leucopenia é geralmente transitória, com neutrofilia responsiva em 2 a 4 dias.

**Destruição:** caracterizada por pancitopenia, isto é, diminuição de todas as células sanguíneas. Causado por drogas, infecção bacteriana grave, etc.

Tabela 17. Causas de neutrofilias e neutropenias.

| Causas de Neutrofilia                      | Causas de Neutropenia  |
|--|--|
| a) Fisiológica                             | a) Sobrevivência diminuída                                   |
| Adrenalina                                 | Infecção bacteriana aguda                                    |
| Medo, excitação                            | Septicemia   |
| Glicocorticóides endógenos e exógenos      | Toxemia  |
| Trauma, dor                                | Anafilaxia   |
| Hiperadrenocorticismo                      | Hiperesplenismo  |
| Stress crônico severo                      | b) Produção diminuída  |
| b) Reativa                                 | Infecções agudas: Bacteriana, viral e riquétsias (Ehrlichia) |
| Infecções estabelecida local ou sistêmica  | Drogas e químicos tóxicos: ex. estrógeno                     |
| Bacteriana                                 | Radiação   |
| Viral                                      | Leucemia mielóide ou linfóide                                |
| Fungos                                     | Hematopoiese cíclica canina                                  |
| Parasitas                                  |  |
| Necrose tecidual                           | c) Granulopoiese ineficaz aumentada                          |
| Doenças imuno-mediadas                     | Vírus da leucemia felina                                     |
| Inflamatórias: artrite reumatóide          | Mieloptise   |
| Não inflamatória: anemia hemolítica        | Leucemia mielóide ou linfóide                                |
| autoimune                                  |  |
| Tumores                                    |  |
| Toxicidade por estrógeno (estágio inicial) |  |
| c) Proliferativas                          |  |
| Leucemias mielóide aguda ou crônica        |  |

O corticóide atua na neutrofilia de diversas formas, como:

- Prolongando a meia vida dos neutrófilos
- Retendo mais tempo os neutrófilos na circulação, impedindo-os de sair para os tecidos
- Liberando os neutrófilos da parede vascular (Compartimento marginal)
- Liberando neutrófilos da medula óssea (Compartimento de armazenamento)

### Eosinófilos

Normal do cão: 2 - 10 % (100 a 1.250/ $\mu$ l)



Tabela 18. Doenças que levam a eosinofilia e eosinopenia.

| <b>Causas de Eosinofilia</b>  | <b>Causas de Eosinopenia</b>               |
|---|--|
| Perda tecidual crônica, especialmente reações alérgicas                           | Stress agudo (adrenalina)                  |
| Parasitismo: migração / respiratórios / hipersensibilidade cutânea / microfilária | Stress crônico: glicocorticóides endógenos |
| Hipoadrenocorticismo  | Hiperadrenocorticismo                      |
| Terapia por drogas  | Administração de Esteróides                |
| Estro em cadelas  | Inflamações / Infecção agudas              |
| Predisposição racial  |  |
| Desordens purulentas  |  |
| Eosinofilia reacional   |  |

### **Linfócitos**

Normal do cão: 12 - 30 % (1.000 a 4.800/ $\mu$ l)

Os corticóides (endógenos e exógenos) atuam de várias formas na linfopenia e conseqüente imunodepressão, tais como :

- Inibindo a mitose linfocitária
- Lisando linfócitos circulantes
- Reduzindo a liberação de histamina
- Estimulando o catabolismo protéico, reduzindo formação de anticorpos
- Recirculação (circulação sanguínea para a circulação linfática)

Tabela 19. Causas que levam a linfocitose e linfopenia.

| <b>Causas de Linfocitose</b>             | <b>Causas de Linfopenia</b>                  |
|--|--|
| Idade : animais jovens                   | Efeitos esteróides                           |
| Fisiológico : medo / excitação / esforço | Hiperadrenocorticismo                        |
| Leucemia linfocítica ou linfossarcoma    | Administração de corticóides / ACTH          |
| Vírus da imunodeficiência felina         | Estresse severo                              |
| Estimulação antigênica prolongada        | Infecção Sistêmica Aguda                     |
| Infecção crônica                         | Viral recente - cinomose                     |
| Hipersensibilidade                       | Bacteriana severa ou incomum                 |
| Doenças auto-imunes                      | Toxoplasmose / Ehrlichiose / Leishmaniose    |
| Pós-vacinação                            | Perda de linfócitos                          |
| Hipoadrenocorticismo                     | Lesão de linfonodos                          |
| Terapia com drogas                       | Neoplasias                                   |
|  | Inflamação crônica                           |
|  | Deficiência adquirida de linfócitos T (raro) |
|  | Quimioterapia imunossupressiva               |
|  | Radiação                                     |
|  | Imunodeficiência hereditária (raro)          |
|  | Atrofia linfóide                             |
|  | Demodicose generalizada                      |

## **Basófilos**

Causas de basofilia

- Dermatites alérgicas
- Eczemas
- Reações de hipersensibilidade

## **Monócitos**

Normal: cão: 3 - 10 (150 a 1.350/ $\mu$ l)

gato: 1 - 4 (0 a 850/ $\mu$ l)

### **Causas de monocitose**

- Efeitos esteróides
- Hiperadrenocorticismo
- Administração de esteróides/ACTH
- Estresse severo – piometra
- Inflamação/ infecção aguda ou crônica
- Doenças imunomediadas
- Outras doenças causando dano e necrose tecidual
- Produção reduzida de granulócitos
- Animais idosos. Leucemia monocítica ou mielomonocítica

## **Alterações morfológicas e Inclusões leucocitárias**

Muito embora haja os contadores automáticos para facilitar a confecção do leucograma, a tecnologia eletrônica é falha na identificação de anomalias, células imaturas da linhagem mielóide e hemoparasitas; isto significa menos de 50% dos casos, mas tende a se agravar quando são utilizados laboratórios de análises humanas. Deste modo torna-se indispensável a experiência citológica à leitura do esfregaço sanguíneo. O Corpúsculo de Baar é um prolongamento característico do núcleo dos neutrófilos e representa a cromatina sexual da fêmea, sendo de ocorrência normal e de grande auxílio na conferência do exame.

## **Mudanças tóxicas dos neutrófilos**

### **Granulação tóxica e/ou difusa basofilia citoplasmática**

Quando há continuado estímulo à granulopoiese, pela extensão e/ou duração de um processo inflamatório, há diminuição dos prazos de maturação das células precursoras, e os neutrófilos chegam ao sangue com persistência da granulação primária, própria dos pró-mielócitos, normalmente substituída pela granulação secundária, tênue e característica. Os grânulos primários são ricos em enzimas e coram-se em pardo escuro com os corantes usuais, e impropriamente denominados de granulações tóxicas. A verdade é que a presença destes grânulos exprime a duração e gravidade de um processo inflamatório, mas é exagero atribuir a esta ocorrência um significado prognóstico.

### **Corpúsculos de Döhle**

São áreas, na periferia dos neutrófilos, nas quais houve liquefação do retículo endoplasmático. São de rara ocorrência, mas possuem interesse diagnóstico por refletirem infecções graves e/ou sistêmicas.

### **Outras alterações morfológicas de neutrófilos**

Um defeito na granulocitopoiese pode levar à formação de neutrófilos com morfologias anormais, como neutrófilos gigantes, bizarros, degenerados, com o núcleo em forma de rosca ou bilobado.

### **Alterações leucocitárias**

#### **Neutrófilos multissegmentados**

No sangue normalmente predominam os neutrófilos com 2 a 4 lóbulos nucleares, havendo poucos com cinco ou mais. O aumento ou predomínio de neutrófilos com mais de cinco lóbulos -multissegmentados- é visto quando há uma maior permanência destes na circulação. Esta sobrevida intravascular prolongada caracteriza o desvio à direita. Isto acontece em:

- Insuficiência renal crônica
- Neutrofilias de longa duração
- Tratamentos com corticóides ou estresse
- Defeitos genéticos raros ou em síndromes mieloproliferativas
- Degeneração em amostras envelhecidas

#### **Plasmócitos**

A ocorrência de plasmócitos é rara na circulação. A ativação de linfócitos na circulação deve-se principalmente a uma exacerbada resposta humoral ou a uma leucemia de células plasmocitárias (Mieloma Múltiplo).

**Corpúsculo de Lentz:** Corpúsculo eosinofílico no citoplasma de leucócitos patognômico da Cinomose canina.

**Ehrlichia canis:** Mórula basofílica no interior de leucócitos característica da erliquiose.

#### **Fungos e protozoários:**

Tabela 20. Fungos e protozoários no interior dos macrófagos.

| <b>Leucócitos</b>   |  |
|---------------------|--|
| <u>Trypanossoma</u> | <u>Hepatozoon</u>                                      |
| <u>Toxoplasma</u>   | <u>Leishmania</u> (raro)<br><u>Histoplasma</u> ; fungo |

#### **Microfilárias**

Dirofilária imitidis  
Diptaltonema

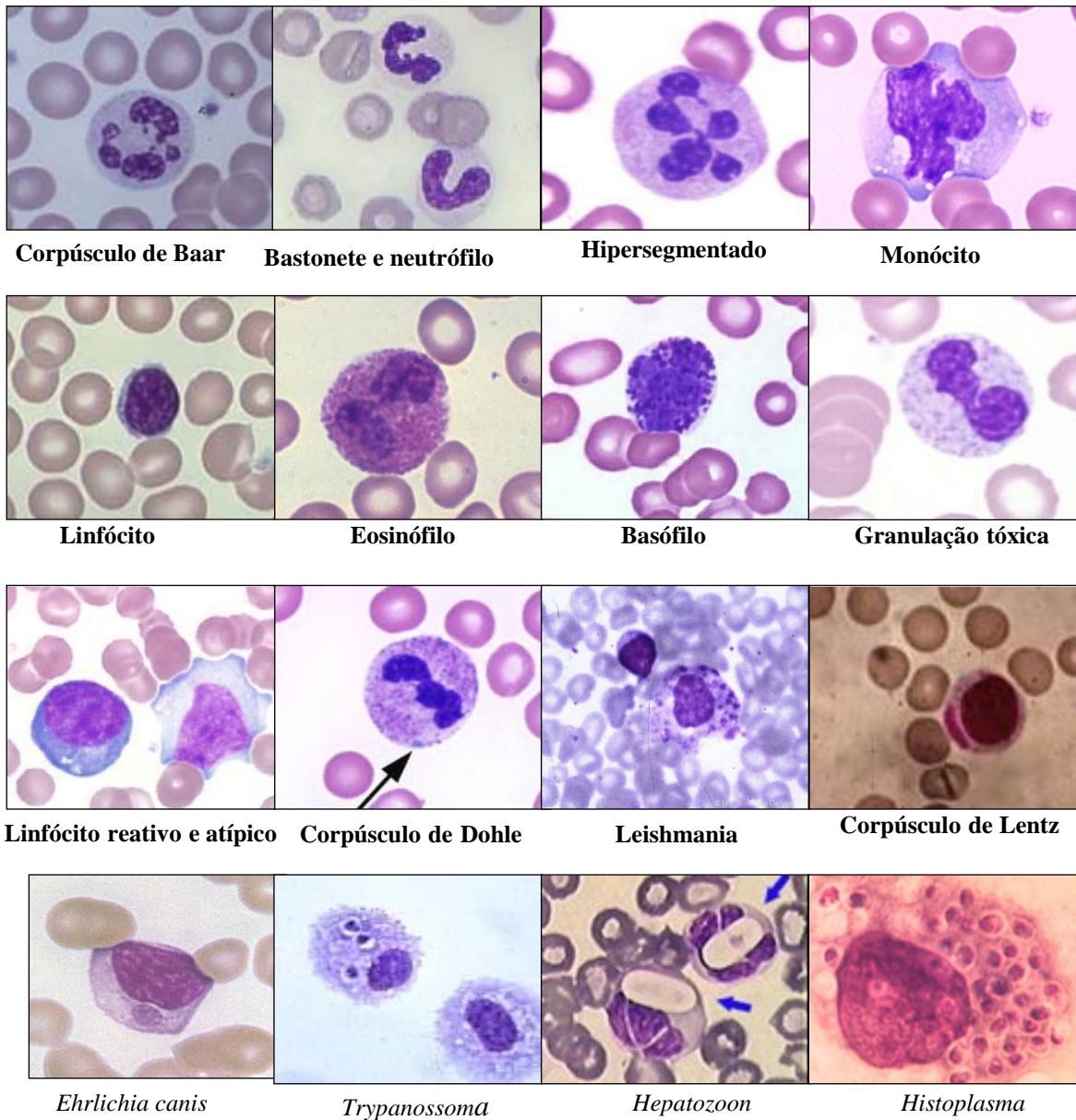


Figura 14. Diferentes tipos de leucócitos, inclusões, protozoários, riquetsias e fungos.

## AULA PRÁTICA - Leucograma

### Determinação do número total de leucócitos

- Tomar o frasco com sangue mais anticoagulante e homogeneizar
- Com a pipeta de Thoma para glóbulos brancos aspirar o sangue até a marca 0,5
- Limpar o sangue da parte externa da pipeta com gaze.
- Diluir em seguida com solução fisiológica até a marca 11
- Agitar, desprezar as primeiras gotas e encher a câmara de Neubauer por capilaridade.
- Contar os leucócitos dos quatro quadrados grande-angulares e multiplicar por
- 50 / $\mu$ l.

### Cálculo

Líquido em cada quadrado primário:  $1/10\text{mm}^3$

4 quadrados primários :  $4/10\text{mm}^3$

Diluição da pipeta:  $1/20$

Profundidade:  $1/10\text{mm}$

Portanto:  $4/10 \times 1/20 = 4/200 = 1/50 \Rightarrow$  o fator é 50

$N^\circ$  total de leucócitos contados  $\times 50 = N^\circ$  total de leucócitos /  $\mu$ l

Observação:  $1 \mu\text{l} = 1\text{mm}^3$

### Diferencial leucocitário

#### Esfregaço

- Preparar duas lâminas novas e desengorduradas, sendo uma com os cantos arredondados.
- Homogeneizar o sangue no frasco de colheita fechado, por inversão, e colocar com o capilar do micro-hematócrito, antes de fechá-lo, uma gota de sangue na lâmina.
- Colocar a outra lâmina (recortada) à frente da gota de sangue, num ângulo de  $45^\circ$ . Fazer um ligeiro movimento para trás até o sangue espalhar -se pela lâmina.
- Com um movimento uniforme, para frente, fazer esta lâmina deslizar sobre a outra. O sangue se estenderá por sobre a lâmina, formando o esfregaço.
- Agitar o esfregaço até secá-lo completamente e identificá-lo com lápis na borda mais espessa do esfregaço.

### Corantes

#### Leishman

- Colocar 20 gotas do corante e deixar agir por 3 minutos.
- Acrescentar 20 a 25 gotas de água destilada tamponada ( $\text{pH} \pm 7,2$ ).
- Deixar agir por 15 minutos.
- Lavar em água corrente e secar.
- Corante:
- Diluir 1,5 g de Eosina-Azul de Metileno segundo Leishmann em 1 litro de metanol.
- Colocar em banho-maria a  $37^\circ\text{C}$  por 24 horas. Acondicionar em frasco âmbar.
- Maturar o corante deixando-o em repouso por 1 semana, ao abrigo da luz.
- Corrigir o pH, se necessário, para 7,6.
- Filtrar e usar.

#### Contagem

- Observar o esfregaço sanguíneo corado em objetiva de 40x (aumento de 400x), verificando a contagem global aproximada por estimativa de leucócitos / campo.
- Visualizar também homogeneidade na distribuição leucocitária.
- Colocar em objetiva de imersão (aumento de 1000x) e realizar observação minuciosa da morfologia e coloração dos leucócitos e demais estruturas.
- Realizar contagem diferencial de leucócitos em forma de “torre” a cada 3 ou 4 campos, até atingir o total de 100 leucócitos (Figura 15).

- Transformar os dados relativos obtidos nesta contagem em dados absolutos, através da multiplicação dos percentuais parciais pelo número total de leucócitos.

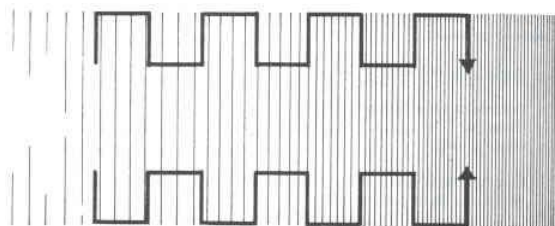


Figura 14. Esfregaço sangüíneo: contagem em torre.

## BIBLIOGRAFIA

- COLES, E.H. **Veterinary pathology**. 4<sup>a</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1986. 486p.
- CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 454p.
- DUNCAN, J.R.; PRASSE, K.W. *Patologia clínica veterinária*. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1982.
- DUNCAN JR., PRASSE, K.W., MAHAFFEY, E. **Veterinary laboratory medicine**. 3<sup>a</sup> ed. Iowa: Ames, 1994. 300p.
- FELDMAN, B.F., ZINKL, J.G., JAIN, C.N. **Schalm's veterinary hematology**. 5<sup>a</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1344p.
- JAIN, C.N. **Essential of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.
- JAIN, C.N. **Schalm's veterinary hematology**. 4<sup>a</sup> ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1221p.
- KANEKO, J.J., HARVEY, D.W., BRUSS, W.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5<sup>o</sup> ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932p.
- MEYER, D.J., HARVEY, J.W. **Veterinary laboratory medicine**. 2<sup>a</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998. 372p.
- MEYER, D.J., COLES, E., RICH, L.J. **Veterinary laboratory medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1992. 350p.
- OSBORNE, C.A., FINCO, D.R. **Canine and feline nephrology and urology**. Baltimore: Williams & Willkins, 1995. 960p.
- WILLARD, M.D., TVEDTEN, H., TURNWALD, G.H. **Small animal clinical diagnosis by laboratory methods**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1989. 380p.

## 2. AVALIAÇÃO DA HEMOSTASIA E DISTÚRBIOS DA COAGULAÇÃO

*Andrea Pires dos Santos*

### Introdução

A hemostasia é o mecanismo que mantém a fluidez do sangue pelos vasos. Inclui o controle da hemorragia e a dissolução do coágulo, por meio de eventos mecânicos e bioquímicos. Didaticamente pode-se dividir a hemostasia em primária, secundária e terciária, embora os três processos estejam inter-relacionados. Na hemostasia primária, tem-se vasoconstrição local, adesão e agregação plaquetária com conseqüente formação de um tampão plaquetário inicial. A hemostasia secundária compreende uma série de reações em cascata cujo resultado final é a formação de fibrina a partir do fibrinogênio que confere estabilidade ao coágulo. A hemostasia terciária ou fibrinólise é ativada na mesma ocasião da coagulação, existindo um equilíbrio fisiológico entre as mesmas, onde a plasmina atua degradando a fibrina e desfazendo o coágulo formado. Os vasos sanguíneos também participam ativamente no processo de coagulação.

### Hemostasia primária

Na hemostasia primária, tem-se vasoconstrição local, adesão e agregação plaquetária com conseqüente formação de um tampão plaquetário inicial. Por agregação plaquetária entende-se a fixação de uma plaqueta em outra e por adesão entende-se a fixação de uma plaqueta no vaso sanguíneo. Para que ocorra a agregação e a adesão é necessário que esteja presente o fator de von Willebrand, uma glicoproteína que facilita estas ações.

### Cinética plaquetária

As plaquetas são formadas na medula óssea, a partir da célula pluripotencial (*stem cell*), que vai dar origem a linha megacariocítica. A primeira célula da linha dos megacariócitos é o **megacarioblasto** que vai formar o **pró-megacariócito** e **megacariócito**. A divisão celular cessa, mas a divisão nuclear continua. Pode-se encontrar células de 4 a 64 núcleos. Este processo é chamado endomitose. As plaquetas são simplesmente pequenos fragmentos do citoplasma do megacariócito liberados na corrente sanguínea. O citoplasma do megacariócito é formado por longos pseudopodes que penetram nos sinusóides das células endoteliais, liberando as plaquetas que são observadas como pequenos discos com grânulos vermelhos com 2 a 5 µm de diâmetro (em gatos o tamanho é variável) na circulação sanguínea.

Após a estimulação as plaquetas aparecem entre 3 e 5 dias, e são controladas pela trombopoetina e também pela eritropoetina, possuem uma vida média em torno de 8 dias, sendo que cerca de um terço das plaquetas são seqüestradas pelo baço.

- Valor normal em torno de 300 000/  $\mu$ l.
- Menos que 100 000/ $\mu$ l é claramente uma trombocitopenia.
- 50 000/ $\mu$ l é suficiente para prevenir hemorragia.
- 20 000/ $\mu$ l ocorre hemorragia espontânea.

### Função das plaquetas na hemostasia

A função primária das plaquetas é a manutenção da hemostasia por meio da interação com as células endoteliais mantendo a integridade vascular. Adesão, agregação e liberação plaquetária são eventos que podem ocorrer simultaneamente ou independentemente, dependendo das condições de estímulos e circunstâncias. O transtorno de qualquer um destes processos podem levar à desordens hemorrágicas. A **adesão** é a aderência das plaquetas no local da lesão. Esta adesão plaquetária ao endotélio é efetuada por meio de seus receptores de superfície para o colágeno e fator de Von Willebrand que, portanto o liga plaqueta ao colágeno do subendotélio. A **agregação** é uma resposta básica para a liberação de ADP na presença do cálcio. A reação de **liberação** promove a agregação de agrupamentos plaquetários e o acúmulo de mais plaquetas e assim uma série de reações em cadeia para formar uma capa para deter a hemorragia.

As plaquetas se aderem ao colágeno do sub-endotélio e liberam aminas vasoativas (serotoninas, catecolaminas, adrenalina e outras) que promovem a vaso constricção local com liberação de ADP (adenosina difosfato). O vaso contrai-se diminuindo o fluxo de sangue no local, causando a agregação das plaquetas em resposta a liberação de ADP na presença dos íons cálcio, formando a primeira camada de plaquetas. Estas plaquetas agregadas liberam ATP (adenosina trifosfato) que é degradado a ADP por ATPase que facilita a maior agregação das plaquetas no local da parede do vaso lesionado, sendo o suficiente para deter a hemorragia, constituindo a **primeira fase da coagulação**.

As plaquetas também são importantes na coagulação sangüínea por fornecer fosfolipídio plaquetário (fator III plaquetário que atua como um acelerador dos processos de coagulação) e por carrear vários fatores de coagulação em suas superfícies.

Após a formação da primeira camada, inicia-se um depósito dos fatores de coagulação, culminando com a transformação do fibrinogênio em fibrina, havendo um depósito sobre as plaquetas, formando um trombo que constitui a **fase terminal da coagulação sangüínea**.

Após a formação do tampão hemostático, iniciam-se os mecanismos fibrinolíticos, que promovem a degradação enzimática do fibrinogênio e da fibrina e outros fatores da coagulação ativados, permitindo o reparo definitivo da injúria vascular e o controle sobre os eventos



trombóticos. A manutenção do sangue dentro dos vasos e a sua fluidez por dentro dos mesmos é mantida pelo equilíbrio entre a coagulação e a fibrinólise.

### Hemostasia secundária

A hemostasia secundária compreende uma série de reações em cascata cujo resultado final é a formação de fibrina a partir do fibrinogênio que consolida desse agregado e dá estabilidade ao coágulo.

### Cascata de coagulação

A cascata de coagulação é um mecanismo complexo de reações seqüenciais que culmina na formação de fibrina a partir do fibrinogênio. O conjunto de proteínas que atuam na coagulação (fatores de coagulação) estão representados na Tabela 1. Os fatores de coagulação são ativados predominantemente por exposição a tromboplastina tecidual, expressada na superfície das células endoteliais ou fibroblastos extravasculares. Logo após a ativação inicial, os fatores vão se ativando seqüencialmente e amplificando o estímulo inicial por *feedback*. A cascata de coagulação tradicionalmente se divide em sistema intrínseco, extrínseco e comum (Figura 1).

**Tabela 1. Fatores de coagulação.**

| Fator                            | Nome                                    | Local de síntese   | Meia vida plasmática |
|----------------------------------|---|--|----------------------|
| I                                | Fibrinogênio                            | Fígado   | 1,5 – 6,3 dias       |
| II                               | Protrombina                             | Fígado, macrófagos   | 2,1 – 4,4 dias       |
| III                              | Tromboplastina tecidual                 | Constituinte de fibroblastos e membrana plasmática de células musculares lisas |                      |
| IV                               | Cálcio                                  |  |                      |
| V                                | Proacelerina                            | Fígado, macrófagos   | 15 – 24 horas        |
| VII                              | Proconvertina                           | Fígado, macrófagos   | 1 – 6 horas          |
| VIII:C                           | Fator anti-hemofílico                   | Fígado   | 2,9 dias             |
| IX                               | Fator de Christmas                      | Fígado   | 24 horas             |
| X                                | Fator de Stuard - Prower                | Fígado, macrófagos   | 32 – 48 horas        |
| XI                               | Antecedente da tromboplastina do plasma | Fígado (provavelmente)   | 30 horas             |
| XII                              | Fator de Hageman                        | Fígado (provavelmente)   | 18 – 52 horas        |
| XIII                             | Estabilizador da fibrina                | Fígado (provavelmente)   | 4,5 – 7,0 dias       |
| Precalicroina                    | Fator de Fletcher                       | Fígado (provavelmente)   | 35 horas             |
| Cinogênio de alto peso molecular | Fator de Fitzgerald                     | Fígado (provavelmente)   | 6,5 dias             |

Fonte: Thrall et al. (2004)

O **sistema intrínseco** está via de ativação se inicia com a parede vascular traumatizada, com o contato do sangue com o colágeno do sub-endotélio ou corpo estranho. Neste momento ocorre a ativação plaquetária e do fator XII que se ativa e subsequentemente ativa o fator XI

(para essa reação é necessária a presença de cininogênio de alto peso molecular e precalicreína) este ativa o fator IX que ativa o fator VIII.

O **sistema extrínseco** se inicia por lesão vascular ou tecido extravascular, que contém uma proteína de membrana denominada fator tecidual. O tecido danificado também libera tromboplastina o que ativa o fator VII (sistema extrínseco da coagulação).

A ativação destes fatores, mais a presença de fosfolípidios plaquetários e cálcio dão início ao **sistema comum**, pela ativação do fator X que em conjunto com esses fatores ativam a protrombina (fator II) que se converte em trombina (fator II ativado) que converte o fibrinogênio em fibrina. Após esta conversão, o fator XIII confere estabilidade a esta fibrina. A trombina é um potente pró-coagulante capaz de acelerar as reações da cascata formando grandes quantidades de fibrina.

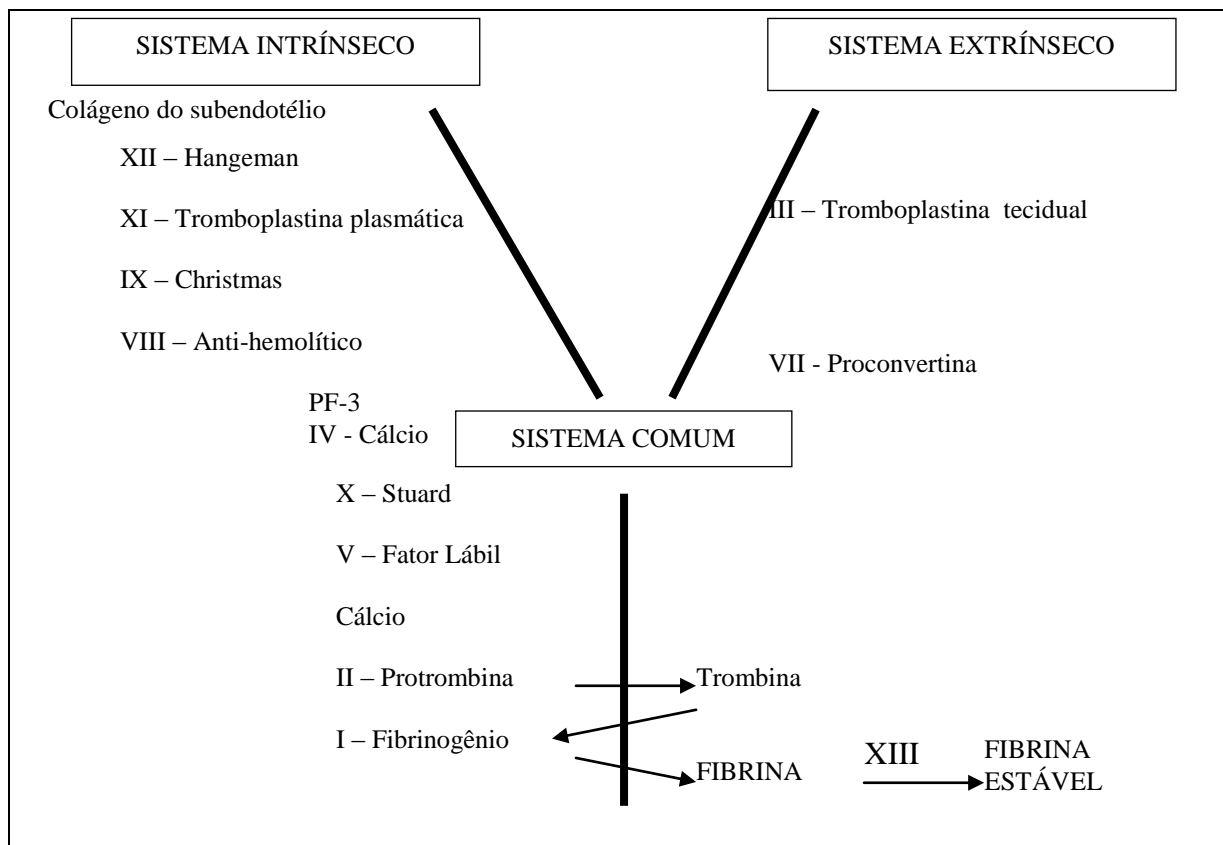


Figura 1. Esquema simplificado da cascata de coagulação.

Recentemente tem se sugerido um novo esquema onde a ativação inicial pela tromboplastina tecidual forma uma quantidade de trombina e esta daria início a amplificação e ativação dos sistemas intrínseco, extrínseco e comum.

A vitamina K é essencial na formação de várias proteínas da coagulação. Os fatores chamados vitamina K dependentes são: II, VII, IX e X que estão distribuídos nos três sistemas

da cascata de coagulação. São sintetizados em uma forma afuncional (acarboxiladas) e sofrem uma reação de carboxilação em que a vitamina K participa como cofator, produzindo centro de ligação para o cálcio, necessário para sua função normal. Durante esta reação a vitamina K é convertida num metabólito inativo (vitamina K-epóxido). A enzima epóxido-redutase é responsável pela reciclagem deste metabólito, convertendo-o para a forma ativa, razão pela qual a necessidade diária de vitamina K é pequena. Desordens na cascata de coagulação conferem ao animal uma **coagulopatia**.

### **Hemostasia terciária**

A fibrinólise é ativada na mesma ocasião da coagulação, existindo um equilíbrio fisiológico entre as mesmas. A plasmina atua localmente no interior do coágulo e é imediatamente removida da circulação por líquidos orgânicos sistêmicos. Os produtos de degradação da fibrina (PDFs), formados pela ação da plasmina sobre a fibrina, são normalmente removidos por macrófagos.

### **Vaso sanguíneo**

O endotélio é inerte, mas quando exposto ao colágeno sub-endotelial, ativa os mecanismos hemostáticos: ativando a adesão e agregação plaquetária e em seguida a ativação do fator XII (sistema intrínseco da coagulação). Além disso, as células endoteliais são ricas em tromboplastina que ativam o sistema extrínseco de coagulação.

Desordens vasculares podem ocorrer por deficiência de colágeno ou extensa lesão vascular e podem ser congênitas (raro) ou adquiridas. Dentre as adquiridas destacam-se:

- Desordens inflamatórias – como as causadas por bactéria, vírus, etc.
- Desordem imune.
- Tumores, trauma.

O diagnóstico de desordem vascular é feito quando os problemas plaquetários e de coagulação são descartados. Desordens vasculares podem ocorrer por problemas congênitos ou adquiridos como em uma extensa lesão por desordens inflamatórias, imunes ou tumores. Não existe técnica laboratorial que meça o status funcional dos vasos sanguíneos diretamente, suspeita-se de distúrbios vasculares quando todos os índices da coagulação estão normais.

### **Testes laboratoriais mais usados para desordens hemostáticas**

A avaliação para as desordens hemostáticas depende de uma história clínica detalhada e bom exame físico. Na história clínica deve-se destacar história de sangramentos, trauma e cirurgia e levar em consideração a idade, raça, sexo e terapia com drogas. No exame físico deve-se observar a natureza do sangramento (tipo de hemorragia).

## **Contagem de plaquetas**

É a avaliação quantitativa das plaquetas. Valor acima da referência da espécie confere uma trombocitose e valores abaixo, uma trombocitopenia. A contagem pode ser automática ou em um hemocítmetro. A amostra deve ser coletada de forma não traumática, pois o trauma pode causar a ativação plaquetária com formação de agregados que podem falsamente diminuir o número de plaquetas. Requer amostra com EDTA (etileno diamino tetraacetato de sódio ou potássio). A contagem em hemocítmetro possui alto coeficiente de erro (20 a 25%).

A contagem em gatos é difícil devido ao grande tamanho das plaquetas.

As plaquetas podem ser estimadas pela observação no esfregaço sanguíneo com objetiva de 100x. Deve-se contar no mínimo 10 campos e fazer uma média:

- 10 a 20 plaquetas/campo = normal
- 4 a 10 plaquetas/campo = trombocitopenia
- < que 4 plaquetas/campo = severa trombocitopenia
- 1 plaqueta/campo = 15.000 a 20.000 plaquetas/ $\mu$ L

A avaliação da morfologia das plaquetas também deve ser feita, a presença de macroplaquetas ou agregados plaquetários exerce influência sobre a contagem e função plaquetária e por isso devem ser descritos no laudo.

Valores normais de plaquetas/ $\mu$ L:

- Cão: 200.000 a 500.000
- Gato: 200.000 a 500.000
- Equino: 100.000 a 600.000
- Bovino: 200.000 a 800.000.
- 

## **Avaliação de medula óssea**

Pode ser indicada em casos de trombocitopenia e trombocitose para a investigação da causa, principalmente nos casos de trombocitopenia persistente e pancitopenia. A avaliação dos megacariócitos na medula óssea é baseada em seu número por espícula e adequada maturação. O número normal de megacariócitos, em campo de pequeno aumento em um cão é de um a três. Para avaliação do estágio de maturação, leva-se em consideração três grupos de células: megacarioblastos, pró-megacariócitos e megacariócitos. Em um cão normal, cerca de 70 a 84% da série megacariocítica são células maduras e 16 a 30% imaturas (megacarioblastos e pró-megacariócitos).

Quando os megacariócitos estão presentes, os possíveis mecanismos da trombocitopenia são: destruição ou consumo de plaquetas. Nestes casos o número pode estar aumentado. No caso dos megacariócitos estarem ausentes ou com maturação anormal, os prováveis mecanismos são: produção diminuída ou destruição de megacariócitos.

A avaliação da medula óssea é contra indicada nos casos de coagulopatias severas. Pode ser indicada em casos de trombocitopenia para procurar o mecanismo.

Megacariócitos presentes: destruição ou consumo de plaquetas (devem estar aumentadas).

Megacariócitos ausentes com maturação anormal: Produção diminuída ou destruição de megacariócitos.

### **Teste de função plaquetária: tempo de sangramento na mucosa oral (TSMO)**

É uma prova de função plaquetária e só tem valor diagnóstico quando o número de plaquetas estiver acima de 75.000 plaquetas/ $\mu$ l. O procedimento consiste em um corte de 0,5 cm na mucosa oral onde se observa o tempo decorrido até a formação do primeiro coágulo. O tempo normal varia de 1,7 a 4,2 minutos.

Se o número de plaquetas estiver diminuído, o TSMO estará prolongado. Se o animal estiver com anormalidades na hemostasia secundária, o TSMO estará normal, porém pode ocorrer sangramento posterior a formação do tampão inicial.

Existem outras técnicas para verificar o tempo de sangramento, como o corte da parte viva de uma unha (no cão o sangramento deve cessar em 5 minutos e no gato em 3 minutos), plano nasal e gengiva.

### **Tempo de coagulação ativado (TCa)**

Pode ser indicada em casos de trombocitopenia e trombocitose para a investigação da causa. Principalmente nos casos de trombocitopenia persistente e pancitopenia.

A avaliação dos megacariócitos na medula óssea é baseada em seu número por espícula e adequada maturação. O número normal de megacariócitos, em campo de pequeno aumento, em um cão é de um a três. Para avaliação do estágio de maturação, levam-se em consideração três grupos de células: megacarioblastos, pró-megacariócitos e megacariócitos. Em um cão normal, cerca de 70 a 84% da série megacariocítica são células maduras e 16 a 30% imaturas (megacarioblastos e pró-megacariócitos).

Quando os megacariócitos estão presentes, os possíveis mecanismos da trombocitopenia são: destruição ou consumo de plaquetas. Nestes casos o número pode estar aumentado. No caso dos megacariócitos estarem ausentes ou com maturação anormal, os prováveis mecanismos são: produção diminuída ou destruição de megacariócitos.

A avaliação da medula óssea é contra indicada nos casos de coagulopatias severas.

### **Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa)**

O TTPa (ou tempo de cefalina) recebe a denominação "tromboplastina parcial" porque ele é efetuado com o emprego da cefalina, a qual é parte da tromboplastina, após extração por meio de clorofórmio.

O TTPa é o tempo que o plasma leva para formar coágulo de fibrina após a mistura com cefalina (tromboplastina parcial), caulim (ativa fator XII) e cálcio. A cefalina é um substituto do fator plaquetário. Avalia o sistema intrínseco e comum. Requer amostra em citrato de sódio a 3,8% na relação de 1:9 (anticoagulante:sangue) e plasma separado por centrifugação. Este teste mede a deficiência de fatores abaixo de 30%.

Valores normais de TTPa (segundos):

- Cão: 6 - 16
- Gato: 9 - 20
- Equino: 27 - 45
- Bovino: 20 - 35

Muitos tipos de ativadores de contato são usados comercialmente para o TTPa, deve-se, portanto, proceder este teste em duplicata e de preferência concomitantemente com um animal normal. Além de se estabelecer valores de referência locais. A coleta não traumática é extremamente importante, pois a contaminação com tromboplastina tecidual pode prolongar o resultado do teste pela ativação do sistema extrínseco. A atividade do fator XIII da coagulação não é avaliada neste teste.

Esperam-se valores de TTPa prolongados em hemofílicos, deficiência de fatores XII, coagulação intravascular disseminada (CID), venenos cumarínicos e doença de Von Willebrand (dependendo da severidade).

### **Tempo de protrombina (TP)**

O TP avalia o sistema extrínseco e comum pela adição de um fator tecidual, estimulando a coagulação pela via extrínseca. Os procedimentos com a amostra são semelhantes aos do TTPa.

Método: Faz-se a adição de tromboplastina tecidual (fator extrínseco) conseqüente recalcificação da amostra, cronometrando o tempo até a formação do coágulo de fibrina.

Valores normais de TP (segundos):

- Cão: 6,4 - 7,4
- Gato: 7 - 11,5
- Equino: 9,5 - 11,5

Os valores de referência variam na literatura, deve-se, portanto, proceder este teste em duplicata e estabelecer valores de referência locais. Pode-se usar um paciente controle. Se a diferença for de mais de 5 segundos tem-se um problema de coagulação. Espera-se TP prolongado em deficiência do fator VII, CID, veneno cumarínico e deficiência de fator I (fibrinogênio abaixo de 50mg/dL).

### **Produtos de degradação da fibrina (PDFs)**

A fibrina é quebrada pela plasmina em fragmentos. O aumento de PDFs indicam excessiva fibrinólise.

Método: aglutinação em látex por kits comerciais. Usado para diagnóstico de coagulação intravascular disseminada. Também aumentado após cirurgia.

Valores normais de PDF ( $\mu\text{g/mL}$ ):

- Cão: < 40
- Gato: < 8
- Equino: < 16.
- 

### **Fibrinogênio**

O fibrinogênio é uma proteína de coagulação (fator I da coagulação) produzida pelo fígado. Também é chamado de proteína de fase aguda porque sua concentração no sangue aumenta rapidamente em resposta a processos inflamatórios. A amostra de sangue deve ser coletada com EDTA 10%. O método consiste no aquecimento do plasma a 56-58°C por 3 minutos e posterior centrifugação. O aquecimento do plasma precipita o fibrinogênio e a centrifugação o separa dos demais constituintes plasmáticos. Faz-se então a leitura das proteínas plasmáticas totais por refratometria e posteriormente a leitura do plasma com o fibrinogênio precipitado. A diferença dos valores obtidos refere-se a concentração de fibrinogênio plasmático. Está diminuído na CID.

Valores normais de fibrinogênio (g/L):

- Cão: 1 – 5
- Gato: 0,5 – 3
- Cavalo: 1 – 4
- Bovinos: 2 – 7

### **Distúrbios da coagulação**

#### **Desordens plaquetárias**

A avaliação das plaquetas é realizada em dois níveis: quantitativos e qualitativos. Para avaliação quantitativa faz-se a contagem de plaquetas. A trombocitopenia (número reduzido de plaquetas) é a anormalidade mais comum das plaquetas.

#### **Desordens plaquetárias quantitativas**

##### **Trombocitose**

É o aumento do número de plaquetas acima do valor de referência para a espécie. A trombocitose pode ser reativa ou primária e ocorre com menos frequência.

- Reativa: doença crônica, deficiência de ferro, hiperadrenocorticismos, neoplasias, desordens no trato digestivo e endócrinas.
- Transitória: mobilização esplênica ou pulmonar (exercício).
- Trombocitose maligna: leucemia granulocítica, megacariocítica.

##### **Trombocitopenia**

É a diminuição do número de plaquetas abaixo do valor de referência para a espécie. A trombocitopenia é a anormalidade mais comum encontrada nas plaquetas e provavelmente é a

causa mais comum de diátese hemorrágica. São cinco os mecanismos que podem levar a uma trombocitopenia:

**1. Produção diminuída de plaquetas:** Os megacariócitos se encontram reduzidos. É indicado fazer uma avaliação de medula óssea para diagnóstico diferencial. Dentre as causas mais comuns, estão as seguintes:

- Mieloptise (geralmente pancitopenia)

Células neoplásicas

Mielofibrose

- Drogas (geralmente pancitopenia).

a. Quimioterapia – antagonistas do ácido fólico (vitamina B<sub>12</sub>).

b. Excesso de estrógeno – megacariocitopenia reduzida.

c. Antibióticos e agentes anti-fúngicos.

- Estágios crônicos de doenças rickettsiais tais como erlichiose canina (geralmente leva a pancitopenia).

Destruição imunomediada de precursores megacariocíticos.

- Redução seletiva de plaquetas – pancitopenia pode não estar presente.

Produção defeituosa de trombopoetina.

Hereditariedade ou congenicidade.

**2. Destruição de plaquetas:** Os megacariócitos se encontram aumentados. É indicado fazer uma avaliação de medula óssea para diagnóstico diferencial de problema de produção. Dentre as causas mais comuns, estão:

- Infecção: Produtos de endotoxinas cuja causa aparente é agregação e renovação, erlichiose, bactéria, vírus.

- Tumores – Hemangioma / hemangiossarcoma

- Imuno-mediada ou auto-imune.

- Drogas – podem servir como carreadoras de proteínas as quais revestem as plaquetas e são reconhecidas por anticorpos. Removidas pelo sistema RE.

**3. Consumo de plaquetas:** como na coagulação intravascular disseminada (CID). Não é condição primária e ocorre secundariamente a uma ampla variedade de doenças. Atividade fibrinolítica produz quebra da fibrina aumentando os produtos de degradação (PDF) que têm potente atividade anticoagulante, aumentando a diátese. Os megacariócitos se encontram aumentados.

**4. Seqüestro ou distribuição anormal de plaquetas:** Megacariócitos aumentados na medula óssea.

Esplenomegalia.

Hepatomegalia.

Hipotermia

Endotoxemia

Neoplasia

**5. Perda de plaquetas**

Megacariócitos aumentados na medula óssea:

Perda massiva de sangue.

Transfusão incompatível.



## Desordens plaquetárias qualitativas

### Trombocitopatia

É a falha no mecanismo de aderência (plaqueta/vaso), agregação (plaqueta/plaqueta) ou uma falha na liberação de constituintes intracelulares ou qualquer combinação destes fatores. Trombocitopatias podem ser congênicas ou adquiridas e o número de plaquetas pode estar normal.

#### 1. Trombocitopatias congênicas

- a. **Doença de von Willebrand:** pode afetar várias espécies animais e o homem. O fator de von Willebrand é uma glicoproteína multimérica produzida por megacariócitos e células endoteliais que facilita a adesão da plaqueta ao colágeno e vaso sanguíneo, a agregação plaquetária e, no plasma se associa com fator VIII estabilizando este fator e aumentando seu tempo de circulação. É a mais comum das desordens de sangramento hereditárias, sendo reconhecidas em mais de 54 raças de cães. Existem três tipos da doença:
  - Tipo I: multímeros normais, mas diminuídos.
    - Severidade variável
    - Forma mais comum
    - Comum em dobermans
  - Tipo II: Multímeros com defeito de função
    - Severidade variável
    - Comum em Ponter alemão
  - Tipo III: forma mais severa
    - Comum no Scottish terrier
- b. Trombopatia trombastênica canina: Falha na agregação. Observada em Otterhounds, Scottish Terriers, Foxhounds.
- c. Trombopatia do Basset Hound: Falha na agregação.
- d. Síndrome do Chediak-Higashi: Agregação plaquetária diminuída. Observada em bovinos e gatos.

#### 2- Trombocitopatias adquiridas

São multifatoriais, mas essencialmente envolve defeitos de ativação, aderência, agregação e reação de liberação por causa de substâncias anormais no plasma ou anormalidade estrutural adquirida.

- a. Doença renal com uremia: adesividade reduzida ao endotélio. Esta anormalidade das plaquetas se deve aos metabólitos da uréia como o ácido guanidino succínico e fenólico
- b. Coagulação intravascular disseminada: Produtos de degradação da fibrina envolvem as plaquetas e reduzem a sua aderência e bloqueiam receptores de fibrinogênio, reduzindo a agregação.
- c. Disproteïnemias (macroglobulinemia) ou mieloma múltiplo: Afetam a membrana da plaqueta diminuindo a aderência.
- d. Drogas: Anti-inflamatórios não esteroidais. A aspirina gera uma inibição irreversível das plaquetas porque inibe tromboxano A<sub>2</sub> (inicia a agregação) e a função plaquetária fica dependente de uma nova produção. Drogas como Buprofen, fenilbutazona, indometacina causam inibição plaquetária reversível. Sulfonamidas, penicilinas, tranquilizantes prozamínicos causam respostas variáveis.

A avaliação para as desordens hemostáticas depende de uma história clínica detalhada e de um bom exame físico. Na história clínica deve-se destacar história de sangramentos, trauma, cirurgia e levar em consideração idade, sexo, raça e terapia com drogas. No exame físico deve-se observar o tipo de sangramento. Hemorragias superficiais como petéquias e equimoses são sinais de problemas na hemostasia primária (trombocitopenia ou trombocitopatia) ou lesão vascular. Hemorragias, hematomas e hemartroses são prováveis sinais de problemas na hemostasia secundária, ou seja, nos fatores de coagulação. No caso de petéquias e equimoses, aconselha-se a seguir os seguintes passos:

1. Contagem de plaquetas: no caso de uma trombocitopenia, procurar a causa. Os possíveis mecanismos para a trombocitopenia são: produção diminuída, destruição, consumo, seqüestro ou perda. Para diferenciar problemas de produção pode-se fazer aspirado de medula óssea e observar o número e morfologia dos megacariócitos. No caso das plaquetas estarem em número normal, seguir o passo 2.
2. Tempo de sangramento na mucosa oral: no caso do tempo estar prolongado, tem-se uma trombocitopatia, deve-se, portanto diferenciá-la em congênita ou adquirida. No caso do tempo de sangramento estar normal, deve-se suspeitar de desordem vascular.

## **Coagulopatias**

As coagulopatias podem ser hereditárias ou adquiridas.

### **1. Coagulopatias hereditárias**

São relacionadas a problemas de seleção genética. Sempre suspeitar em animais jovens, apresentando diátese hemorrágica.

#### **1.1. Hemofilia A**

- Sangramento severo em cães, cavalos, gatos e bovinos Hereford.
- Somente machos desenvolvem a doença, mas as fêmeas são portadoras.
- Sinais clínicos: hemartrose, hematomas e sangramento pelo trato gastrointestinal e urogenital.
- Ocorre pela perda do fator VIII na via transplacentária.
- Afeta animais jovens.
- Tratamento: Transfusão de sangue fresco, plasma ou crioprecipitado. A argenina-vasopressina sintética (DDAVP) pode promover a liberação do fator VIII dos hepatócitos para a circulação.
- Diagnóstico:
  - Tempo de sangramento: normal (diferente da doença de von Willebrand).
  - TP: normal.
  - TTPa: prolongado.

#### **1.2. Doença de von Willebrand**

- Não é deficiência de Fator VIII, esse apenas não se estabiliza.
- É a mais comum das coagulopatias hereditárias (54 raças).
- Diagnóstico:
  - Tempo de sangramento: prolongado.
  - TP: normal.
  - TTPa: pode estar prolongado.

#### **1.3. Hemofilia B**

- Fator IX
- Ocorre em cães e gatos (raro).

- Afeta somente machos.
- Diagnóstico:
  - TP: normal.
  - TTPa: prolongado.
- 1.4. Deficiência de fator VII
  - Sistema extrínseco.
  - Afeta Beagles e várias outras raças.
  - Diagnóstico:
    - TP: prolongado
    - TTPa: normal
- 1.5. Deficiência de fator XII
  - Sistema intrínseco.
  - Afeta Poodles, Pointer Alemão, Sharpei e gatos.
  - Diagnóstico:
    - TP: normal.
    - TTPa: prolongado.
- 1.6. Deficiência de fator XI
  - Sistema intrínseco.
  - Afeta cães e cabras.
  - Diagnóstico:
    - TP: normal.
    - TTPa: prolongado.
- 1.7. Deficiência de fator X
  - Sistema comum.
  - Afeta Cocker Spaniel e Jack Russel Terrier
  - Diagnóstico:
    - TP: prolongado.
    - TTPa: prolongado.

## 2. Coagulopatias adquiridas

### 2.1. Deficiência de vitamina K

- Os fatores II, VII, IX e X são vitamina K dependentes, ou seja, exigem vitamina K para sua formação.
- Maior causa: Antagonistas da vitamina K – Rodenticidas (ex: Warfarina e cumarínicos)
- Outras causas: Deficiência de sais biliares no intestino impede a absorção da vitamina K que é lipossolúvel.
- Doença hepática pode resultar na falta de utilização da vitamina.
- Diagnóstico:
  - TP: prolongado
  - TTPa: prolongado

### 2.2. Doença hepática

O fígado é o local de síntese de quase todos os fatores de coagulação. A meia vida do fator VII é mais curta do que as dos demais, por isso a determinação de sua atividade é utilizada como auxílio diagnóstico de doença hepática aguda ou crônica. Na doença hepática, fatores dos três sistemas (intrínseco, extrínseco e comum) são afetados, porém este quadro é observado

somente em problemas severos. 50% dos gatos com lipidose hepática apresentam alterações nos fatores de coagulação. Para o diagnóstico da doença hepática podem ser utilizados os testes de função hepática, biópsia ou punção aspirativa com agulha fina.

Diagnóstico: TP e TTPa: prolongados.

### **2.3. Coagulação intravascular disseminada (CID)**

É um distúrbio na qual ocorre trombose intravascular difusa na microvasculatura. É uma doença secundária de consumo, deve-se sempre buscar sua causa. Esta se manifesta como um defeito hemostático causado pela redução dos fatores da coagulação e plaquetas, resultando da sua utilização no processo trombótico. As propriedades anticoagulantes dos PDFs gerados pela ativação do sistema fibrinolítico também contribuem para o defeito hemostático.

- Várias doenças ativam a cascata de coagulação, consumindo fatores e plaquetas.
- Principais fatores – V, VII, e I (fibrinogênio).

Causas:

- Aumento do contato – ativação do sistema intrínseco
  - Viremia.
  - Endotoxemia.
- Aumento da Tromboplastina tecidual - ativa sistema extrínseco.
  - Trauma / necrose tecidual.
  - Hemólise intravascular.

Conseqüências da coagulação intravascular disseminada:

- Sangramento.
- Disfunção de órgãos pela deposição de fibrina.
- Anemia hemolítica.

Diagnóstico:

- TP: prolongado
- TTPa / TCa: prolongado
- PDF: aumentado
- Contagem de Plaquetas: diminuída
- Tempo de sangramento: prolongado
- Fibrinogênio: diminuído
- Fragmentos de eritrócitos podem ser vistos no esfregaço sanguíneo.

A hemostasia é o resultado do bom funcionamento das plaquetas, fatores de coagulação e vasos sanguíneos trabalhando em conjunto para manter a fluidez do sangue e reparar lesões vasculares. Problemas em qualquer ponto deste balanço podem resultar em coagulação excessiva (trombose) ou hemostasia inadequada (sangramento). O uso dos testes de coagulação tem por objetivo a procura da causa do problema hemostático adicionalmente a uma boa avaliação clínica.

## **BIBLIOGRAFIA**

DUCAN, R. J., PRASSE, K. W., & MAHAFFEY, E. A. *Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology* 3rd ed., Ames; Iowa State University Press, 1994.

- FELDMAN, B. F.; ZINKL, J.G., JAIN, N. C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5<sup>a</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
- HARVEY, J. W. *Atlas of Veterinary Hematology – Blood and Bone Marrow of Domestic Animals*. WB Saunders:Philadelphia, 2001.
- JAIN, N. C. *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.
- MESSICK, J.B. *Hematology*. The Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice. 1 ed. Philadelphia, WB Saunders, 2003.
- MEYER, D. J., & HARVEY, J. W. *Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and Diagnosis*. 2nd ed. Philadelphia; WB Saunders Co., 1998.
- THRALL, M. A. et al., *Veterinary Hematology and clinical Chemistry*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004.
- WILLARD, M. D., TVEDTEN, H., & TURNWALD, G. H. *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods* . 2nd ed. Philadelphia; WB Saunders Co., 1994.

### 3. TRANSFUSÃO SANGÜÍNEA EM VETERINÁRIA

*Luciana de Almeida Lacerda*

#### **O histórico da transfusão sangüínea**

A prática da transfusão sangüínea teve início no século passado na medicina humana, e vem evoluindo desde então. A primeira transfusão sangüínea entre seres humanos de que se tem registro ocorreu no século XVII. Entretanto, foi somente no início do século XX que as conquistas tecnológicas permitiram o uso mais difundido deste recurso. O reconhecimento das diferenças entre os indivíduos para a escolha do doador, o uso dos anticoagulantes durante a coleta e o domínio das técnicas de esterilização foram fundamentais para esta evolução. O fracionamento do sangue, que permite o uso isolado de cada um de seus elementos, e a identificação das doenças transmissíveis representam os avanços mais recentes desta forma de tratamento.

Na medicina veterinária, o processo foi um pouco mais lento, mas o interesse pela medicina transfusional tem crescido nestes últimos anos na medicina veterinária e atualmente existem grandes bancos de sangue veterinários em vários países do mundo que tornaram possíveis a prática da medicina transfusional veterinária de alta qualidade. Entretanto, sabe-se que isto não depende somente da disponibilidade de componentes sangüíneos e do uso adequado de cada um deles, mas também da qualidade destes componentes. Respeitar normas adequadas para coleta, processamento e armazenamento é a melhor maneira de alcançar os melhores resultados.

No Brasil, existem serviços de hemoterapia veterinária pouco especializados e recentemente um banco de sangue veterinário está se desenvolvendo na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ – USP). Modificações na prática da hemoterapia atualmente realizada nos hospitais veterinários brasileiros são necessárias, como o estabelecimento de programas de doadores para melhor atender a demanda de cada hospital ou clínica veterinária, a separação de hemocomponentes para melhor atender cada caso em que exista a necessidade de transfusão sangüínea e o controle de qualidade de seus produtos. A pesquisa nesta área precisa ser motivada para possibilitar uma melhor capacitação de médicos veterinários nesta área e melhorias na qualidade e rapidez do atendimento dos animais que necessitam do serviço de hemoterapia.

#### **Os tipos sangüíneos nos animais domésticos**

Os grupos sangüíneos são definidos por antígenos espécie-específicos presentes na superfície dos eritrócitos. A maior parte dos antígenos é um componente integral de membrana composto por

carboidratos complexos associados a lipídeos ou proteínas inseridos na membrana eritrocitária, sendo denominados de glicolipídeos ou glicoproteínas. Entretanto, estes antígenos também podem estar presentes nas plaquetas, nos leucócitos, nos tecidos e em fluídos (soro, saliva) do organismo. Contudo, a especificidade sorológica nestes casos é determinada pela estrutura do carboidrato.

Os antígenos eritrocitários podem variar em imunogenicidade e significado clínico e a detecção e a descrição destes ainda é feita através de testes sorológicos (anticorpos policlonais ou monoclonais). Na medicina veterinária, o significado clínico dos grupos sanguíneos está associado às reações transfusionais e à isoeritrolise neonatal. Os antígenos determinantes dos grupos sanguíneos, por serem marcadores genéticos, podem também ser utilizados para resolver casos de disputa de paternidade, além disso, mesmo que ainda não comprovado, podem estar envolvidos na anemia hemolítica imunomediada e podem servir como marcadores de doenças.

Os anticorpos contra os antígenos presentes nos eritrócitos são componentes importantes envolvidos nas reações transfusionais, são encontrados no plasma/soro e geralmente da classe IgM. Existem dois tipos associados à transfusão: os anticorpos de ocorrência natural e aqueles adquiridos após a exposição a outro tipo sanguíneo. Os anticorpos de ocorrência natural (aloanticorpos) estão presentes antes da exposição do animal a outro tipo sanguíneo. A síntese destes anticorpos se dá pela exposição a organismos como plantas, bactérias, protozoários e helmintos, que possuem moléculas similares ou idênticas aos antígenos encontrados na superfície dos eritrócitos e por isso podem levar a uma reação cruzada. Os anticorpos adquiridos são formados apenas após a exposição a outro tipo sanguíneo (seja por uma transfusão de sangue ou pela via transplacentária), quando ocorre a sensibilização e imunoestimulação para sua produção. Estas diferenças entre anticorpos influenciam o tipo e a severidade de uma reação transfusional, ou seja, ela pode ser aguda ou tardia, severa ou moderada.

Em humanos existe o sistema de grupos sanguíneos ABO, enquanto que os animais apresentam uma variedade de diferentes sistemas. O conhecimento sobre os tipos sanguíneos de diferentes espécies é de grande importância na medicina veterinária, visto que uma transfusão sanguínea incompatível pode resultar em uma reação transfusional hemolítica severa e até levar o animal à morte, em alguns casos.

## **Caninos**

Os tipos sanguíneos da espécie canina são estudados por diversos grupos de pesquisadores de diferentes países. Nos Estados Unidos os tipos sanguíneos desta espécie são designados pela sigla DEA (dog erythrocyte antigen). Atualmente o cão apresenta cinco grupos sanguíneos compostos por sete determinantes antigênicos, ou seja, DEAs 1 (subgrupos 1.1, 1.2 e 1.3), 3, 4, 5, 7 (Tabela 1). Os

grupos DEA 6 e DEA 8 foram reconhecidos na Segunda Oficina Internacional em Imunogenética Canina, mas devido à inexistência de anti-soros para estes antígenos e à dificuldade na obtenção destes, tais anti-soros não têm sido estudados.

Pesquisadores do Japão desenvolveram 16 anti-soros, mas a comparação entre os anti-soros japoneses e americanos apenas conseguiu detectar especificidade semelhante em poucos grupos. Além disso, estes reagentes não são reconhecidos internacionalmente e não estão disponíveis comercialmente.

O grupo DEA 1 é o mais estudado, sendo a prevalência deste grupo bastante alta nos diferentes países em cães de raça e mestiços. A importância deste grupo está no fato de que anticorpos naturais contra ele não foram documentados, não ocorrendo reações nas primeiras transfusões. Porém, uma vez sensibilizados em transfusões prévias, os pacientes podem desenvolver reações transfusionais hemolíticas graves se receberem o mesmo tipo sanguíneo em uma transfusão seguinte. Um cão pode apresentar qualquer combinação dos antígenos eritrocitários, com exceção dos antígenos do sistema DEA 1 (por serem alelos do mesmo locus). Por exemplo: DEA 1.1, 3 e 4 ou DEA 1.1, 4 e 7 (Tabela 2).

Tabela 1. Prevalência dos antígenos eritrocitários caninos.

| Autor                  | Nº de cães | Prevalência do grupo sanguíneo DEA (%) |     |    |    |    |    |
|------------------------|------------|--|-----|----|----|----|----|
|                        |            | 1.1                                    | 1.2 | 3  | 4  | 5  | 7  |
| Swisher & Young (1961) | 332        | 40                                     | 20  | 6  | 98 | 22 | 45 |
| Suzuki et al. (1975)   | 217        | 36                                     | 51  | 10 | nd | nd | nd |
| Vriesendorp (1976)     | 31         | 37                                     | 4   | 5  | 56 | 8  | 31 |
| Ejima et al. (1986)    | 545        | 44                                     | 22  | 24 | nd | nd | nd |
| Giger et al. (1995)    | 224        | 33                                     | 7   | nd | 97 | nd | 8  |
| Novais (1996)          | 150        | 51                                     | 40  | nd | nd | nd | nd |

nd = não descrito. Fonte: Novais (2003).

Os grupos DEA 3 e DEA 5 apresentam baixa incidência na população canina dos Estados Unidos (6% e 10%, respectivamente). Contudo, os cães da raça Greyhound apresentaram uma prevalência de 23% para o grupo DEA 3. O fator DEA 7 não é um antígeno integral de membrana eritrocitária. Acredita-se que seja secretado no plasma e adsorvido sobre a superfície das hemácias. Estudos indicam que estes grupos podem provocar reações transfusionais tardias, caracterizadas pelo seqüestro e destruição das hemácias no baço em um período de 72 horas. Sendo assim, os cães positivos para estes grupos não devem ser usados como doadores de sangue, exceto para cães do mesmo tipo sanguíneo.

A prevalência do grupo DEA 4 é bastante alta na população canina, atingindo índices de 98%. A



importância deste grupo esta no fato de que anticorpos naturais anti-DEA 4 raramente ocorrem e, além disso, os cães DEA 4 negativos sensibilizados não apresentam hemólise intra ou extravascular, após terem sido transfundidos com sangue DEA 4 positivo, ou seja, os cães negativos para todos os outros grupos e positivos somente para o DEA 4 são considerados “doadores universais”. Sendo assim, os cães que só apresentam reações positivas para o grupo DEA 4 são os melhores doadores de sangue. Apenas uma ocorrência de reação transfusional hemolítica foi recentemente descrito na literatura.

Tabela 2. Freqüência de combinações entre os grupos sanguíneos em cães domésticos mestiços no Estado de São Paulo (n = 150).

| Combinações de grupos sanguíneos  | Nº de animais | Porcentagem (%) |
|-----------------------------------|---------------|-----------------|
| DEA 1.1 e DEA 4                   | 52            | 35              |
| DEA 1.2/1.3 e DEA 4               | 46            | 32,5            |
| DEA 1.1, DEA 3 e DEA 4            | 10            | 7               |
| DEA 1.1, DEA 4 e DEA 7            | 6             | 4               |
| DEA 1.2/1.3, DEA 4 e DEA 7        | 6             | 4               |
| DEA 1.1, DEA 4 e DEA 5            | 6             | 4               |
| DEA 1.1                           | 4             | 3               |
| DEA 1.2/1.3                       | 4             | 3               |
| DEA 4 e DEA 7                     | 4             | 3               |
| DEA 1.2/1.3, DEA 4 e DEA 5        | 2             | 1,5             |
| DEA 1.1, DEA 3, DEA 4 e DEA 5     | 2             | 1,5             |
| DEA 1.1 e DEA 3                   | 2             | 1,5             |
| DEA 1.2/1.3, DEA 3, DEA 4 e DEA 7 | 2             | 1,5             |
| DEA 1.1, DEA 3, DEA 4 e DEA 7     | 2             | 1,5             |
| DEA 1.2/1.3, DEA 3 e DEA 4        | 1             | 0,6             |
| DEA 1.1, DEA 4, DEA 5 e DEA 7     | 1             | 0,6             |

Fonte: Novais (2003).

## Felinos

Os tipos sanguíneos dos felinos e as incompatibilidades entre eles, incluindo modo de herança genética, severidade das reações transfusionais, e a incidência de isoeritrólise têm sido estudados durante as últimas duas décadas.

O sistema de grupos sanguíneos em felinos possui três tipos: A, B e AB, sendo que este último é muito raro. O tipo A é dominante sobre B (na maior parte dos casos), gatos tipo A podem ser homozigotos AA ou heterozigotos AB. Os animais tipo B são sempre homozigotos BB. A exceção à regra é o grupo AB que é muito raro, mas no qual parece que A e B expressam codominância. Entretanto, os antígenos de superfície eritrocitária deste sistema são diferentes daqueles do sistema

ABO humano.

Os felinos apresentam anticorpos de ocorrência natural (também conhecidos como aloanticorpos) contra o antígeno do tipo sanguíneo que não possuem e o teste de compatibilidade e a tipagem sanguínea se tornam muito importantes na prevenção de reações transfusionais na prática da clínica veterinária. Apenas o felino tipo AB não possui anticorpos de ocorrência natural, portanto pode receber sangue de todos os tipos do sistema e é conhecido como receptor universal entre os felinos.

A incompatibilidade sanguínea pode causar reações potencialmente fatais sob duas circunstâncias. A primeira é a reação hemolítica transfusional, especialmente quando um gato tipo B recebe sangue tipo A. A meia-vida dos eritrócitos transfundidos entre gatos compatíveis (isto é, tipo A para tipo A ou tipo B para tipo B) é de 29 a 39 dias. A transfusão de sangue tipo A em um gato tipo B resulta em uma rápida destruição do sangue do doador (meia-vida de 1,3 horas) com severos sinais clínicos (hipotensão, defecção, vômitos, hemoglobinemia, depressão neurológica) e até a morte. A transfusão de sangue tipo B em um gato tipo A produz sinais clínicos leves, a meia-vida dos eritrócitos transfundidos é de 2,1 dias. Devido à presença destes anticorpos de ocorrência natural, a prova de compatibilidade sanguínea deve ser realizada antes da primeira transfusão (especialmente naquelas raças de alta incidência do tipo B e AB). A segunda reação de incompatibilidade é a isoeritrólise neonatal felina, que ocorre durante a fase de amamentação de filhotes tipo A ou AB, nascidos de uma fêmea tipo B. A reação de incompatibilidade é causada pelos aloanticorpos anti-A da fêmea que são transferidos aos filhotes pelo colostro ou pelo leite durante o primeiro dia de vida e que destroem os eritrócitos tipo A ou AB. Os filhotes podem morrer dentro de poucos dias.

Estudos realizados no mundo todo revelam que o tipo A é o tipo sanguíneo mais comum. Entretanto, observou-se que a proporção dos gatos tipo B varia consideravelmente de acordo com a região geográfica (Tabela 3). A frequência de gatos tipo B também varia muito entre raças (Tabela 4), enquanto que gatos tipo AB são raros. Estudos recentes demonstraram que os felinos selvagens possuem os mesmo tipos sanguíneos dos gatos domésticos.

O tipo A é de longe o tipo mais prevalente em felinos, mas entre certas raças puras, a frequência do tipo B é bem mais alta (Devon Rex, British Shorthair, Exotic Shorthair, Turkish Van and Turkish Angora), apesar das percentagens variarem de zero a 60% dependendo da raça. Entre os SRD's a porcentagem alta do tipo B foi visto em algumas regiões geográficas dos EUA.

O conhecimento da distribuição dos grupos sanguíneos na população local de felinos pode auxiliar na determinação do risco da ocorrência de reações transfusionais, enquanto que o conhecimento dos títulos de aloanticorpos pode auxiliar na determinação da severidade destas reações. Entretanto, parece que a incidência de reações transfusionais de significado clínico é baixa, e isto provavelmente reflete uma falha no reconhecimento das complicações resultantes de uma

transfusão. É essencial que se faça um teste de compatibilidade entre doador e receptor antes da primeira transfusão em felinos. Os métodos mais indicados para se assegurar da compatibilidade entre doador e receptor são ambos: prova cruzada (teste de compatibilidade sangüínea) e a tipagem sangüínea.

### Teste de compatibilidade sangüínea (prova cruzada)

A compatibilidade entre o sangue de dois indivíduos é determinada através a chamada "Prova Cruzada". O sangue do doador é testado contra o sangue do receptor, para verificar a ocorrência de aglutinação das hemácias (formação de grumos - aglutinação), indicativa de incompatibilidade.

Tabela 3. Freqüência de tipos sangüíneos em gatos domésticos de diferentes países.

| País           | N    | Tipo A (%) | Tipo B (%) | Tipo AB (%) | Referências              |
|----------------|------|------------|------------|-------------|--------------------------|
| Austrália      | 1895 | 73,3       | 26,3       | 0,4         | Auer & Bell (1981)       |
| Austria        | 101  | 97         | 3          | 0           | Giger et al (1992)       |
| Inglatera      | 477  | 97,1       | 2,9        | 0           | Holmes (1950)            |
| Finlândia      | 61   | 100        | 0          | 0           | Giger et al (1992)       |
| França         | 350  | 85,1       | 14,9       | 0           | Eyquem et al (1962)      |
| Alemanha       | 600  | 94,0       | 6,0        | 0           | Giger et al (1992)       |
| Holanda        | 95   | 95,8       | 3,1        | 1,1         | Giger et al (1992)       |
| Itália         | 401  | 88,8       | 11,2       | 0           | Giger et al (1992)       |
| Japão          | 265  | 89,3       | 1,0        | 9,7         | Ejima et al (1986)       |
| Escócia        | 70   | 97,1       | 2,9        | 0           | Giger et al (1992)       |
|                | 137  | 87,6       | 8,0        | 4,4         | Knottenbelt et al (1999) |
| Suíça          | 1018 | 99,6       | 0,4        | 0           | Giger et al (1992)       |
|                | 1072 | 99,7       | 0,3        | 0           | Giger et al (1989)       |
| Estados Unidos | 3785 | 98,1       | 1,7        | 0,1         | Giger et al (1991b)      |

Fonte: Knottenbelt (2002).

Tabela 4. Frequência de grupos sanguíneos em quatro raças de felinos de diferentes países.

| <b>Raça</b>          | <b>País</b>    | <b>N</b> | <b>Tipo A (%)</b> | <b>Tipo B (%)</b> | <b>Tipo AB (%)</b> |
|----------------------|----------------|----------|-------------------|-------------------|--------------------|
| Americano pêlo curto | Estados Unidos | 15       | 100               |                   |                    |
| Inglês pêlo curto    | Estados Unidos | 85       | 41,2              | 58,8              |                    |
|                      | Reino Unido    | 105      | 41,0              | 57,1              | 1,9                |
| Persa                | Estados Unidos | 170      | 75,9              | 24,1              |                    |
|                      | Reino Unido    | 16       | 87,5              | 12,5              |                    |
|                      | Itália         | 38       | 97,4              | 2,6               |                    |
| Siamês               | Alemanha       | 25       | 84,0              | 16,0              |                    |
|                      | Estados Unidos | 99       | 100               |                   |                    |
|                      | Reino Unido    | 4        | 100               |                   |                    |

Fonte: Knottenbelt (2002).

A prova cruzada completa é realizada em duas etapas. A 1ª etapa ou *Major Crossmatching* consiste em misturar uma pequena quantidade do sangue total ou suspensão de hemácias do sangue doador com uma pequena quantidade de soro do receptor. O resultado positivo é dado a partir da observação de grumos (macroscopicamente) e a aglutinação dos eritrócitos (microscopicamente). Esta é a etapa é considerada a mais importante. Na 2ª etapa ou *Minor Crossmatching*, uma pequena quantidade de sangue total ou uma suspensão de hemácias do sangue do receptor é misturada com o soro do doador e, do mesmo modo, pesquisa-se a formação de grumos de hemácias. A ausência de grumos nas duas etapas da prova cruzada significa que a transfusão pode ser realizada.

Ao realizar a prova, deve-se evitar hemólise durante a coleta e o anticoagulante (EDTA) deve estar em volume adequado para não diluir a amostra. Laboratórios de referência, em geral, realizam o teste completo em tubos a temperatura ambiente, a 37°C e a 4°C (opcional), incluindo o teste de antiglobulina canina polivalente (Teste de Coombs indireto). O sangue deve ser compatível a 37°C (máxima atividade dos anticorpos anti-DEA 1.1. e anti-DEA 1.2). Alguns autores alegam que incompatibilidades a 4°C não causam reações transfusionais.

A prova cruzada pode ser realizada através de uma técnica rápida em lâmina de microscopia ou através de uma técnica mais demorada em tubos de ensaio. A técnica rápida em lâmina de microscopia consiste nos seguintes passos:

- 1) Coletar 0,5 a 1mL de sangue do doador em dois frascos (um com EDTA e outro sem anticoagulantes), identificar os tubos.
- 2) Coletar 0,5 a 1mL de sangue do receptor em dois frascos (um com EDTA e outro sem anticoagulantes), identificar os tubos.

- 3) Centrifugar o sangue do doador e do receptor a 1000-1500g por 5-10 min para separar os eritrócitos do plasma e do soro.
- 4) Separar o plasma e as células do doador e do receptor sempre utilizando pipetas diferentes.
- 5) Preparar uma solução a 4% do receptor e uma do doador (0,2 mL do concentrado eritrócitos e 4,8 mL de solução salina). Esta diluição em solução salina retarda a formação de rouleaux e facilita a observação microscópica, mas resulta em uma aglutinação menos intensa. Uma diluição maior pode provocar a não reatividade dos aloanticorpos e pode ainda não eliminar a formação de rouleaux totalmente.
- 6) Identificar 4 lâminas de microscopia: Controle Doador (eritrócitos do doador + soro/ plasma do doador), *Major Crossmatch* – Doador x Receptor (eritrócitos do doador + soro/ plasma do receptor), *Minor Crossmatch* – Receptor x Doador (eritrócitos do receptor + soro/ plasma doador), Controle Receptor (eritrócitos do receptor + soro/ plasma do receptor).
- 7) Em cada uma das lâminas, mistura uma gota do soro/ plasma e uma gota da suspensão de eritrócitos ou duas gotas do soro/ plasma e uma gota do concentrado de eritrócitos.
- 8) Misturar com uma espátula/pipeta ou outro material disponível.
- 9) Misturar por inclinação da lâmina e observar se ocorre aglutinação macroscópica dentro de 2 minutos.
- 10) Colocar uma lâmina sobre a mistura e observar se ocorre aglutinação microscópica (objetivas 40x a 100x) dentro de 5 minutos.
- 11) Verificar se há aglutinação, se ocorrer é positivo (incompatível).

A seguir, a técnica em tubos de ensaio:

- 1) Coletar 0,5 a 1 mL de sangue do doador em dois frascos (um com EDTA e outro sem anticoagulantes), identificar os tubos.
- 2) Coletar 0,5 a 1 mL de sangue do receptor em dois frascos (um com EDTA e outro sem anticoagulantes), identificar os tubos.
- 3) Centrifugar o sangue dos tubos sem anticoagulante do doador e do receptor a 1000-1500g por 5-10 min para separar os eritrócitos do soro.
- 4) Separar o plasma e as células do doador e do receptor sempre utilizando pipetas diferentes.
- 5) Lavar os eritrócitos três vezes em solução salina antes de preparar a solução a 4%: colocar 0,5 a 1 mL de sangue em um tubo e completar com solução salina, homogeneizar por inversão do tubo e centrifugar em alta velocidade por 1 minuto (ou mais se necessário), remover o sobrenadante e repetir este procedimento mais duas vezes.
- 6) Preparar uma solução a 4% do receptor e uma do doador (0,2 mL do concentrado eritrócitos e 4,8 mL de solução salina).
- 7) Identificar 4 tubos de ensaio: Controle Doador (eritrócitos do doador + soro/ plasma do doador), *Major Crossmatch* – Doador x Receptor (eritrócitos do doador + soro/ plasma do receptor), *Minor Crossmatch* – Receptor x Doador (eritrócitos do receptor + soro/ plasma doador), Controle Receptor (eritrócitos do receptor + soro/ plasma do receptor).
- 8) Adicionar a cada um dos tubos, duas gotas do soro/ plasma e duas gotas da suspensão de eritrócitos, homogeneizar por agitação da parte inferior do tubo.

9) Centrifugar em baixa velocidade por 15-30 segundos, o suficiente para concentrar as células, mas não sedimentá-las totalmente.

10) Homogeneizar os tubos mais uma vez para ressuspender as células e observa-los contra a luz (avaliar aglutinação e/ou hemólise). Confirmar a aglutinação microscopicamente.

11) Se não foi observada aglutinação, deve-se incubar os tubos a 37°C por 30 minutos antes de centrifugá-los e reavaliá-los.

## **Programa de doadores**

Todo banco de sangue veterinário deve ter um programa de doadores. O sangue pode ser obtido através de cães e gatos residentes ou voluntários (da equipe ou de proprietários). Em alguns países, com os avanços dos conceitos de bioética, a utilização de animais residentes não é permitida.

## **Quanto à seleção dos animais doadores**

### **O doador canino ideal**

O doador canino ideal deve ter idade entre 2 a 8 anos, aproximadamente, pesar acima de 28 kg (cães menores podem doar um volume menor), ter temperamento dócil e ser vacinado anualmente contra doenças infecciosas importantes na região, como raiva, cinomose, hepatite infecciosa, leptospirose, parvovirose e coronavirose. A maior parte dos cães não requer sedação ou anestesia, em alguns países, a utilização destas drogas não é permitida durante este procedimento (Abrams-Ogg, 2000, Schneider, 2000). Em cães, 15 a 20% do volume sangüíneo pode ser doado e calcula-se o volume sangüíneo estimado com a seguinte fórmula:

Volume sangüíneo estimado (Litros) = 0,08 – 0,09 x peso (kg)

ou seja, o máximo a ser doado é 16 a 18 mL/kg. Os cães podem doar a cada 3 a 4 semanas, desde que recebam nutrição balanceada em quantidade adequada.

### **O doador felino ideal**

O doador felino ideal deve ter idade entre 2 a 8 anos, aproximadamente, pesar acima de 4,5 kg (tamanho proporcional). Machos são mais procurados por serem maiores. O animal deve ser vacinado anualmente contra doenças infecciosas importantes na região, como FIV e FeLV, e devem ser negativos para PIF. A maior parte dos gatos geralmente é sedada ou anestesiada para a doação de sangue, portanto o comportamento do doador não é tão importante neste caso, mas ainda assim um temperamento dócil facilita o trabalho. Na Escola de Veterinária de Ontário (Canadá), utiliza-se uma combinação de drogas (butorfanol e acepromazina intramuscular associada a quetamina e diazepam intravenoso). Em felinos, 15 a 20% do volume sangüíneo pode ser doado e calcula-se o volume sangüíneo estimado com a seguinte fórmula:

Volume sanguíneo estimado (Litros) =  $0,055 - 0,065 \times \text{peso (kg)}$

ou seja, o máximo a ser doado é 11 a 13 mL/kg. Os felinos doadores podem doar a cada 2 a 3 semanas se o hematócrito estiver normal, mas nestes casos a dieta deve ser suplementada com ferro.

### **Quanto à avaliação dos animais doadores**

Antes de cada doação, o histórico do doador deve ser averiguado, o animal deve ser submetido a um exame físico e a testes de controle laboratoriais. O animal não deve estar sob qualquer tratamento, não deve ter histórico de doença grave ou contato com carrapatos ou outros hospedeiros ou vetores de doenças, não deve ter recebido transfusão sanguínea e, no caso de fêmeas, não deve estar prenhe.

### **Quanto ao manejo dos animais doadores**

Alguns cuidados devem ser tomados durante o procedimento, como procurar fazer a coleta quando o animal estiver em jejum de 12h (a lipemia pode aumentar a formação de rouleaux complicando o teste de compatibilidade e também pode causar ativação plaquetária), realizar assepsia adequada antes do procedimento e pressão no local da venipunção após a doação durante 2 a 5 min para acelerar o processo de coagulação, observar o animal após a doação por 15 a 30 minutos (fraqueza, mucosas pálidas, pulso fraco e outros sinais de hipotensão), realizar soroterapia, se necessária, com solução salina ou soluções cristalóides similares para reposição do volume doado, dividindo as doses para não causar hemodiluição imediata. Procurar fazer com que o animal receba ração industrializada e água após a doação e recomendar ao proprietário que evite exercícios físicos intensos com o animal por alguns dias.

### **Quanto à doação**

A veia jugular é o vaso sanguíneo de eleição para a coleta do sangue e o animal geralmente é colocado em decúbito lateral. Antes da doação aconselha-se palpar a veia e em seguida realizar a assepsia do local. Durante a doação, o bem-estar do doador deve ser constantemente monitorado (coloração das mucosas, pulso, frequência respiratória). O comportamento também é um importante indicador de potenciais problemas que possam ocorrer durante o procedimento. A bolsa de sangue deve ser frequentemente e cuidadosamente homogeneizada durante a doação para evitar a formação de coágulos e possibilitar a continuidade do procedimento. A doação dura em torno de 3 a 10 minutos com vácuo e 5 a 15 sem vácuo em cães, e aproximadamente de 3 a 5 minutos sem a utilização de vácuo em felinos. A hipotensão é um problema frequentemente observado em gatos, portanto deve-se ter mais cuidado durante a coleta de sangue nesta espécie.

## **O sangue total e seus subprodutos**

Transfusão é a palavra que define a terapia intravenosa com sangue total ou seus subprodutos. Há anos, a hemoterapia tem se baseado no uso de sangue total, e este ainda é o principal uso em medicina veterinária. Os subprodutos do sangue incluem seus componentes e derivados. Os componentes sanguíneos são seus subprodutos obtidos através de centrifugação, ou, menos comumente, através de aférese (equipamentos especializados que permitem a separação de apenas um componente do sangue do doador, devolvendo-lhe o restante). O uso dos componentes sanguíneos permite que mais de um paciente possa se beneficiar de apenas um doador e reduz os riscos de uma reação transfusional contra os outros componentes desnecessários, pois muitas vezes o paciente que requer uma transfusão precisa de apenas um componente sanguíneo específico.

Durante a última década houve um aumento do interesse pela medicina veterinária transfusional, acompanhado pelos avanços na oncologia veterinária e pela terapia intensiva, o aumento foi tanto que atualmente os componentes sanguíneos são rotineiramente preparados por certas instituições e empresas comerciais em alguns países da Europa e nos Estados Unidos. Os principais componentes sanguíneos são: concentrado de eritrócitos, plasma (e seus subtipos), concentrado de plaquetas e crioprecipitado.

Ambos, sangue total e seus componentes podem ser utilizados logo após a coleta (produtos frescos) ou após o armazenamento (produtos armazenados/estocados). Antes da II Guerra Mundial, o armazenamento de sangue não era muito utilizado na medicina humana. O doador era chamado conforme a necessidade, seu sangue era coletado e imediatamente transfundido, e isto ainda é muito comum na medicina veterinária. Entretanto, com a preparação de componentes sanguíneos, o interesse por bancos de sangue aumentou muito no passado recente. O armazenamento permite acesso imediato a sangue total e seus subprodutos, mas a coleta sanguínea e a preparação destes podem ser intensivamente trabalhosas e consomem bastante tempo, por isso a existência de um banco de sangue para clínicas/hospitais que realizam transfusões rotineiramente é essencial.

Os derivados sanguíneos são subprodutos protéicos preparados através de métodos bioquímicos (ex. extração por etanol) para processar grandes quantidades de plasma. Os derivados, que incluem soluções de albumina, imunoglobulinas intravenosa e concentrados de fatores específicos, têm tido um uso relativamente limitado na medicina veterinária comparado aos componentes sanguíneos.

Os substitutos sanguíneos, que são produzidos através de métodos biotecnológicos, incluem colóides artificiais, transportadores de oxigênio, substitutos de plaquetas e proteínas de coagulação humana produzidas através da tecnologia de DNA recombinante. Os dois primeiros substitutos têm sido utilizados na medicina veterinária. Atualmente existem diversas formas de preservar as células sanguíneas por um período determinado até o momento da transfusão, alguns exemplos são os



processos de congelamento (criopreservação), a liofilização e, a mais comumente utilizada, a adição de soluções anticoagulantes como o CPDA1.

A seguir estão descritas, de forma resumida, algumas características do sangue total e seus subprodutos e suas principais indicações em medicina veterinária.

## **Sangue total e concentrado de eritrócitos**

### **Sangue total**

O sangue total pode ser fresco (quando utilizado logo após a transfusão) ou armazenado sob refrigeração (1-6 °C). A principal indicação é hemorragia aguda (anemia com hipovolemia). O volume a ser transfundido depende do volume de sangue perdido e na estimativa de perdas futuras. Em geral, entre 10 e 22 mL/kg, e o volume diário não deve exceder este valor, a menos que a perda seja muito severa. Solução salina hipertônica (7,5%), 4-5 mL/kg i.v. por 10 minutos deve ser considerada em casos de choque hemorrágico. A transfusão de sangue total pode ser feita para corrigir anemias conseqüentes de outras causas, mas o concentrado de eritrócitos é preferível nestes casos.

### **Concentrado de eritrócito**

A centrifugação do sangue total é o método indicado para obtenção deste produto e sua armazenagem deve ser feita sob refrigeração (1-6°C). As principais indicações são anemia sem hipovolemia e anemia hemorrágica aguda com administração conjunta de plasma.

### **Observações importantes**

Animais anêmicos e normovolêmicos não requerem que o sangue a ser transfundido seja reaquecido, de fato o aquecimento acelera a deterioração dos eritrócitos armazenados e pode permitir o crescimento de microorganismos contaminantes. Entretanto, no caso de pacientes hipotérmicos ou animais que necessitem um grande volume de sangue o produto deve ser reaquecido antes da transfusão. Pode-se deixar o produto a temperatura ambiente por 30 minutos, utilizar um banho-maria a 37°C por 15 minutos, utilizar equipamentos específicos que aquecem o sangue durante o procedimento, ou ainda adicionar solução salina aquecida (70°C) a uma unidade do produto refrigerada (4°C) em uma diluição de 1:1.

## **Plasma fresco congelado e produtos relacionados**

### **Plasma**

Este produto deve ser separado por centrifugação em até de 6 a 8 horas após a doação. Se o

armazenamento é interrompido por mais de 30 minutos, deve-se utilizar dentro de 24 horas. O armazenamento deste produto depende do tipo de plasma, que pode ser líquido fresco (utilizado logo após sua obtenção), líquido refrigerado (1 a 6°C por 3 meses), fresco congelado (PFC: -30 a -18°C por 1 ano). Quando o produto foi separado acima de 6 horas após a doação e então congelado, ou quando o PFC expira sua validade de 1 ano, ele é chamado de plasma congelado (PC: -30 a -18°C por 5 anos). Não é recomendada a estocagem de sangue felino (ou de outra espécie animal) que tenha sido coletado através de seringa, devido à contaminação bacteriana. As principais indicações são: pressão oncótica plasmática reduzida (efusão pleural severa, edema pulmonar), pacientes sob anestesia em que exista risco de hipotensão ou alteração da ligação da droga com as proteínas, hemorragia devido à intoxicação por antagonistas da vitamina K, deficiência de vitamina K e hemofilia B. O armazenamento do plasma prejudica a manutenção de níveis adequados do fator VIII e do fator de von Willebrand.

### **Observações importantes**

Todo plasma deve ser reaquecido somente antes da transfusão, utilizando um banho-maria entre 30 e 37°C por 20 a 30 minutos.

### **Crioprecipitado e produtos relacionados**

#### **Crioprecipitado**

Este produto pode ser definido como um precipitado do plasma fresco congelado, e também é conhecido como fator antihemofílico crioprecipitado ou CRYO. Este produto contém 50% de fator VIII, 20% de fibrinogênio e porcentagens variadas dos fatores XIII, von Willebrand e VIIIc (procoagulante). Este produto deve ser congelado (-30 a -18 °C) e é válido por até um ano após a data da doação. As principais indicações são: hemofilia A (incomum) e doença de von Willebrand (mais comum).

#### **Criosobrenadante ou Crioprecipitado pobre**

Este produto pode ser definido como o sobrenadante da preparação do crioprecipitado. Este produto deve ser congelado (-30 a -18 °C) e é válido por até 5 anos após a data da doação. Este produto contém albumina, fatores da coagulação exceto o fator de von Willebrand e o fator VIII, assim como, as imunoglobulinas. As principais indicações são: intoxicação por antagonistas da vitamina K, hemofilia B e hipoalbuminemia.

### **Cola ou selante de fibrina**

O crioprecipitado também pode ser utilizado como fonte de fibrinogênio que pode ser adicionado à trombina para a produção de cola ou selante fibrina. Nos Estados Unidos, este produto já foi aprovado pelo FDA e é utilizado como agente hemostático e adesivo em diversos tipos de cirurgias.

### **Observações importantes**

O crioprecipitado e o criosobrenadante devem ser reaquecidos antes da transfusão utilizando um banho-maria entre 30 e 37°C por 5 a 10 minutos. Após este procedimento, estes produtos podem ser deixados a temperatura ambiente (20 a 24°C) e devem ser transfundidos dentro de 6 horas.

### **Plasma rico em plaquetas e produtos relacionados**

#### **Plasma rico em plaquetas e concentrado de plaquetas**

Estes compostos fazem parte dos chamados produtos plaquetários. O seu armazenamento é diferenciado dos produtos anteriormente descritos, pois deve passar por repouso por 1 hora seguido de agitação constante a temperatura ambiente (20 a 24°C) por 3 a 5 dias (já existem bolsas que permitem o armazenamento por até 7 dias em humanos). As principais indicações são: hemorragia por trombocitopenia e trombocitopatia. São eficazes em trombocitopenias causadas por redução da produção (leucemias, anemia aplásica). Menos eficazes nas causadas por aumento do consumo (coagulação intravascular disseminada), seqüestro (esplenomegalia) e destruição (trombocitopenia imunomediada).

#### **Concentrado de plaquetas congelado**

Nos Estados Unidos, o concentrado de plaquetas canino já pode ser obtido através de aférese (plaquetaférese) o que aumenta a concentração de plaquetas por unidade. Além disso, devido aos avanços na criopreservação (como a utilização de dimetil-sulfóxido e outras substâncias como crioprotetores), estes concentrados podem ser congelados a -20°C por até 6 meses.

### **A importância da adequada preservação do sangue**

O desenvolvimento de meios e soluções de preservação sanguínea possibilitou o armazenamento dos eritrócitos e, conseqüentemente, o trabalho dos bancos de sangue. As maiores preocupações ao desenvolver tais soluções eram a manutenção dos níveis de glicose, adenosina trifosfato (ATP) e 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG), ou seja, a manutenção do metabolismo energético eritrocitário através da glicólise. Os eritrócitos possuem funções vitais no organismo como o tamponamento dos

íons hidrogênio e o transporte de oxigênio e de dióxido de carbono, mas para a manutenção destas atividades é necessário energia sob a forma de ATP (adenosina trifosfato). A função do 2,3-DPG eritrocitário é se ligar a deoxihemoglobina e facilitar o transporte de oxigênio. Quando ocorre esta ligação, a molécula de deoxihemoglobina é estabilizada e esta interação a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio e permite sua liberação para os tecidos. Portanto, uma diminuição de 2,3-DPG, que ocorre durante o armazenamento do sangue, interfere neste mecanismo, reduzindo a liberação de oxigênio.

O tempo de armazenamento depende da solução anticoagulante utilizada. O tempo de armazenamento para eritrócitos humanos em CPDA1 é de 35 dias, entretanto, o tempo máximo de armazenamento sugerido é de 20 dias utilizando-se a mesma solução para preservação de eritrócitos caninos. Este curto tempo de armazenagem dificulta e limita a quantidade de sangue canino que pode ser efetivamente armazenada e é uma desvantagem em particular para hospitais de pequenos animais onde o acesso a cães doadores pode ser difícil.

Novas soluções, a princípio, podem ser utilizadas efetivamente em outras espécies como a canina. Entretanto, o tempo de armazenamento deve ser determinado para cada espécie ao invés de utilizar os tempos preconizados para a espécie humana. Em bancos de sangue humanos, soluções salinas, glicosadas e com adenina, também conhecidas como soluções aditivas (exemplo: SAGM), são adicionadas diretamente ao concentrado de eritrócitos, após a centrifugação e remoção do plasma, e o objetivo de seu uso é prolongar o tempo de estocagem destas células por até 42 dias.

As soluções aditivas conhecidas por Adsol (Fenwall Laboratories) e Nutricel (Miles, Inc, Pharmaceutical Division, West Haven, CT) têm capacidade de prolongar o tempo de estocagem dos eritrócitos caninos, mantendo a viabilidade celular aceitável por até 37 e 35 dias respectivamente.

Em casos críticos, nos quais a liberação de oxigênio aos tecidos seja necessária, pode-se utilizar concentrado de eritrócitos ou sangue total desde que armazenados por um período menor do que duas e quatro semanas, respectivamente (assumindo que a estocagem seja realizada com as seguintes soluções: CPD, CPDA1, Adsol, Nutricel ou Optisol). Este fato não é tão importante em gatos, visto que esta espécie possui normalmente baixos níveis de 2,3-DPG. As soluções mais freqüentemente utilizadas atualmente para o armazenamento de sangue canino e felino são o CPD, CPD2 e o CPDA1.

### **As principais soluções anticoagulantes de preservação**

A seguir estão descritas, de forma resumida, as principais soluções anticoagulantes de preservação utilizadas em medicina veterinária. Outros métodos, como a liofilização, criopreservação, e até mesmo outras soluções, ainda estão em desenvolvimento.

## **Heparina**

Componente: Heparina 1000UI/mL.

Uso: 5 a 12,5 UI/mL de sangue.

Para emergências em gatos: colocar 300 a 750 UI (0,3 a 0,75 mL) em seringa de 60 mL.

Tempo máximo (T. máx.) de estocagem de sangue total: 2 dias (cães e gatos).

*Comentários:* Mais utilizada em gatos, não preserva eritrócitos, é a solução mais disponível em clínicas.

Cuidar para não confundir com solução de 10.000 UI/mL (heparinização de receptores menores).

## **Citrato de sódio**

Uso: solução de 3,8% para bolsa de 500 mL ou manipulado (1 mL de solução 3,8% para 9 mL de sangue ou 0,5 g para 100 mL de sangue).

Para emergências em gatos: 6 mL em uma seringa de 60 mL.

T. máx. de estocagem de sangue total: 5 dias (cães).

*Comentários:* Não preserva eritrócitos, obsoleto em pequenos animais, mas ainda muito usado para coleta de plasma em grandes.

***CPD (Citrato fosfato dextrose) – ácido cítrico, citrato de sódio, fosfato e dextrose.***

Uso: 0,14 mL para 1 mL de sangue.

Para emergências em gatos: 7,5 mL em uma seringa de 60 mL.

T. máx. de estocagem de sangue total: 4 semanas (cães, gatos).

*Comentários:* Não recomendado para estoque de concentrado de hemácias, bolsas com 63 mL para 450 mL de sangue e de 70 mL para 500 mL de sangue.

***CPDA1 (Citrato fosfato dextrose adenina1) – ácido cítrico, citrato de sódio, fosfato e dextrose.***

Uso: 0,14 mL para 1 mL de sangue.

Para emergências em gatos: 7,5 mL em uma seringa de 60 mL.

T. máx. de estocagem de sangue total: 5 semanas (cães, gatos).

T. máx. de estocagem de concentrado de eritrócitos: 3 semanas (cães, gatos).

*Comentários:* bolsas com 63 mL para 450 mL de sangue e de 70 mL para 500 mL de sangue.

***Soluções Aditivas: AS-1 (ADSOL), AS-3 (NUTRICEL) e AS-5 (OPTISOL) – dextrose, adenina, manitol e cloreto de sódio.***

Uso: bolsas pré-fabricadas para 450 mL de sangue (bolsa primária com 63 mL de CPD/ CPD2/ CPDA1 e bolsa satélite com 100 mL da solução aditiva).

Para emergências em gatos: 10 mL em uma seringa de 60 mL.

T. máx. de estocagem de sangue total: não aplicável

T. máx. de estocagem de concentrado de eritrócitos: 5-6 semanas (cães), 6 semanas (gatos).

*Comentários:* devem ser adicionadas aos eritrócitos dentro de 72 horas após a coleta.

## **Reações transfusionais**

As reações transfusionais podem ser classificadas como imunológicas e não imunológicas e como

agudas e tardias. As principais reações imunológicas e não-imunológicas estão listadas nas Tabelas 6 e 7. A ocorrência das reações transfusionais varia de 3 a 8% em cães e gatos, mas este índice tende a diminuir com o aumento do conhecimento e conseqüentes melhorias na medicina transfusional veterinária.

Tabela 5. Sinais não específicos que podem ocorrer durante uma reação transfusional imunológica aguda.

- 
- Fraqueza, depressão, decúbito
  - Tremores musculares, agitação, vocalização
  - Polipnéia, dispnéia
  - Taquicardia, bradicardia (felinos), arritmias, mucosas pálidas, pulso fraco (hipotensão)
  - Parada cardiopulmonar (pode ser o único sinal presente durante a anestesia)
  - Salivação (e outros sinais de náusea), vômitos, diarreia
  - Micção
  - Convulsões, coma
  - Angioedema e urticária
- 

Fonte: Abram-Ogg (2000).

Tabela 6. Reações transfusionais imunológicas.

| <i>Aguda</i>                 | <i>Tardia</i>               |
|------------------------------|-----------------------------|
| • Hemólise                   | • Hemólise                  |
| • Hipersensibilidade aguda   | • Púrpura pós-transfusional |
| • Sensibilidade a plaquetas  | • Isoeritrólise neonatal    |
| • Sensibilidade a leucócitos | • Imunossupressão           |

Fonte: Harrell e Kristensen (1995), Abrams-Ogg (2000)

Tabela 7. Reações transfusionais não-imunológicas.

| <i>Aguda</i>   | <i>Tardia</i>  |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hemólise pré-transfusional dos eritrócitos do doador</li> <li>• Hipervolemia</li> <li>• Contaminação bacteriana</li> <li>• Toxicidade por citrato (hipocalcemia)</li> <li>• Coagulopatia e trombose</li> <li>• Hiperamonemia</li> <li>• Hipotermia</li> <li>• Hipofosfatemia</li> <li>• Hipercalemia</li> <li>• Embolismo por ar</li> <li>• Microembolismo pulmonar</li> <li>• Acidose</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Transmissão de doença infecciosa</li> <li>• Hemosiderose</li> </ul> |

Fonte: Harrell e Kristensen (1995), Abrams-Ogg (2000).

### Reações imunológicas

A seguir estão descritas, de forma resumida, as principais reações imunológicas e seus sinais clínicos.

#### Incompatibilidade sangüínea (eritrocitária)

A patogênese das reações hemolíticas não será discutida aqui. Os sinais clínicos de uma crise hemolítica aguda incluem um ou mais sinais não específicos que estão relacionados na Tabela 5, juntamente com sinais específicos como hemoglobinúria e hemoglobinemia. Neste caso, hipertermia é comum, mas a urticária e o angioedema não. Insuficiência renal aguda e coagulação intravascular disseminada (CID) são seqüelas incomuns. A severidade da reação está diretamente relacionada com o número de eritrócitos destruídos. A reação hemolítica severa aguda em gatos é mediada por IgM e lembra uma reação anafilática, em cães é mediada por IgG. Na reação hemolítica tardia não há sinais clínicos agudos, mas o hematócrito reduz rapidamente em 3-5 dias após a transfusão (deveria durar 4 a 6 semanas). O tratamento pré-transfusional com antihistamínicos e corticosteróides não irão prevenir este tipo de reação.

#### Reações a proteínas plasmáticas

As reações imunológicas á proteínas plasmáticas (geralmente gamaglobulinas) são de natureza alérgica (mediadas por IgE) e resultam em urticária e angioedema, ou, raramente, anafilaxia. Podem ocorrer sinais como prurido, salivação, vômitos, diarréia e dispnéia (pela broncoconstrição), mas a hipertermia não é comum. O principal sinal da anafilaxia é a hipotensão, caracterizada por fraqueza, pulso fraco e palidez das mucosas. Nas reações alérgicas, existe perda de fluído e albumina da circulação, o que anula em parte o objetivo da transfusão. Em casos de reações severas, ascite,

efusão pleural e edema pulmonar podem ocorrer.

As reações alérgicas, em geral, ocorrem em 1 a 15 min, mas podem ocorrer durante a transfusão, mesmo que não tenha ocorrido reação alguma com uma dose-teste. O risco desse tipo de reação aumenta com a taxa de transfusão, possivelmente porque algumas são anafilactóides. Cães e gatos, ao contrário de humanos, podem ser receber mais de uma transfusão de um mesmo doador, e isso pode aumentar o risco destas reações. Nos casos de animais que necessitem mais de uma transfusão, o uso de um novo doador para cada transfusão e o pré-tratamento com antihistamínicos, com ou sem corticosteróides, podem ser considerados, especialmente se há histórico de reações alérgicas. O tratamento pré-transfusional com antihistamínicos e corticosteróides deve ser utilizado se uma velocidade alta de transfusão é necessária, entretanto isto não garante que a reação não irá ocorrer. Se o paciente tem histórico de reação alérgica severa e requer concentrado de eritrócitos, os eritrócitos podem ser lavados com solução salina antes da transfusão.

### **Reações a leucócitos e plaquetas**

Reações febris não-hemolíticas que ocorrem em cães e gatos após transfusões de sangue total ou de produtos plaquetários são presumivelmente devido à resposta imune do receptor a antígenos leucocitários do doador ou a substâncias bioativas. Hipertermia (algumas vezes acompanhada de tremores e vômitos) pode ocorrer durante a transfusão ou dentro de algumas horas após e pode levar até 12 horas se resolver. O tratamento pré-transfusional com antihistamínicos não previnem este tipo de reação. O pré-tratamento com corticosteróides (como a dexametasona) ou antiinflamatórios não-esteroidais (paracetamol somente em cães) 1 hora antes da transfusão pode auxiliar na prevenção de reações febris. A rotação de doadores também pode reduzir o risco destas reações. O uso de filtros leucocitários é uma opção, mas em vista do seu alto preço torna-se inviável na rotina veterinária, além disso, todos os métodos de remoção de leucócitos resultam em alguma perda de eritrócitos e plaquetas.

Trombocitopenia pós-transfusional pode ocorrer raramente em humanos e cães dentro de 1 a 2 semanas e dura até 2 meses. Nestes casos, a resposta imune é generalizada e os anticorpos do receptor atacam as próprias plaquetas, uma terapia imunossupressiva com prednisolona pode acelerar a recuperação.

### **Referências bibliográficas**

- ABRAMS-OGG, A. C. G. Practical Blood Transfusion. In: DAY, M.; MACKIN, A.; LITTLEWOOD, J. *Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine*. 1 ed. Hampshire: British Small Animal Veterinary Association, cap.2, 2000, p.263-303.
- ANDREWS, G. A. Red blood cell antigens and blood groups in the dog and cat. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000, p.767-773.



- ARIKAN, S.; DURU, S. Y.; GURKAN, M.; AGAOGLU, Z. T.; GIGER, U. Blood type A and B frequencies in Turkish Van and Angora cats in Turkey. *Journal of Veterinary Medicine Series A - Physiology Pathology Clinical Medicine*, Agosto, v.50, n.6, p.303-6, 2003.
- AUBUCHON, J. P. Evolution to the 21st Century. In: HILLYER, C. D.; SILBERSTEIN, L. E.; NESS, P. M.; ANDERSON, K. C.; ROUSH, K. S. (eds). *Blood Banking and Transfusion Medicine*. 1 ed. Philadelphia: Churchill Livingstone (Elsevier Science), 2003, p.3-7.
- AUER, L.; BELL, K. The AB blood group system of cats. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*, v.12, n.4, p.287-97, 1981.
- BUCUR, S. Albumin, IVIG and Derivatives. In: HILLYER C. D.; SILBERSTEIN L. E.; NESS P. M.; ANDERSON, K. C.; ROUSH K. S. *Blood Banking and Transfusion Medicine*. 1 ed. Philadelphia: Churchill Livingstone (Elsevier Science), 2003, p.167-180.
- BULL, R. W. Inmunohematología. In: HALLIWELL, R. E. W.; GORMAN, N. T. *Inmunologia clinica veterinaria*, Zaragoza: Editorial Acribia S. A, 1992.
- CAMPBELL-LEE, S. A.; NESS, P. M. Packed RBCs and Related Products. In: HILLYER C. D.; SILBERSTEIN, L. E.; NESS, P. M.; ANDERSON K. C.; ROUSH, K. S. *Blood Banking and Transfusion Medicine*. 1 ed. Philadelphia: Churchill Livingstone (Elsevier Science). 2003, p.145-152.
- EJIMA, H.; KUROKAWA, K. Comparison test of antibodies for dog blood grouping. *Japanese Journal of Veterinary Science*, v.42, p.435-441, 1980.
- EYQUEM, A.; PODLIACHOUK, L.; MILOT, P. Blood groups in chimpanzees, horses, sheep, pigs and other mammals. *Annals of the New York Academy of Science*, v.97, p.320-328, 1962.
- GIGER, U. Blood typing and crossmatching to ensure compatible transfusions. *Kirk's Current Veterinary Therapy*, v.13, p.396-399, 2000.
- GIGER, U. et al. An acute hemolytic transfusion reaction caused by dog erythrocyte antigen 1.1 incompatibility in a previously sensitized dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.206, n.9, p.1358-1362, 1995.
- GIGER, U.; BUCHELER J. Transfusion of type-A and type-B blood to cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Fevereiro 1, v.198, n.3, p.411-8, 1991.
- GIGER, U.; BUCHELER, J.; PATTERSON, D. F. Frequency and inheritance of A and B blood types in feline breeds of the United States. *Journal of Heredity*, Janeiro-fevereiro, v.82, n.1, p.15-20, 1991a.
- GIGER, U.; GORMAN, N. T.; HUBLER, M.; LEIDINGER, J. I.; LEIDINGER, E. F.; LUBAS, G.; NIINI, T.; SLAPPENDEL, R. J. Frequencies of feline A and B blood types in Europe. *Proceedings of the International Society of Animal Genetics*, conferência 23, suplemento I, p.17-18, 1992.
- GIGER, U.; GRIOT-WENK, M.; BUCHELER, J.; SMITH, S.; DISERENS, D.; HALE, A.; PATTERSON, D. F. Geographical variation of the feline blood type frequencies in the United States. *Feline Practice*, v.19, p.21-27, 1991b.
- GIGER, U.; KILRAIN, C. G.; FILIPPICH, L. J.; BELL, K. Frequencies of feline blood groups in the United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Novembro 1, v.195, n.9, p.1230-2, 1989
- GRIOT-WENK, M. E.; GIGER, U. The AB blood group system in wild felids. *Animal Genetics*, Abril, v.30, n.2, p.144-

7, 1999.

- HALE, A. S. Canine blood groups and their importance in veterinary transfusion medicine. *The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v.25, n.6, p.1323-32, 1995.
- HARKEN, A. The surgical significance of the oxyhemoglobin dissociation curve. *Surgery Gynecology & Obstetrics*, v.144, p.935, 1977.
- HARRELL, K. A.; KRISTENSEN A. T. Canine transfusion reactions and their management. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 25, p. 1305-1322, 1995.
- HARVEY, J.W. Erythrocyte metabolism. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000, p.767-773.
- HEATON, A.; MIRIPOL, J.; ASTER, R.; et al. Use of Adsol preservation for prolonged storage of low viscosity AS-1 red blood cells. *British Journal of Haematology*, v.57, p.467-478, 1984.
- HOGMAN, C. F. Aditive system approach in blood transfusion: Birth of the SAG and Sagman systems. *Vox Sanguinis*, v.51, p.339-340, 1986.
- HOGMAN, C. F. Liquid storage of human erythrocytes. In: HARRIS, J. R. *Blood Separation and Plasma Fractionation*. New York, Wiley-Liss, 1991, p.63-97.
- HOLMES, R. Blood groups of cats. *Journal of Physiology*, v.111, p.61, 1950.
- JAIN, N. C. *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417 p.
- KNOTTENBELT, C. M. The feline AB blood group system and its importance in transfusion medicine. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. Junho, v. 4, n. 2, p. 69-76, 2002.
- KNOTTENBELT, C. M.; ADDIE, D. D.; DAY, M. J.; MACKIN, A. J. Determination of the prevalence of feline blood types in the UK. *Journal of Small Animal Practice*, Março, v.40, n.3, p.115-118, 1999.
- KNOTTENBELT, C. M.; ADDIE, D. D.; DAY, M. J.; MACKIN, A. J. Determination of the prevalence of feline blood types in the UK. *Journal of Small Animal Practice*, v.40, p.115-118, 1999.
- LUBAS, G.; CONTINANZA, R. Recent advances in our understanding of the immunological characteristics of cats and their clinical application. *European Journal of Companion Animal Practice*, v.5, p.47-54, 1995.
- MELZER, K. J., WARDROP, K. J., HALE, A. S., WONG, V. M. A hemolytic transfusion reaction due to DEA 4 alloantibodies in a dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Novembro-dezembro, v.17, n.6, p.931-3, 2003
- MOORE, D. J. The blood grouping systems of dogs. *Journal of the South African Veterinary Association*, v.47, p.282-284, 1976.
- NOVAIS, A. A. *Prevalência do grupo sanguíneo DEA 1 (subgrupos 1.1 e 1.2) em cães (Canis familiaris) (Linnaeus, 1758)*. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica Veterinária) – Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo, Campus de Jaboticabal, 1996.
- NOVAIS, A. A. *Prevalência dos antígenos eritrocitários caninos em cães domésticos e investigação dos parâmetros hematológicos e da ocorrência de antígenos eritrocitários em lobos-guará e cachorros-do-mato*. Tese (Doutorado em Clínica Médica Veterinária) – Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo, Campus de Jaboticabal, 2003.

- NOVAIS, A. A.; SANTANA, A. E.; VICENTIN, L. A. Prevalence of DEA 1 canine blood group system in dogs (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) reared in Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.36, n.1/3, p.23-27, 1999.
- PRICE, G. S.; ARMSTRONG, P. J.; MCLEOD, D. A.; et al. Evaluation of citrate-phosphate-dextrose-adenine as a storage medium for packed canine erythrocytes. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.2, p.126-132, 1988.
- SCHNEIDER, A. Principles of Blood Collection and Processing. In: FELDMAN, B. F., ZINKL, J. G., JAIN, N. C. *Schalm's Veterinary Hematology*, 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000, p. 827-832.
- SUZUKI, K. et al. New antibodies in dog blood groups. *Transplantation Proceedings*, v.7, n.3, p.365-367, 1975.
- SWISHER, S. N.; YOUNG, L. E. The blood grouping systems of dogs. *Physiological Reviews*, v.41, p.495-520, 1961.
- SYMONS, M.; BELL, K. Expansion of the canine A blood group system. *Animal Genetics*, v. 22, p. 227-235, 1991.
- VRIESENDORP, H. M.; et al. Joint Report of the Second International Workshop on Canine Immunogenetics. *Transplantation Proceedings*, v.8, p.289-314, 1976.
- WAMSLEY, H. Canine and Feline Blood Groups, Crossmatching, Typing, and Transfusion. In: Alleman, A. R. *Small Animal Hematology Elective – VEM 5303*. Gainesville: University of Florida. 2003.
- WARDROP, K. J.; TUCKER, R. L.; MUGNAI, K. Evaluation of canine red blood cells stored in a saline, adenine, and glucose solution for 35 days. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.11, n.1, p.5-8, 1997.
- WINSLOW, R. M. Blood Substitutes. In: HILLYER, C. D.; SILBERSTEIN, L. E.; NESS, P. M.; ANDERSON, K. C.; ROUSH, K. S. *Blood Banking and Transfusion Medicine*. 1 ed. Philadelphia: Churchill Livingstone (Elsevier Science), 2003, p.265-272.

## 4. Mielograma

Nayro Xavier de Alencar

### Introdução

É cada vez mais comum a utilização do exame da medula óssea (mielograma) para a avaliação das doenças do sistema hematopoiético. A técnica para a obtenção do material medular tem se mostrado segura e de fácil execução na clínica veterinária. O objetivo deste material é fornecer aos médicos veterinários informações sobre as indicações deste exame bem como diversas as técnicas de coleta e preparação de lâminas de medula óssea.

### Importância

O exame da medula óssea (mielograma) tem sido amplamente utilizado não apenas no diagnóstico das doenças do sistema hematopoiético, como as citopenias (anemia, leucopenia e trombocitopenia), mas também no estadiamento das neoplasias, como o linfoma e as leucemias de origens diversas e na pesquisa de parasitas (*Leishmania* sp). Além disso, tem sido cada vez mais comum a utilização desta técnica como via para procedimentos terapêuticos (coleta de material e infusão de substâncias).

### Indicações para realização da citologia aspirativa de medula óssea

Em geral, as indicações para a avaliação da medula óssea surgem após a constatação de anormalidades observadas no hemograma. Essas anormalidades incluem uma série de alterações que indicam o exame. As indicações primárias para a avaliação da medula óssea de um paciente incluem:

**Anemia arregenerativa:** o exame da medula óssea está indicado sempre que existir anemia de característica não regenerativa ou pouco regenerativa. Nas anemias regenerativas, por outro lado, não há indicação para o exame uma vez que a medula mostra evidências de produção adequada de eritócitos. Deve-se ressaltar, no entanto, que nas anemias por perda aguda de sangue podem não existir sinais de regeneração no sangue periférico, como elevação do VCM, policromasia ou anisocitose, já que esses sinais só aparecem no sangue aproximadamente três dias ou mais após a perda de sangue. Nesta situação, recomenda-se a repetição do hemograma após este período para se decidir sobre a necessidade de punção da medula. Em eqüinos, a avaliação da medula óssea é a única forma de determinar se uma anemia nessa espécie é regenerativa ou não, uma vez que eqüinos anêmicos normalmente não apresentam evidência de regeneração no sangue periférico.

**Leucopenia:** a redução no número de leucócitos é outra alteração hematológica na qual o mielograma está indicado. Uma leucopenia pode ser resultado de linfopenia e de neutropenia. A

linfopenia ocorre geralmente como resultado da ação de fármacos (corticóides), estresse induzido, infecção viral (FeLV, FIV), imunodeficiência (SIC – Síndrome da Imunodeficiência Combinada), perda de linfócitos (quilotórax ou linfangiectasia). Nestes casos não há indícios de produção diminuída pela medula e por isso a avaliação do mielograma não se faz necessária. Por outro lado, a neutropenia pode resultar da diminuição da produção pela medula ou do aumento da utilização ou destruição destas células no sangue periférico. Uma neutropenia persistente é um bom indicativo para a avaliação da medula óssea.

**Trombocitopenia:** um número reduzido de plaquetas no sangue periférico pode ser indicativo de diminuição da produção, do aumento na utilização (CID) ou destruição (trombocitopenia imunomediada) ou ainda de seqüestro (hiperesplenismo). Em muitas situações o mielograma é essencial para se determinar se a trombocitopenia está relacionada a um problema de produção ou de utilização periférica. Embora a colheita de medula óssea em animais trombocitopênicos possa parecer arriscada, em nossa experiência e na de muitos autores este procedimento normalmente não resulta em problema de sangramento nos animais, mesmo naqueles que apresentam trombocitopenia severa.

**Elevações inexplicadas no número de células:** exemplos de anormalidade proliferativas em que o mielograma está indicado incluem a policitemia, leucocitose ou trombocitose persistentes, especialmente quando estes não apresentam evidência clínica de doença que justifique tal achado. Existem várias condições secundárias que resultam em policitemia, como hipóxia, desidratação, neoplasia renal, hipertireoidismo ou contração esplênica. Porém, quando estas condições não estão presentes, a avaliação da medula óssea é fundamental na determinação da causa da policitemia. Elevações inexplicadas de qualquer tipo de leucócito sem uma doença inflamatória aparente são um indicativo para a avaliação da medula. A elevação persistente de um tipo celular pode ser indicativo de leucemia crônica e muitas vezes é confirmada pela presença de alterações displásicas presentes na medula óssea. O aumento no número de plaquetas pode ser secundário à perda crônica de sangue, inflamação crônica, esplenectomia, síndrome de “Cushing” ou *diabetes mellitus*. Entretanto, uma trombocitose inexplicada pode ser resultado de uma neoplasia da linhagem plaquetária (trombocitemia essencial) e o exame da medula óssea é necessário para demonstrar alterações displásicas e neoplásicas associadas com a malignidade dessas células.

**Células anormais circulantes:** a presença de células anormais no sangue periférico pode ser indicativa de neoplasia na medula óssea e é um bom indicativo para avaliação deste órgão. Estas células anormais podem ser representadas por células blásticas hematopoiéticas de origem eritróide, mielóide ou linfóide, sendo a sua presença indicativa de leucemia aguda. Células apresentando alterações displásicas são um outro sinal hematológico em que o mielograma está indicado. Displasia é definida como uma maturação anormal de células e geralmente está associada com síndromes pré-leucêmicas ou leucemia. Algumas alterações displásicas incluem eritrócitos nucleados sem evidência

de policromasia, metarrubricitos anormalmente grandes, neutrófilos hiper-segmentados, metamielócitos gigantes, megaplaquetas e megacariócitos “Dwarf”. Células não hematopoiéticas também podem ser encontradas na circulação (ex: mastócitos) sugerindo a presença de metástase na medula. Neste caso a punção da medula óssea é imprescindível para se avaliar o envolvimento deste órgão.

**Estadiamento clínico de neoplasias:** a utilização do mielograma no estadiamento das neoplasias tem sido usada mesmo em pacientes que não apresentam células neoplásicas circulantes, isto porque a ausência de células neoplásicas na circulação não assegura que a medula óssea esteja livre de doença metastática. Sendo assim, o mielograma tem sido usado por razões prognósticas, principalmente em animais com linfoma, onde com muita frequência, não são detectadas células neoplásicas no sangue periférico.

**Hipercalemia inexplicada:** a causa mais comum de hipercalemia relevante clinicamente em animais e humanos é a hipercalemia associada ao câncer. Existem três mecanismos patogênicos principais: a hipercalemia humoral da neoplasia, a reabsorção óssea local induzida por neoplasia hematológica que se desenvolve primariamente na medula óssea e a osteólise local causada por tumores metastáticos. Esta alteração tem sido descrita mais frequentemente em cães e esporadicamente em gatos, cavalos e outros animais. Em cães, a hipercalemia é geralmente resultado de síndrome paraneoplásica associada com neoplasia linfóide ou adenocarcinoma da glândula apócrina do saco anal. Nos casos de hipercalemia sem envolvimento de linfonodos ou das glândulas do saco anal, a avaliação do mielograma é de grande importância. A maioria desses animais tem uma leucemia linfóide onde apenas a medula óssea está acometida, podendo não ser encontradas células tumorais no sangue periférico.

**Gamopatia monoclonal:** a gamopatia monoclonal ou paraproteinemia é identificada por uma produção excessiva de um único tipo de imunoglobulina pela expansão de um clone de plasmócitos (linfócitos B). Estas alterações são tipicamente encontradas em associação com uma variedade de discrasias linfóides e plasmocitárias. Em pequenos animais, gamopatias monoclonais estão mais frequentemente associadas às doenças linfoproliferativas. Tumores produtores de imunoglobulinas incluem o mieloma múltiplo, a leucemia linfocítica crônica (LLC), a macroglobulinemia primária (Síndrome de Waldenstrom) e o linfoma. O mielograma permite a fenotipagem das sub-populações linfocitárias que estão envolvidas nesta doença.

### **Colheita do material**

Aspirados e fragmentos de medula óssea para biopsia podem ser facilmente obtidos de todos os animais domésticos e também de animais de laboratório. A preparação de lâminas deste material para posterior fixação e coloração fornece um excelente material para avaliação citológica.

Existem poucas contra-indicações para a biopsia aspirativa da medula óssea. A contenção, sedação ou anestesia, quando usadas, geralmente resultam em mais risco para o paciente do que a própria colheita. Hemorragia pós colheita pode acontecer em pacientes com diáteses hemorrágicas, porém, esta raramente ocorre. Em animais com hiperglobulinemia monoclonal pode haver hemorragia após a colheita, entretanto, esta é facilmente controlada pela compressão sobre o local de colheita ou ainda pela sutura de pele no local da incisão. Infecção pós biopsia no local da colheita é muito pouco provável de ocorrer, quando se utiliza uma técnica adequada de colheita.

As técnicas de colheita da medula óssea variam com o local, a espécie em questão e a preferência do coletor. A crista ilíaca, a fossa trocântérica do fêmur e o úmero proximal são os locais mais comumente usados em pequenos animais. Por outro lado, esterno e costela são mais comumente usados para a obtenção de medula em grandes animais. Um cuidado especial deve ser tomado na colocação da agulha quando a colheita é feita no esterno e costela, devido ao risco de penetração na cavidade torácica, embora em nossa experiência isso nunca tenha sido observado.

Em geral o material utilizado para uma adequada colheita de medula óssea é conhecido pela maioria dos profissionais e é, na sua maioria, de baixo custo. Recomenda-se que as agulhas utilizadas sejam específicas para este fim, sendo este talvez o maior investimento neste sentido.

São conhecidos vários modelos de agulhas, sendo a Komiyashiki, a Illinois e a Bierman as mais utilizadas (Figura 1). O tamanho das agulhas varia de acordo com a espécie animal em questão, entretanto, na maioria dos casos agulhas de 16-18 G são adequadas para diversas espécies animais.

Outros materiais usados na colheita incluem: EDTA 2 - 3% (preparado em solução salina), seringa plástica (10mL), lâminas para histologia, corante (método de Romanowsky), placa de petri, tubos de microhematócrito, lidocaína 2%, tricótomo e lâmina de bisturi. Em geral, uma adequada contenção do animal e a utilização de agulhas apropriadas resultam na obtenção de amostras de boa qualidade mesmo sem a necessidade de tranquilização do animal.

### **Preparação para a colheita**

Na maioria dos casos, a colheita de medula óssea requer apenas uma boa contenção do animal, uma vez que estes se mostram mais incomodados com a anestesia local do que com a perfuração da pele com a agulha de colheita. Em alguns casos, especialmente quando os animais se mostram agressivos, uma sedação leve pode ser utilizada, porém, anestesia geral é raramente necessária.

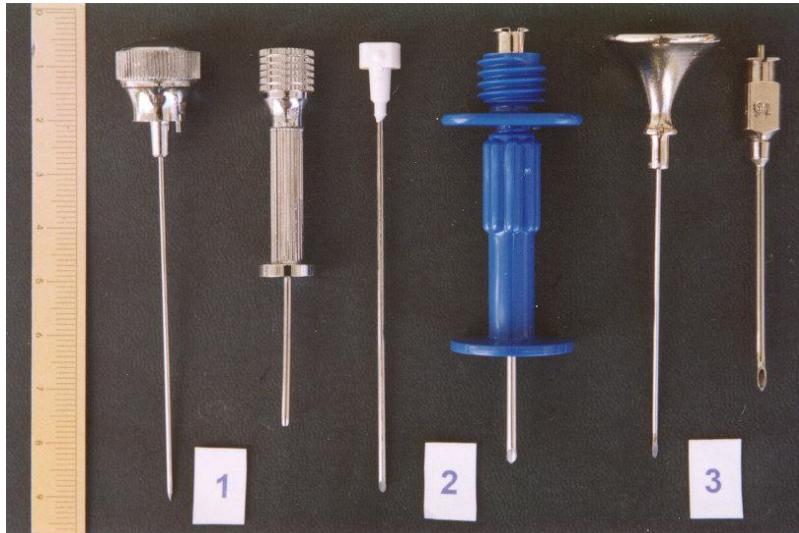


Figura 1. Agulhas especiais para colheita de medula óssea: (1) Komiyashiki, (2) Illinois e (3) Bierman (BD).

A seleção do local para a punção varia de acordo com o animal em questão (Figura 2). O local mais utilizado em pequenos animais é a crista dorsal da asa do ílio. Em animais muito pequenos, como gatos e filhotes de cães, ou ainda em animais excessivamente obesos pode-se usar a fossa trocântérica do fêmur ou o aspecto crânio-lateral do tubérculo maior do úmero (Figura 2). A colheita no úmero talvez seja aquela que ofereça mais facilidade na obtenção do material, porém, a proximidade com a cabeça do animal deve alertar o profissional para o risco de acidentes. Nos grandes animais o local mais utilizado é o esterno (Figura 3) podendo o animal ser mantido em estação (equinos e bovinos) ou em decúbito lateral (pequenos ruminantes). A costela é outro local de colheita, entretanto, este não tem sido usado com muita frequência em nossa rotina clínica.

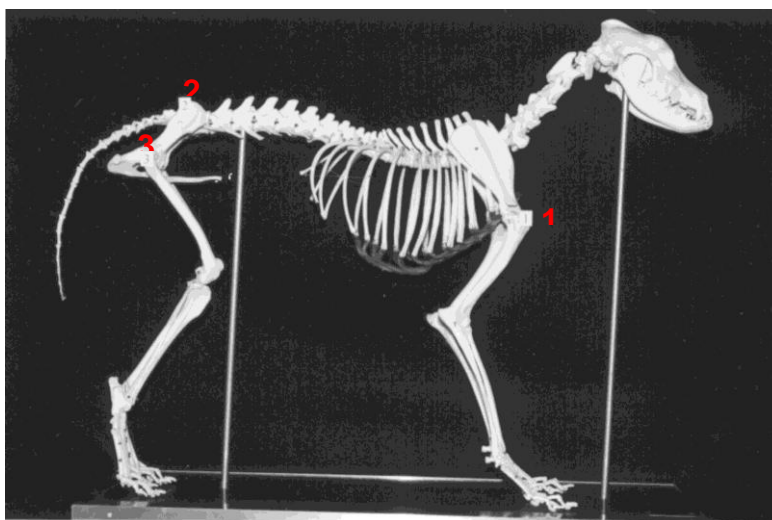


Figura 2. Locais para punção no cão: (1) Tubérculo maior do úmero, (2) Crista íliaca e (3) Fossa trocântérica do fêmur proximal.



### Colheita da amostra

Após a escolha do local, a área selecionada poderá ser depilada ou não, porém, uma anti-sepsia criteriosa da área deve ser realizada para evitar contaminação do local de colheita. Devem-se evitar também locais onde já existam ferimentos. A seringa deve ser preenchida com aproximadamente 0,5 mL de EDTA 2 – 3% para prevenir a coagulação, embora amostras também possam ser obtidas sem o uso de anticoagulantes se lâminas forem preparadas imediatamente após a colheita. Seringa e agulha devem ser colocadas sobre uma superfície estéril próxima ao animal.



Figura 3. Demonstração da colheita de medula óssea no esterno de um ovino.

Quando se fizer uso do anestésico local, uma pequena incisão na pele, suficiente para entrar com a agulha, pode ser feita para facilitar a penetração no osso. O osso ou a área a ser penetrada é estabilizada com uma mão e então é exercida uma pressão firme com movimentos de rotação para penetrar com a agulha a região cortical do osso. Uma vez que a agulha esteja firmemente fixada no osso, o mandril é removido e a seringa, contendo anticoagulante, é acoplada nesta para aspiração. Uma forte pressão negativa é aplicada puxando-se o embolo da seringa várias vezes, porém, para evitar hemodiluição esta pressão deve ser liberada assim que aproximadamente 0,5 mL de medula tenha entrado na seringa. Se após a aspiração não se observar material medular na seringa, esta deve ser removida e o mandril recolocado para possibilitar o reposicionamento da agulha com ligeiro avanço por meio de rotação da mesma. Se mesmo com o reposicionamento o material não for obtido, deve-se retirar a agulha e tentar colher em outro local.

Uma vez a medula tenha sido obtida, agulha e seringa são removidas do animal e esta é homogeneizada para evitar a coagulação do material. A seringa deve ser desconectada da agulha e o material transferido para uma placa de petri. Com este procedimento fica mais fácil avaliar o sucesso da colheita pela observação de espículas medulares (estroma e células associadas), que são imprescindíveis para uma adequada avaliação da medula óssea.

A colheita de fragmentos de medula óssea para histopatologia pode ser obtida com agulhas especiais (Jamshidi e Rosenthal) utilizando-se basicamente o mesmo procedimento usado para punção aspirativa. Uma vez que a agulha esteja fixada no osso o mandril é removido e esta é rotacionada em um único sentido preenchendo-a com material medular. Em seguida, remove-se a agulha do animal e com o auxílio do mandril retira-se o fragmento de dentro da agulha empurrando-o em sentido contrário, sempre da ponta da agulha em direção do corpo da mesma, para evitar o esmagamento do fragmento. Algumas lâminas podem ser confeccionadas pelo rolamento do fragmento sobre lâminas histológicas antes de se transferir o material para um frasco contendo formol neutro tamponado a 10% para fixação e posterior processamento.

No tocante às vantagens de ambos os métodos podemos dizer que o aspirado da medula óssea propicia excelente detalhe celular do material obtido além de fornecer resultados rápidos e a um custo relativamente baixo. A biopsia (histopatologia) é melhor para determinar alterações do estroma medular, como mielofibrose, além de avaliar mais adequadamente celularidade, estoque de ferro e acumulação focal de células neoplásicas na medula óssea. A biopsia é especialmente útil quando as colheitas aspirativas são improdutivas e na avaliação do envolvimento neoplásico medular tal como no estadiamento do linfoma.

### **Preparação da lâmina**

A preparação de lâminas requer cuidadosa atenção do profissional uma vez que mesmo a mais adequada punção terá sido inútil se não forem preparadas lâminas de boa qualidade. As lâminas devem ser preparadas imediatamente após a colheita se o anticoagulante não tiver sido utilizado ou dentro de uma hora após a colheita quando o EDTA for usado. Sempre que possível a preparação das lâminas deve ser realizada tão logo se obtenha o material. Nos casos em que o envio da amostra para o laboratório não for possível em tempo hábil, as lâminas devem ser preparadas na clínica ou, quando possível, o animal deve ser encaminhado ao laboratório para a colheita.

A técnica de preparação das lâminas é muito simples e pode ser efetuada mesmo por indivíduos com pouca prática. Após a colheita da medula óssea o material é transferido para uma placa de Petri para se observar melhor a presença de espículas medulares (pequenos fragmentos semelhantes à gelatina) com movimentos de inversão da placa. Uma vez visualizadas, coloca-se perpendicular a estas espículas um tubo capilar (microhematócrito) com o objetivo de capturar algumas destas estruturas

(Figura 4). Em seguida transfere-se o conteúdo do tubo capilar para uma lâmina e coloca-se sobre esta outra lâmina no mesmo sentido da primeira. O objetivo deste procedimento é concentrar um maior número de espículas no centro da lâmina, diminuindo, por ação da capilaridade, a quantidade de sangue nesta. Após o sangue se espalhar entre as duas lâminas estas são separadas deslizando-se uma sobre a outra sem empregar qualquer pressão sobre elas (Figura 5). A lâmina com o material deve ser rapidamente seca ao ar para melhor qualidade do material.



Figura 4. Obtenção de espículas para confecção das lâminas de medula óssea com o auxílio de um tubo capilar (microhematócrito).

As lâminas são então fixadas em metanol por cinco minutos e coradas por corantes tipo Romanowsky (Giemsa, May-Grümwald Giemsa, Leishman). Na nossa rotina o MGG tem se mostrado excelente para a avaliação citológica da medula óssea devido suas qualidades tintoriais e rapidez na coloração das lâminas. Em algumas situações, outras colorações podem ser necessárias como é o caso do Azul-da-Prússia par avaliação do ferro medular e colorações citoquímicas especiais (Sudan Black, peroxidase, etc.) para os casos de leucemia.

### **Avaliação e interpretação do mielograma**

Nos animais domésticos as células medulares são divididas em seis grupos, a série eritróide, a série granulocítica, a série megacariocítica, a série linfóide, a série monocítica e outras células normalmente encontradas na medula e não classificadas dentro dos primeiros grupos que compreende: hematogôneas, células em mitose, células reticulares e células degeneradas. A série eritróide é composta de eritroblasto, pró-rubricito, rubricito basofílico, rubricito policromático, rubricito ortocromático, metarrubricito e reticulócito. A série granulocítica é composta de mieloblasto, pró-mielócito, mielócito, metamielócito, bastonete e segmentados neutrofilicos, eosinoflicos e basoflicos.

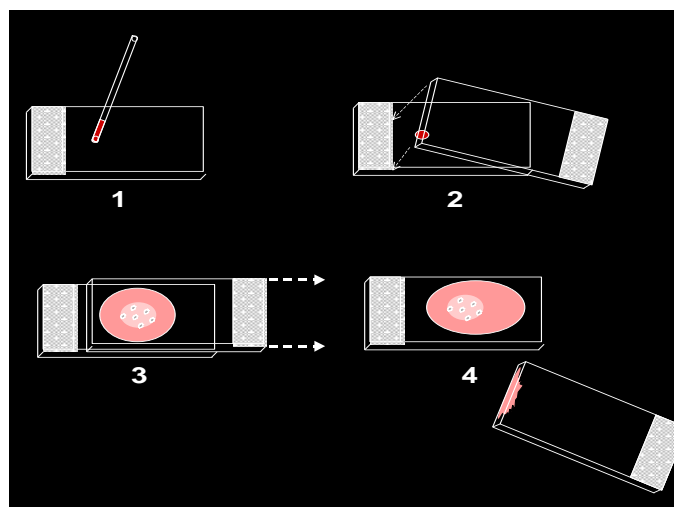


Figura 5. Esquema representativo para confecção de lâminas de medula óssea usando a técnica de compressão “Squash”.

Nem sempre é necessária a avaliação citológica quantitativa da medula óssea para uma avaliação clínica do animal. Uma visão geral da resposta medular pode ser obtida por meio da avaliação qualitativa da relação mielóide-eritróide (M:E), que expressa a proporção do número total de células da série granulocítica (mielóide) e o total de eritrócitos nucleados da série eritrócítica (eritróide).

A relação mielóide/eritróide (M:E) é calculada pela contagem de 500 células determinando a relação entre células granulocíticas (incluindo granulócitos maduros) e células eritróides nucleadas. A relação M:E está geralmente entre 0,75 e 2,5 em cães, entre 1 e 3 em gatos, entre 0,5 e 1,5 em equinos e 0,77 e 1,68 em ovinos.

O aumento da celularidade é observado em medulas que estão respondendo a citopenias periféricas, como por exemplo, as anemias regenerativas, leucopenias e trombocitopenias. Medulas hiperplásicas também são observadas em animais com um aumento na demanda para produção de leucócitos (leucocitose) e ainda quando a medula esta invadida por células neoplásicas (mielofitose).

Megacariócitos são as maiores células hematopoiéticas na medula óssea podendo medir até 150µm, sendo facilmente reconhecidas em lentes de baixo aumento. Em uma medula óssea normal a maioria dos megacariócitos devem ser maduros. Um número aumentado de células imaturas pode ser observado em respostas regenerativas as trombocitopenias periféricas.

Em uma medula adequadamente celular, uma relação M:E menor que 0,5 seria sugestivo de uma hiperplasia eritróide ou de uma hipoplasia granulocítica. O grau de celularidade da medula associado com o hemograma deve indicar a interpretação apropriada para o caso. Por outro lado, uma relação M:E maior que 2,0 sugere uma hipoplasia eritróide ou uma hiperplasia granulocítica.

Uma medula óssea normal pode conter até 15% de linfócitos pequenos e 2% de plasmócitos. Monócitos, macrófagos e células em mitose normalmente não excedem 1 a 2% do total de células nucleadas. Osteoclastos e osteoblastos são raramente vistos na medula óssea, exceto em animais em crescimento. Qualquer aumento numérico destas células, ou ainda, alteração da sua morfologia normal deve ser referenciada no exame da medula óssea.

Plasmócitos são células derivadas dos linfócitos B em resposta a estimulação antigênica, proliferação e maturação. Estas células podem ser encontradas em qualquer tecido, porém são mais numerosos em tecidos envolvidos na produção de anticorpos. São comumente encontradas em linfonodos antígenicamente estimulados e outros tecidos linfóides ativos, tais como, o baço e a medula óssea. Plasmócitos em atividade secretória geralmente contêm várias vesículas hipertrofiadas derivadas do retículo endoplasmático. Estas vesículas, denominadas de “corpúsculos de Russel”, contêm um material granular a floculento que representa moléculas de imunoglobulinas recentemente sintetizadas. “Mott cell” é o termo usado para denominar plasmócitos que apresentam múltiplos “corpúsculos de Russel” no seu citoplasma.

Exames citológicos da medula óssea são úteis para avaliação de distúrbios do metabolismo do ferro. A reação do Azul-da-Prússia, em que o ferro iônico reage com uma solução ácida de ferrocianeto produzindo uma cor azul, é comumente utilizada para esse fim.

É possível avaliar as reservas de ferro corando-se os tecidos com o Azul-da-Prússia. Isto se aplica especialmente em preparados da medula óssea e nas biopsias hepáticas. Pode-se dizer que a presença de ferro corável nas células reticuloendoteliais da medula óssea elimina a deficiência de ferro como causa da anemia.

Exceto para gatos, a medula óssea de animais domésticos adultos exhibe ferro corável (hemossiderina) dentro de macrófagos. Na deficiência de ferro, macrófagos e eritrócitos em desenvolvimento não contêm grânulos de ferro coráveis. Por outro lado, quando a síntese do heme está prejudicada, a mitocôndria acumula excesso de agregados amorfos de ferro e um grande anel de grânulos sideróticos azuis rodeiam o núcleo do eritroblasto.

A grande vantagem da avaliação do ferro medular em relação às determinações séricas de ferro, capacidade total de ligação do ferro (CTLF) e índice de saturação de transferrina (IST) é que estes podem não diferenciar a depleção dos estoques de ferro das condições associadas aos defeitos da liberação do ferro pelo sistema mononuclear fagocitário, como ocorre na anemia da doença inflamatória (ADI).

## Bibliografia de apoio

- ALLEMAN, A. R. Bone marrow evaluation and its clinical application. In:\_\_\_\_. **Small animal hematology: VEM 5303**. Gainesville: University of Florida, College of Veterinary Medicine, 1998. p. 1-18.
- CAR, B.D., BLUE, J.T. Approaches to evaluation of bone marrow function. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 33-7.
- FREEMAN, K.P. Bone marrow evaluation. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 29-32.
- HARVEY, J. W. Atlas of veterinary hematology: blood and bone marrow of domestic animals. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2001. 228p.
- JAIN, N.C. **Essentials of Veterinary Hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.
- JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1221p.
- KRAUSE, J.R.; STOLC, V. Serum ferritin and bone marrow iron stores. I: Correlation with absence of iron in biopsy specimens. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 72, p. 817-20, 1979.
- LEVEN, R. M. Megakaryocytes. In: FELDMAN, B.F., ZINKL, J.G., JAIN, N.C. *Schalm's veterinary hematology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1344 p., cap. 62, p. 443-447.
- LEWIS, H. B., REBAR, A. H. Bone marrow evaluation in veterinary practice. Ralston Purina Company, Estados Unidos da América, 1979. 71p.
- MEYER, D.J.; HARVEY, J.W. Hematopoiesis and evaluation of bone marrow. In:\_\_\_\_. **Veterinary Laboratory Medicine – Interpretation and diagnosis**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1998. p. 23-42.
- MISCHKE, R.; BUSSE, L. Reference values for the bone marrow aspirates in adult dogs. *Journal of Veterinary Medicine, Series A Physiology, Pathology, Clinical Medicine*, v. 49, n.10, p. 499 – 502, dez. 2002.
- NIMEH, N.; BISHOP, R.C. Distúrbios do metabolismo do ferro. *Clínicas Médicas da América do Norte*, jul., p. 633-48, 1980.
- PARASKEVAS, F., FOERSTER, J. The lymphocytes. In: LEE, G. R., BITHELL, T. C., FOERSTER, J., ATHENS, J. W., LUKENS, J. N. *Wintrobe's clinical hematology*. 9. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. v. 1, p. 354-430.
- ROSOL, T.J., CAPEN, C.C. Cancer-associated hypercalcemia. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 660-6.
- ROGERS, K.S., DRU FORRESTER, S. Monoclonal gammopathy. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 932-6.
- SEYBOLD, I. M., GOLDSTON, R.T., WILKES, R.D. The clinical pathology laboratory examination of the bone marrow. **Veterinary Medicine - Small Animal Clinician**, Edwardsville, v. 75, p. 1517-21, 1980.
- SHALM, O. W. Bone marrow cytology as an aid to diagnosis. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 11, p.383-404, 1981.
- SMITH, J.E. Iron metabolism and its diseases. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. New York: Academic Press, 1997. p. 223-40.
- STEFFENS III, W. L. Ultrastructural features of leukocytes. In: FELDMAN, B.F., ZINKL, J.G., JAIN, N.C. *Schalm's veterinary hematology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 326-36.

- TVEDTEN, H. The complete blood count and bone marrow examination: general comments and selected techniques. In: WILLARD, M.D.; TVEDTEN, H.; TURNWALD, G.H. **Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1989. p. 14-35.
- VAIL, D.M. Plasma cell tumors and macroglobulinemia. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 654-9.
- ZINKL, J. G. Bone marrow examination. In: AMERICAN COLLEGE OF VETERINARY INTERNAL MEDICINE FORUM, 7, 1989, San Diego. **Proceedings...**San Diego: American College of Veterinary Medicine, 1989. p. 7-10.

## 5. URINÁLISE

*Sônia Terezinha dos Anjos Lopes*

*Angela Veiga*

### Introdução à fisiologia renal

Os animais apresentam dois rins, que estão situados dorsalmente na cavidade abdominal, logo abaixo do diafragma, um de cada lado da coluna vertebral. Em termos gerais os rins apresentam forma de feijão, ainda que esta possa variar entre as espécies animais. Estão divididos em cápsula, córtex, medula e pelve. Os rins desempenham funções vitais nos animais, funções estas relacionadas à manutenção do volume e concentração do líquido extra-celular, manutenção da pressão e do equilíbrio osmótico e hidro-eletrolítico do organismo, manutenção do pH sanguíneo, produção de hormônios, excreção de substâncias tóxicas e manutenção de nutrientes orgânicos.

### Funções dos rins

O rim dos mamíferos é um órgão de grande importância, encarregado de uma série de eventos relacionadas à manutenção da homeostasia corporal e controle da maior parte dos constituintes dos líquidos orgânicos. Suas funções básicas são:

1. Filtrar o sangue e excretar os produtos terminais do metabolismo corporal que são inúteis ao organismo;
2. Recuperar o material filtrado necessário ao organismo como proteínas de baixo peso molecular, água e eletrólitos;
3. Manutenção do equilíbrio ácido-básico pela retenção ou eliminação de água ou eletrólitos;
4. Produção e liberação de hormônios que exercem um papel vital no controle da pressão sanguínea sistêmica (renina) e na produção de células sanguíneas vermelhas (eritropoietina).

### O néfron

A unidade funcional do rim é o néfron, o conhecimento da sua função é essencial para entender a função renal. O número de néfrons varia consideravelmente entre as espécies, de 190.000 néfrons/rim no gato à 4.000.000 néfrons/rim no bovino. Ele é composto por vários tipos celulares incumbidos de efetuar funções individuais, e preparados para responder, quando necessário, a uma série de sinais diretos e indiretos. O néfron é formado pelo glomérulo que é responsável pela filtração e pelo sistema tubular que é dividido em vários segmentos, onde o líquido filtrado é transformado em urina durante o seu trajeto até a pelve renal.

Os dois rins juntos recebem aproximadamente 25% do débito cardíaco. O sangue entra no **glomérulo** pela arteríola aferente e sai pela arteríola eferente. O glomérulo é uma rede de até 50



capilares paralelos, ramificados e anastomosados, recobertos por células epiteliais e envoltos pela **cápsula de Bowman**. A pressão do sangue no glomérulo acarreta a filtração do líquido para o interior da cápsula de Bowman, e a partir daí, o líquido flui para o **túbulo proximal**, localizado no **córtex renal** juntamente com o glomérulo.

Do túbulo proximal, o líquido passa para a **Alça de Henle**, que mergulha na massa renal, com algumas das alças atingindo a parte inferior da medula renal. Cada alça é dividida em **ramo descendente e ascendente**. A porção descendente e a extremidade inferior da ascendente são extremamente finas, sendo chamadas **segmento delgado da alça de Henle**. A outra porção da alça ascendente possui mesma espessura das outras porções tubulares, e é denominada de **segmento espesso do ramo ascendente**. Após passar pela alça de henle o líquido atinge o **túbulo distal**, no córtex renal. Até 8 túbulos distais formam o **túbulo coletor**, que volta a mergulhar na medula e sua extremidade passa a constituir o **canal coletor**. Os canais coletores unem-se para formar **canais coletores maiores**. Estes irão se lançar na **pelve renal** pelas **papilas renais** que são projeções da medula que fazem protusões para dentro dos cálices renais (recessos da pelve renal).

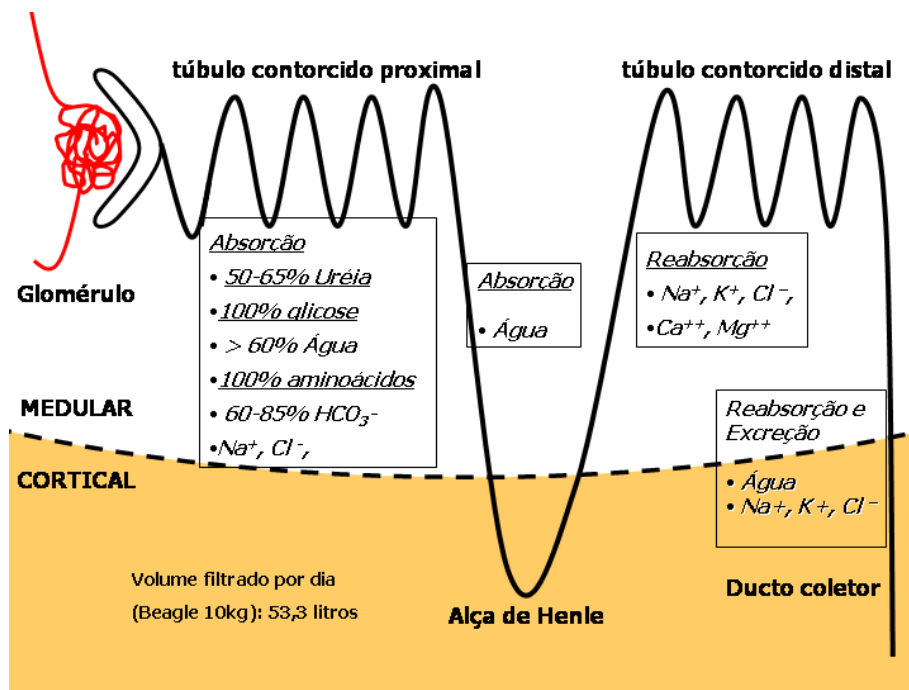
A medida que o filtrado glomerular flui através dos túbulos, mais de 99% de sua água e quantidades variáveis de seus solutos são reabsorvidos normalmente para o sistema vascular, e pequenas quantidades de algumas substâncias são também secretadas para os túbulos. O restante da água tubular e das substâncias dissolvidas passa a constituir a urina (Figura 1).

Uma rede de capilares peritubulares responsabiliza-se pela irrigação sanguínea do rim. Esta rede recebe o sangue proveniente das arteríolas aferentes após passagem pelo glomérulo.

A função básica do néfron consiste em “depurar” o plasma sangüíneo de substâncias indesejáveis como os produtos finais do metabolismo proteico (uréia), muscular (creatinina), ácido úrico e uratos. Os íons sódio, potássio, cloro e hidrogênio que tendem a acumular-se em quantidades excessivas também são filtrados pelos néfrons. Os mecanismos básicos da função renal são filtração, reabsorção de substâncias necessárias para o metabolismo e secreção (Tabela 1).

Tabela 1. Estruturas renais e suas funções de acordo com os segmentos celulares

| <b>Estrutura</b>                                     | <b>Função</b>  |
|--|--|
| Glomérulo  | Filtração do sangue  |
| Túbulo proximal                                      | Reabsorção volumosa da água e solutos filtrados  |
| Segmento delgado da alça de Henle                    | Manutenção da hipertonicidade medular pelo mecanismo de contra-corrente  |
| Segmento espesso do ramo ascendente da alça de Henle | Reabsorção de NaCl , geração da hipertonicidade medular, diluição do fluido tubular e reabsorção de cations divalentes |
| Túbulo contornado distal                             | Reabsorção de NaCl, diluição do fluido tubular e reabsorção de cations divalentes                                      |
| Sistema de ductos coletores                          | Controle final da taxa de excreção de eletrólitos, controle ácido-base e da água                                       |



**Figura 1.** Esquema das atividades de absorção, reabsorção e excreção em cada parte da estrutura do néfron.

## Filtração glomerular

O glomérulo constitui uma rede de capilares especificamente designado para reter componentes celulares e proteínas de alto e médio peso molecular no sistema vascular enquanto provém um fluido tubular que inicialmente possui uma composição eletrolítica e aquosa idêntica a do plasma. O fluido tubular inicial é chamado de **filtrado glomerular** e o seu processo de formação é conhecido como filtração glomerular. A **taxa de filtração glomerular** (TFG) é um parâmetro para avaliação da função renal.

O tufo glomerular é coberto por uma camada de células epiteliais denominada Cápsula de Bowman. A área entre o glomérulo e a cápsula de Bowman é denominada espaço de Bowman onde é o sítio da coleção de filtrado glomerular que vai desembocar no primeiro segmento tubular, o túbulo proximal.

A estrutura dos capilares glomerulares é importante para determinar a taxa e seletividade da filtração glomerular. A permeabilidade desses capilares é de 100 a 500x maior comparado a um capilar normal. A presença de numerosas fenestras nas células endoteliais dos capilares glomerulares permite esta permeabilidade. Devido a isso, o volume filtrado produzido é muito grande porém com uma grande seletividade para tamanho molecular. A membrana glomerular é praticamente impermeável a todas as proteínas plasmáticas, porém é altamente permeável a outras substâncias dissolvidas no plasma normal. Essa permeabilidade seletiva é responsável

pelas diferentes taxas de filtração do sangue. Em condições normais, os componentes celulares e proteínas plasmáticas de tamanho igual ou superior ao da albumina (aproximadamente 6nm), não atravessam a barreira de filtração enquanto a água e os solutos são livremente filtrados. Outro aspecto é a carga elétrica das proteínas plasmáticas. A parede glomerular possui glicoproteínas de carga elétrica negativa incorporadas a membrana basal que repelem negativamente proteínas plasmáticas de carga negativa reduzindo a passagem pela barreira de filtração. O formato e a deformidade também são aspectos relevantes na filtração.

O alto grau de seletividade da membrana está relacionado ao tamanho dos poros (permite a passagem de proteínas até 8 nm) e a elevada negatividade dos poros glomerulares que repulsam moléculas protéicas.

A composição do filtrado glomerular é semelhante ao líquido intersticial (solutos e eletrólitos). Diariamente, o ritmo de filtração glomerular no cão é de 53,3 L/dia. O filtrado difere do plasma por não possuir suficiente quantidade de proteínas.

### **Reabsorção e secreção tubular**

A reabsorção tubular é um processo seletivo que ocorre nos túbulos proximais, alça de Henle, túbulo distal e canal coletor. Nesse processo, 99% do filtrado glomerular é reabsorvido pelo epitélio onde a glicose e aminoácidos são totalmente reabsorvidos e  $K^+$  e  $H^+$  são eliminados.

O rim é o responsável pelo transporte ativo da glicose, aminoácidos,  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$ ,  $H_2CO_3$ ,  $P^+$  e íons urato. A glicose e os aminoácidos são transportados da luz tubular através da borda em escova pelo processo co-transporte de sódio onde se fixam à proteína carreadora do sódio que penetra na membrana e desloca ambos os compostos. Dentro da célula há separação da proteína carreadora e essa desloca-se por difusão facilitada para os capilares peritubulares.

Os túbulos proximais são altamente permeáveis à água e o transporte ocorre de maneira passiva através do epitélio tubular. Quando os diferentes solutos são transportados para fora do túbulo e através do epitélio tubular, a concentração produz osmose de água na mesma direção em que foram transportados os solutos. Algumas porções do sistema tubular são muito mais permeáveis à água que outras e isso é importante no mecanismo de controle da concentração urinária.

Aproximadamente metade da uréia permanece no líquido tubular, aumentando a sua concentração. A diferença da concentração de uréia que se estabelece entre o líquido tubular e peritubular permite a difusão. Este mesmo efeito ocorre também para outros solutos tubulares que não são reabsorvidos ativamente, mas que são difusíveis através da membrana tubular. Uma grande proporção de uréia permanece nos túbulos e é perdida na urina habitualmente cerca de 50% de toda quantidade que penetra no filtrado glomerular. A permeabilidade da membrana tubular para reabsorção de creatinina, insulina (um grande polissacarídeo), manitol (um

monossacarídeo) e sacarose é nula, o que significa que uma vez que essas substâncias foram filtradas para dentro do filtrado glomerular são na totalidade eliminadas pela urina.

O controle da permeabilidade do canal coletor à água é feito pelo ADH. Em situações onde há secreção excessiva desse hormônio, a água é reabsorvida para o interstício medular em grandes quantidades, reduzindo assim o volume de urina e concentrando a maioria dos solutos.

A segunda característica importante do epitélio do canal coletor é sua capacidade de secretar H<sup>+</sup>, contra um gradiente muito alto desses íons; desempenhando um papel extremamente importante no controle do equilíbrio ácido-básico dos líquidos corporais.

### **Fatores que afetam a filtração glomerular**

Os rins possuem habilidade para manter a taxa de filtração glomerular (TFG) dentro dos padrões fisiológicos em um nível relativamente constante a despeito das mudanças de pressão sanguínea e do fluido sanguíneo renal. A TFG é controlada pela modulação da pressão sanguínea sistêmica e volume intravascular, pelo controle intrínseco do fluxo sanguíneo renal, pressão capilar glomerular e o coeficiente de ultrafiltração (Cf). Esses efeitos são mediados primariamente por fatores humorais, sendo o mais importante o sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAA). O controle intrínseco da perfusão capilar glomerular é mediado também por sistemas de controle da resistência do fluxo nas arteríolas aferentes e eferentes. Estes dois sistemas autoreguladores são, o reflexo miogênico e o feedback tubuloglomerular.

O sistema renina-angiotensina-aldosterona é um mecanismo importante no controle da TFG e fluxo sanguíneo renal (FSR). A renina é um hormônio produzido por células especializadas da parede da arteríola eferente, as células mesangiais granulares extraglomerulares. A liberação da renina é estimulada por uma diminuição da pressão de perfusão renal (Figura 2).

Níveis elevados de angiotensina II também estimulam a produção e liberação de prostaglandinas vasodilatadoras renais (PGE<sub>2</sub> e PGI<sub>2</sub>) que são fatores moderadores do sistema renina-angiotensina-aldosterona. A função deles é contrapor ao efeito vasoconstrictor da angiotensina II na vascularização intrarenal e auxiliar na manutenção da resistência renal vascular em níveis normais ou próximos do normal. Sem este efeito, a vasoconstrição generalizada resultaria numa redução da TFG e FSR, a despeito da elevação da pressão sanguínea.

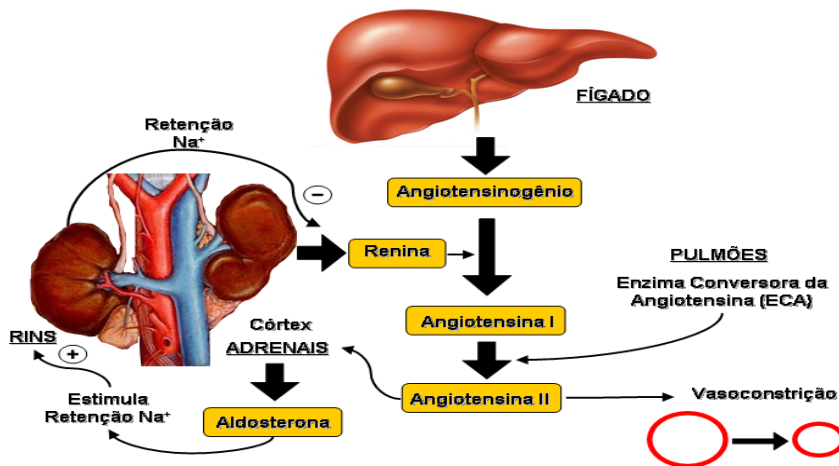


Figura 2. Esquema do sistema renina-angiotensina-aldosterona no controle da TFG.

A aferência aos rins provém da artéria aorta que se divide em artéria renal e esta em arteríola aferente, capilares glomerulares e peritubulares. Por sua vez a eferência dos rins é executada pela arteríola eferente que drena para a veia renal. A unidade morfo-funcional renal é o néfron, estrutura tubular microscópica que realiza todas as funções dos rins, estando presente em grande número, que varia de 300 mil a 1 milhão, dependendo da espécie animal. O néfron está dividido em duas porções, sejam o glomérulo de Malpighi e os túbulos (contorcido proximal, alça de Henle, contorcido distal e túbulo coletor), continuando em ducto coletor, que desemboca na pelve.

As funções dos néfrons resumem-se em 3 ações: filtração glomerular, reabsorção e secreção tubulares. A partir disso, o plasma equivalente a 20% do débito cardíaco é filtrado, dando origem ao filtrado glomerular e, conseqüentemente, ao líquido tubular, que após mecanismos de reabsorção de alguns nutrientes e secreção de metabólitos dará origem a urina, o principal líquido de excreção do organismo. A urina é coletada na pelve renal, que se continua em 2 ureteres, os quais penetram na bexiga onde se armazena a urina, a qual é excretada através da uretra.

### Coleta de urina

A melhor urina é a primeira da manhã, uma vez que está concentrada, devido às horas sem ingestão hídrica durante a noite. Assim apresenta elementos que expressam a real situação do trato urinário. A urina pode ser colhida por micção espontânea, cateterismo ou cistocentese, sendo que cada uma das técnicas produz algumas alterações que devem ser consideradas quando da interpretação dos resultados da urinálise.

Micção espontânea: sendo a técnica mais fisiológica, é a que causa menos agressão ao animal. Deve-se tomar o cuidado com contaminação ambiental neste tipo de coleta. Uma vez que a porção final do trato urinário contém bactérias saprófitas, preconiza-se a limpeza vaginal ou prepucial previamente à coleta e que se despreze o primeiro jato. Podem ser encontrados proteinúria e bacteriúria branda sem significado clínico quando se emprega este método de coleta urinária. Este tipo de coleta não deve ser empregado em cadelas ou gatas na presença de cio devido à contaminação da urina com sangue proveniente do trato reprodutivo.

Cateterismo: Existem catéteres urinários (sondas) específicas para cada espécie e sexo. Podem ser usadas sondas humanas para a cateterização de cães machos, sendo o calibre variável com o tamanho do animal. Emprega-se esta metodologia quando não se obteve resultados com a tentativa de coleta por micção espontânea. É o método mais traumático ao animal, podendo ser utilizado em cães e gatos machos obstruídos, na tentativa de desobstrução. Nos machos deve ser realizada uma limpeza prepucial com gaze umedecida. Após o pênis é exteriorizado e a sonda é inserida cuidadosamente, atentando-se para que ela não seja contaminada no ambiente e assim, carregue microorganismos para o interior do trato urinário do paciente. Ao introduzir a sonda haverá três pontos de resistência em cães machos: o osso peniano, a entrada da pelve e a entrada da bexiga. Assim que a sonda atingir a bexiga, a urina é drenada por capilaridade, no caso de a bexiga estar cheia, ou pode ser aspirada com seringa, cuidando-se para não lesionar a parede vesical com a ponta da sonda.

Como a uretra de cadelas e gatas é mais curta, as sondas são metálicas, podendo causar ainda mais traumatismos. O animal poderá permanecer em estação ou decúbito lateral durante a sondagem. Deve-se realizar uma limpeza vulvar antes de se iniciar a técnica. A partir daí, um espelho é introduzido na vagina, no sentido cranio-dorsal, tentando-se desviar do fundo de saco vaginal. Em seguida o meato urinário é visualizado com o auxílio de uma fonte de luz e a sonda esterilizada é inserida cuidadosamente até atingir a bexiga, momento em que a urina é drenada por capilaridade. Neste tipo de coleta espera-se encontrar na urinálise proteinúria, hematúria e presença de número moderado de células.

Cistocentese: Consiste na coleta de urina através da punção vesical com agulha 12x8 acoplada a seringa. Para a realização deste tipo de coleta, necessariamente a bexiga deve estar repleta e ser palpável. Esta técnica é utilizada em casos em que a tentativa de coleta por micção espontânea não surtiu resultados ou quando é requerido exame bacteriológico da urina, já que a bexiga é normalmente livre de patógenos. Apesar da punção abdominal e vesical, este método leva a menos traumatismos do que o anterior, podendo ser guiado por ultrassom. O animal pode ser contido em decúbito lateral ou dorsal. A região ventral deve ser tricotomizada e submetida a antissepsia. A bexiga deve ser palpada e firmada em uma das mãos, enquanto que com a outra a agulha acoplada a seringa é introduzida crânio caudalmente, na região média da bexiga, em um ângulo de 45°, com o objetivo de se evitar a região cranial da bexiga, a qual apresenta um

espessamento fisiológico da parede. À medida que a agulha penetra na bexiga, a urina drena para a seringa mediante pressão negativa.

Cada espécie animal apresenta particularidades, as quais podem influenciar no método de coleta urinária.

Ruminantes: O estímulo pra micção em vacas pode ser alcançado massagendo-se o clitóris. Em touros e carneiros, amarra-se um frasco de coleta e solta-se o animal a campo, sendo que quando o animal urinar, a urina ficará no frasco. Não se realiza sondagem em ruminantes machos devido a presença do “S” peniano e/ou apêndice vermiforme.

Equinos: Estimula-se a micção do garanhão ao levá-lo para perto da égua em cio. Éguas são facilmente cateterizadas, tendo-se apenas o cuidado de detectar o meato urinário por palpação transvaginal e introduzir o cateter guiado pela mão que palpa o meato.

Em pequenos animais podem ser realizados os três tipos de coleta, cada uma com seus aspectos positivos e negativos, sendo indicada de acordo com cada caso. Um bom estímulo para a micção de caninos é passear com o animal.

### **Acondicionamento da amostra**

A amostra de urina apresenta alta sensibilidade à temperatura ambiente. A urina deve ser analisada até no máximo 2 h após sua coleta se mantida fora de refrigeração. Após 30 minutos a esta temperatura inicia a multiplicação bacteriana, portanto deverá ser acondicionada a 4°C no máximo por 12 h se não for analisada até 2 h. Nesse caso, as bactérias, quando presentes, proliferam rapidamente e se forem redutoras de uréia irão alcalinizar a amostra. A urina alcalina, por sua vez, tende a dissolver os cilindros e ocasionar a cristalização dos solutos alterando o aspecto macro e microscópico da urina. Com a manutenção da urina no ambiente, várias outras alterações ocorrem, interferindo nos resultados do exame e, conseqüentemente, com a sua interpretação, tais como consumo de glicose, caso esteja presente e destruição de elementos figurados, como células e cilindros. Temperaturas inferiores à de refrigeração podem elevar a densidade específica da amostra e podem degradar os constituintes celulares.

Antes da análise da urina refrigerada, esta deve retornar à temperatura ambiente previamente, uma vez que a refrigeração torna susceptível a cristalização de determinadas substâncias ora presentes na amostra.

Existem conservantes que, ao serem adicionados à urina, atuam como estabilizantes. São eles o tolueno, o timol e a formalina. Indica-se o uso de 1 gota de formalina a 40% para cada 30 mL de urina. Deve-se ter em mente que os conservantes causam alterações químicas na urina, inviabilizando o exame químico.

A urina deve ser colhida em recipiente limpo, podendo ser de vidro ou plástico e obrigatoriamente estéril se a amostra for submetida a isolamento bacteriano e antibiograma. Se a amostra de urina não for analisada imediatamente após a coleta, os frascos escuros são

preferíveis pois a luz ambiental pode ocasionar a degradação de certos constituintes da urina, tais como bilirrubina e urobilinogênio, em menos de uma hora.

A primeira urina da manhã é preferível, pois provavelmente contém os elementos de significado diagnóstico, enquanto a ingestão de líquidos durante o dia dilui a urina. O frasco contendo a urina deve ser identificado, e enviado junto com a requisição devidamente preenchida. A seguir um exemplo de requisição:

Exame nº : \_\_\_\_\_

|                             |        |        |                       |                  |  |
|-----------------------------|--------|--------|-----------------------|------------------|--|
| Proprietário :              |        | RG :   |                       | Data: / /        |  |
| Espécie :                   | Raça : | Sexo : | Idade :               | Horário coleta : |  |
| Diagnóstico provisório:     |        |        | Sob Tratamento? Qual? |                  |  |
| História Clínica resumida : |        |        |                       |                  |  |

Coleta: ( ) Cistocentese ( ) Cateterismo ( ) Micção natural

## A URINÁLISE

A urinálise, ou exame comum de urina (ECU), também chamado exame químico de urina (EQU), consiste em um exame de primeira linha. Isso implica na sua utilização como um dos primeiros exames complementares a serem solicitados pelo clínico veterinário, juntamente com o hemograma e o exame parasitológico de fezes. Este exame presta grande auxílio, uma vez que traz informações não somente sobre o trato urinário (inferior e superior), mas também sobre outros órgãos e sistemas, também servindo como exame de triagem e de *check-up*. O EQU está dividido em 3 partes: exame físico, exame químico e exame do sedimento.

## EXAME FÍSICO DA URINA

Consiste na observação visual e macroscópica das características da urina.

### Volume

O volume de urina produzido diariamente pode ser bastante variável, dependendo da espécie e raça do animal, estado de hidratação, temperatura ambiente e umidade relativa do ar, atividade, dieta, fluidoterapia, tamanho e peso do animal, ingestão de medicamentos e doenças que interfiram na manutenção hídrica do organismo. Como em animais a obtenção de urina padrão de 24 horas é muito difícil, o volume é na verdade a quantidade de urina recebida pelo laboratório. O volume mínimo para a realização adequada do exame é de 10 mL. Em condições de saúde, o volume urinário é inversamente proporcional à densidade urinária específica; portanto, o aumento da quantidade de urina excretada, ou poliúria, está associada à densidade específica baixa; e a oligúria, diminuição do volume urinário está associada à densidade específica elevada (Tabela 2). Se a função renal estiver em perfeitas condições, em um animal desidratado tem-se uma oligúria fisiológica, acompanhada de urina concentrada. Já um animal desidratado com poliúria, suspeita-se de alguma patologia (renal ou extra-renal).



## Cor

A cor fisiológica da urina é amarela, a qual pode variar de mais claro a mais escuro. A excreção de alguns compostos, tanto exógenos como endógenos, na urina pode levar a alteração de sua coloração. A cor da urina deve sempre ser considerada associada à densidade específica e volume urinário. A intensidade da coloração urinária depende da concentração de urocromos, e varia inversamente com o volume urinário. A coloração normal da urina pode variar do amarelo-palha ao âmbar claro, e em eqüinos até a tonalidade amarronzada. Entre as cores mais importantes:

- Pálida ou amarelo-clara: geralmente é uma urina diluída com densidade baixa e associada à poliúria. Pode ser observada na doença renal terminal, ingestão excessiva de líquidos, Diabetes insipidus, hiperadrenocorticismo, piometra, fase poliúrica da nefrose tóxica.

- Amarelo-escura ao âmbar: urina concentrada com densidade elevada e associada à oligúria. Pode ser associada à febre, desidratação, diminuição de ingestão hídrica, nefrite aguda (fase oligúrica), nefrose tóxica.

- Alaranjado-âmbar a amarelo-esverdeada: forma uma espuma alaranjada ou esverdeada quando agitada e se relaciona com a presença de bilirrubina.

- Avermelhada: pode indicar presença de hemoglobina e/ou hemácias. Após a centrifugação ou sedimentação a hematúria simples apresenta-se com sobrenadante límpido.

- Marron: pode indicar presença de hemoglobina, mioglobina, ou urina normal de eqüinos após certo tempo (oxidação por pirocatequina).

- Azul-esverdeada: pode ser devido ao azul de metileno, que comumente é encontrada na composição de antissépticos urinários.

A urina normal quando agitada forma uma certa quantidade de espuma branca, típica. Na proteinúria, a quantidade de espuma é abundante e demora a desaparecer. Na bilirrubinúria a espuma frequentemente apresenta-se esverdeada ou acastanhada; na hemoglobinúria, a espuma apresenta-se avermelhada.

## Odor

O odor fisiológico da urina é caracterizado como *sui generis*, o qual varia entre as espécies. A urina normal dos herbívoros tem um odor aromático, mais intenso nos ruminantes, enquanto que nos carnívoros é picante e aliáceo. O odor da urina dos machos de certas espécies é pronunciado, e às vezes até repugnante (suíno, felino e caprino). O odor normal da urina é conferido pela presença de ácidos orgânicos voláteis. Entre os odores mais importantes:

- Pútrido: indica necrose tecidual de vias urinárias

- Adocicado: presença de corpos cetônicos; associado a Diabetes melito e acetonemia da vaca leiteira

- Amoniacal: observado na urina de animais com infecção bacteriana.

## **Aspecto**

O aspecto fisiológico da urina é límpido, a exceção do equino, cuja urina é turva devido à presença de cristais de carbonato de cálcio e muco. A presença na urina de elementos figurados podem torná-la levemente turva a turva. Para se detectar esta característica transfere-se a amostra para um tubo transparente de vidro. A capacidade de se realizar a leitura de algo através do vidro caracteriza a urina como límpida. A observação das letras com impossibilidade de leitura a caracteriza como levemente turva e a não observação de letras, como turva.

Os elementos que levam à turbidez da urina são aqueles que não se dissolvem na porção aquosa, como bactérias, muco, cristais, cilindros, leucócitos, eritrócitos e células epiteliais de descamação. Estes elementos farão parte do sedimento após o ato da centrifugação e não alteram a densidade específica. A contaminação da urina por exsudato de trato genital também pode ser a causa da turvação da urina colhida sem cateterização. O único meio de se saber a causa da turbidez é o exame microscópico.

## **Consistência**

A consistência fisiológica da urina de todas as espécies, excetuando-se a equina, é líquida. Os equinos apresentam a urina viscosa devido à presença de glândulas produtoras de muco no trato urinário inferior. O fato de esta espécie formar cristais de carbonato de cálcio com mais facilidade também pode colaborar com a viscosidade e tornar a urina levemente turva. Nas demais espécies, a viscosidade pode ocorrer em infecções severas do trato urinário, com presença maciça de muco.

## **Densidade**

Também chamada de gravidade específica, consiste na relação entre a massa de uma solução e igual volume de água e é avaliado por refratometria, comparando-se com o índice de refração da água na presença de luminosidade. Representa a concentração dos sólidos em solução urinária e retrata o grau de reabsorção tubular ou da concentração renal. Preferencialmente é obtida por refratometria uma vez que as tiras urinárias não são eficazes para determinar a densidade em caninos. Para determinação, prefere-se o uso do sobrenadante após a centrifugação. A densidade urinária é influenciada por fatores como peso corporal, dieta, exercício, idade, condições climáticas e metabolismo.

Caracteriza-se como uma das características mais importantes da urina. Com esta informação temos a possibilidade de avaliar a função concentradora dos néfrons. Porém a densidade deve sempre ser analisada à luz do estado de hidratação do paciente. Caso não se tenha esta informação, o teste de privação hídrica e uma nova avaliação da densidade pode auxiliar nesta investigação. De um modo geral, pode-se considerar uma variação entre 1.015 e 1.045, sendo

que uma única determinação fora destes limites não significa, obrigatoriamente, alteração renal. Portanto, deve ser interpretada junto ao grau de hidratação e ingestão hídrica recente do animal.

A densidade fisiológica em um animal desidratado deve ser maior que 1.030-1.035. Caso seja inferior isto significa que os rins não estão com sua capacidade de concentrar urina totalmente funcionais ou que estão refratários ao ADH, como ocorre em algumas patologias renais, ou ainda, que o ADH não está sendo produzido eficientemente, como ocorre na diabetes insipidus. Indica-se neste caso uma avaliação mais detalhada.

A capacidade concentradora renal é a primeira função afetada, quando 2/3 de ambos os rins estão afuncionais, o que caracteriza uma doença renal. A azotemia renal só começa a se desenvolver quando 3/4 nos néfrons estão comprometidos, caracterizando uma insuficiência renal. Seja qual for o tipo de patologia renal, seja aguda ou crônica, a densidade sempre estará baixa.

Quanto à classificação, a urina pode ser denominada de hipostenúrica (menor ou igual a 1.007), isostenúrica (entre 1.008 a 1.012) e de elevada densidade urinária (acima de 1.030 para cães e 1.035 para gatos). Em algumas doenças renais, observa-se há perda da capacidade renal de concentrar a urina, reduzindo a densidade. As causas mais freqüentes de alterações na densidade específica urinária estão representadas na Tabela 2.

Tabela 2. Condições não patológicas e patológicas de alterações da densidade

|                           | <b>Não patológico (transitório)</b> | <b>Patológico</b>      |
|---------------------------|-------------------------------------|------------------------|
| Poliúria<br>(↓ densidade) | ingestão excessiva de água          | diabetes mellitus      |
|                           | terapia diurética                   | diabetes insípida      |
|                           | fluidoterapia                       | insuficiência renal    |
|                           | terapia de corticóides              | hipoplasia renal       |
|                           |                                     | pielonefrite           |
|                           |                                     | piometra               |
|                           |                                     | hepatopatias           |
|                           |                                     | hiperadrenocorticismo  |
| Oligúria<br>(↑ densidade) | redução de ingestão de água         | desidratação por perda |
|                           | temperatura elevada                 | febre                  |
|                           | hiperventilação                     |                        |
|                           | alta atividade física               |                        |

## EXAME QUÍMICO DA URINA

Para que se realize esta parte da urinálise, devemos utilizar tiras reagentes urinárias, comercialmente disponíveis, as quais apresentam vários quadradinhos impregnados de reagentes específicos para cada substância supostamente presente na urina. A partir do momento em que a urina entrar em contato com seu respectivo reagente, terá início a reação, a qual determinará a alteração na coloração inicial da tira em torno de 30 – 60 segundos, o que pode ser comparado com escala presente no rótulo do produto, sendo um método semi-quantitativo para a realização rápida do exame químico da urina.

## pH

Os rins são um dos componentes do sistema responsável pela manutenção do pH sanguíneo, seja pela excreção ou manutenção de ácidos ou bases do organismo. Para manter o pH sanguíneo constante, entre 7,35 – 7,45, haverá alteração do pH urinário, o que corresponde a condições alimentares e metabólicas. Assim, animais que ingerem alimentos como carne e cereais apresentam pH urinário de ácido a neutro, como carnívoros (pH urinário 5,5-7,0) devido à presença de fosfatos ácidos de sódio e cálcio, enquanto que os herbívoros, com dieta mais alcalina, apresentam o pH urinário fisiológico entre 7,0-8,5 devido à presença de bicarbonato de cálcio solúvel. Neonatos de qualquer espécie, por ingerirem unicamente leite, apresentam pH urinário ácido.

As alterações do pH urinário geralmente indicam mais uma alteração sistêmica do que um processo localizado em nível de sistema urinário. Alterações metabólicas, como a fase cetoadidótica da diabetes mellitus, insuficiência renal, dieta hiperproteica, administração de acidificantes (cloreto de amônio, cloreto de cálcio, DL-metionina, fosfato ácido de sódio), catabolismo de proteínas orgânicas (febre, jejum, diabetes mellitus), acidose metabólica ou respiratória, entre outras, tornam a urina ácida.

São causas de urina alcalina atraso no processamento e má conservação da amostra, cistite associada a bactérias produtoras de urease (*Staphylococcus* sp. e *Proteus* sp.), administração de alcalinizantes (bicarbonato de sódio, lactato de sódio, citrato de sódio), retenção urinária vesical e alcalose metabólica ou respiratória.

## Proteínas

Em condições fisiológicas, as proteínas são 100% mantidas no sangue durante a filtração glomerular e reabsorção tubular, não estando presentes na urina. Em condições normais a quantidade de proteína na urina é muito pequena e geralmente as tiras urinárias não detectam. Porém, dependendo da concentração urinária (urinas concentradas), do tipo de coleta de urina ou da categoria animal (cães machos), pode-se encontrar proteinúria leve, relacionada ao trato urinário baixo (bexiga e uretra). Para que não se tenha dúvidas deve-se sempre elucidar a origem da proteinúria. A presença de proteínas na urina deve ser avaliada à luz da densidade urinária e do sedimento, associado a achados clínicos.

Proteinúria pré-renal: ocorre por alterações não renais decorrentes de febre, convulsões ou exercício muscular intenso. A hipertensão glomerular pode levar a proteinúria branda, como ocorre no hiperadrenocorticismismo canino. Pode também estar associada a perda glomerular de proteínas de baixo peso molecular, como as produzidas nos plasmocitomas.

Proteinúria renal: quando os rins perdem a capacidade de filtração por sofrer uma alteração de permeabilidade capilar, como ocorre em algumas doenças com deposição de

imunocomplexos nas microvasculaturas, o que causa a lesão endotelial, por exemplo, glomerulonefrite e amiloidose renal. Este tipo de proteinúria está associado à presença de cilindros e células renais no sedimento e normalmente é acompanhado de densidade urinária baixa e azotemia. O significado da perda protéica renal pode ser determinado calculando-se a razão proteína /creatinina urinárias. Valores acima de 1 para o cão e 0,7 para o gato sugerem doença renal ou inflamação do trato urinário.

**Proteinúria pós-renal:** ocorre em doenças do trato urinário inferior, como cistites e uretrites. Geralmente está acompanhada de eritrócitos, leucócitos e células epiteliais do trato urinário baixo no sedimento e ausência de cilindros. A densidade encontra-se dentro dos valores fisiológicos. Na maioria dos casos, alterações no comportamento de micção são evidentes, como disúria, polaquiúria e estrangúria.

As tiras de urinálise são sensíveis para albumina e não para proteínas Bence-Jones. Geralmente o pH urinário elevado pode interferir o resultado desse método e nesse caso (pH urinário acima de 7,5) recomenda-se os testes de precipitação ácida (ácido sulfosalicílico) para detecção semiquantitativa de proteína na urina. Essa técnica detecta albumina e demais tipos de proteína. O grau de proteinúria não é necessariamente proporcional à severidade da doença principalmente na proteinúria renal. As causas de proteinúria são relacionadas na Tabela 3.

Tabela 3. Causas de proteinúria

**Proteinúria fisiológica**

- exercício muscular excessivo
- convulsões
- ingestão excessiva de proteínas
- função renal alterada nos primeiros dias de vida

**Proteinúria patológica**

| <b>Origem</b> | <b>Significado</b>   | <b>Patologias</b>  |
|---------------|--|--|
| Pré-renal     | - doença primária não renal  | hemoglobinúria<br>mioglobinúria<br>γ - globulinúria  |
| Renal         | - aumento da permeabilidade capilar<br>- doença tubular com perda funcional<br>- sangue ou exsudato inflamatório renal | nefrose / cistos renais<br>glomerulonefrite<br>nefrite / pielonefrite<br>neoplasias / hipoplasia |
| Pós-renal     | - infecções do trato urinário inferior<br>- hematúria pós-renal<br>- obstrução por cálculos (urolitíase)               | pielite / ureterite<br>cistite / uretrite<br>vaginite / postite                                  |

**Glicose**

A glicose é filtrada nos glomérulos, mas a sua maior parte é reabsorvida nos túbulos proximais, portanto não deve aparecer na urina em condições fisiológicas. A glicosúria ocorre sempre que a glicemia exceder a capacidade de reabsorção renal (Tabela 4).

Tabela 4. Valores de glicemia a partir dos quais observa-se glicosúria (adaptado de Latimer et al., 2003).

| <b>Espécie</b> | <b>Glicemia (mg/dl)</b> |
|----------------|-------------------------|
| Bovinos        | > 100                   |
| Caninos        | > 180                   |
| Felinos        | > 280                   |
| Aves           | > 600                   |

Também deve ser verificada a origem desta glicosúria como renal ou não-renal. A glicosúria renal (perda da capacidade reabsortiva tubular) ocorre acompanhada de densidade baixa, sedimento característico de lesão renal e azotemia, enquanto que a glicemia permanece dentro de valores fisiológicos (70-110 mg/dL). Por outro lado, a glicosúria extra renal pode acontecer se os valores sanguíneos de glicose extrapolam a capacidade reabsortiva dos rins (limiar renal), que está em torno de 180-220 mg/dL (plasmática). Isso pode ocorrer na diabetes mellitus, associada a hiperglicemia de jejum persistente e densidade normal.

A glicosúria pode também estar associada ao hiperadrenocorticismismo, no tratamento parenteral com glicose e fructose, na pancreatite necrótica aguda, na ingestão excessiva de açúcares e administração parenteral de adrenalina. Nos casos em que se observa glicosúria não associada a hiperglicemia pode-se relacionar a nefropatias congênitas ou hereditárias e a doenças renais com comprometimento da porção tubular proximal. A glicosúria falso-positiva pode ocorrer por reação química cruzada após administração de certos antibióticos, substâncias redutoras de açúcar e outros medicamentos.

### **Corpos cetônicos**

A urina fisiológica é livre de corpos cetônicos (aceto-acetato,  $\beta$ -hidroxibutirato e acetona). A cetonúria ocorre quando estes compostos aumentam no plasma (cetonemia) em decorrência de distúrbios no metabolismo de carboidratos e ácidos graxos. Exemplos de condições que levam a cetonúria são: cetose das vacas, jejum prolongado, anorexia, lipidose hepática, fase ceto-acidótica da diabetes mellitus, toxemia da prenhez dos pequenos ruminantes, hepatopatias e febre em animais jovens. As tiras usadas na rotina não são capazes de medir o  $\beta$ -hidroxibutirato.

### **Bilirrubina**

Fisiologicamente, a urina não apresenta bilirrubina. Cães machos com urina concentrada, por apresentarem baixo limiar para excreção de bilirrubina, podem mostrar bilirrubinúria discreta fisiologicamente. Patologicamente, distúrbios hepáticos (hepatite infecciosa canina, Leptospirose e neoplasias) ou hemolíticos e a obstrução das vias biliares com colestase intra e

extra-hepática, causam bilirrubinúria previamente ao aumento de bilirrubina plasmática. Neste caso sugere-se uma avaliação hepática mais específica.

A bilirrubinúria deve sempre ser interpretada em associação a densidade específica urinária. A urina obtida de cães saudáveis normalmente contém alguma quantidade de bilirrubina, principalmente quando a amostra possui elevada densidade específica. O limiar de excreção de bilirrubina no cão é baixo em condições normais e por isso, normalmente, não se observa.

### **Urobilinogênio**

O urobilinogênio é um cromógeno formado no intestino por ação bacteriana redutora de bilirrubina. Uma parte do urobilinogênio é excretada através das fezes, mas outra é absorvida pela circulação portal, retornando ao fígado e sendo eliminada pela bile. Pequena quantidade de urobilinogênio atinge os rins através da circulação, sendo excretado pela urina.

A fita reagente é geralmente insensível ao urobilinogênio. Para melhor interpretação deve-se realizar a prova de Ehrlich. A urina de cães e gatos geralmente possui reação positiva de urobilinogênio até diluição de 1:32. A ausência ou diminuição do urobilinogênio urinário está relacionado a distúrbios intestinais de reabsorção (diarréia) enquanto que o aumento em quantidades maiores que 1 U/dL reflete dano hepático obstrutivo, hepatite por incapacidade funcional de remoção do urobilinogênio da circulação, cirrose hepática e icterícia hemolítica.

### **Sangue oculto**

A urina fisiológica não deve conter sangue oculto, que consiste em eritrócitos, hemoglobina livre ou mioglobina. Para se realizar a diferenciação entre estes três componentes (Tabela 5), deve-se avaliar conjuntamente o sedimento. Após a centrifugação, os eritrócitos sedimentam, enquanto que a hemoglobina e a mioglobina permanecem no sobrenadante.

Para diferenciar hemoglobinúria de mioglobinúria pode-se realizar o seguinte teste:

1. Identificar as amostras positivas para mioglobina / hemoglobina pela tira reagente
2. Saturar 5 mL de urina com sulfato de amônio (2,8 g)
3. Agitar fortemente e centrifugar a 2000 rpm por 10 minutos
4. Passar a tira reagente novamente no sobrenadante:

Teste positivo = mioglobina

Teste negativo = hemoglobina

A mioglobinúria ocorre em distúrbios musculares graves, sendo detectado concomitantemente um aumento na atividade sérica de CK.

Deve ser identificada a origem do sangue presente na urina como renal ou pós-renal. De acordo com a avaliação do sedimento pode-se verificar a presença de estruturas características do trato urinário inferior e densidade dentro dos valores normais quando se tratar de sangramento pós-renal. Por outro lado, a densidade baixa e a presença no sedimento de

estruturas que caracterizam dano renal caracterizam o sangramento renal. A presença de cilindros eritrocitários e dismorfismo eritrocitário no sedimento são fortes indicativos de dano nos néfrons.

Tabela 5. Diferenciação entre as causas de hemoglobinúria e mioglobinúria.

|   |
|---|
| <b>Causas de hemoglobinúria</b>   |
| Agentes infecciosos como leptospirose, piroplasmose, certas estreptocócicas |
| Fotossensibilização e plantas tóxicas                                       |
| Agentes químicos, como Cobre e mercúrio                                     |
| Transfusões sanguíneas incompatíveis  |
| Anemia infecciosa eqüina  |
| Doença hemolítica do recém-nascido  |
| <b>Causas de mioglobinúria</b>  |
| Mioglobinúria paralítica dos eqüinos  |
| Acidente ofídico por cascavel   |

### Outros testes

A enzímúria pode ser avaliada realizando-se dosagens bioquímicas das enzimas presentes na urina, o que pode prestar grande auxílio clínico. As enzimas GGT (gama-glutamil transferase) e FA (fosfatase alcalina) apresentam alta atividade nas células tubulares, sendo que a mensuração de sua excreção por 24h consiste em um bom marcador da função tubular. A razão enzima/creatinina é um indicador de dano tubular inicial mesmo anteriormente de o dano afetar a densidade urinária.

### EXAME MICROSCÓPICO DO SEDIMENTO

O exame do sedimento deve ser padronizado e para um exame representativo. Uma amostra homogeneizada de urina fresca (10-15 mL) é centrifugada em um tubo de ensaio a baixa velocidade (1500 rpm) por 5-10 minutos até que um depósito coeso seja produzido no fundo do tubo. O sobrenadante é decantado e um volume de 0,2 a 0,5 mL é deixado no tubo. O sedimento é ressuspenso no sobrenadante agitando-se o tubo várias vezes. Uma gota do sedimento ressuspenso é colocada sobre a lâmina e coberta com a lamínula.

O sedimento inicialmente é analisado sob pequeno aumento (100x) para identificar a maioria dos cristais, cilindros, células pavimentosas e outras estruturas maiores. O número de cilindros visto é geralmente descrito como número por campo de pequeno aumento (CPA). Exemplo: 5-10 cilindros hialinos/CPA. Uma vez que o número de elementos encontrados em cada campo pode variar consideravelmente de um campo para outro, faz-se a média de vários campos. Em seguida, a continuidade do exame é realizada em grande aumento (400x) para identificar os demais cristais, células e bactérias. Os tipos celulares são geralmente descritos como de cada tipo encontrado por média de campo de grande aumento (CGA). Exemplo: 1-5 leucócitos/CGA.



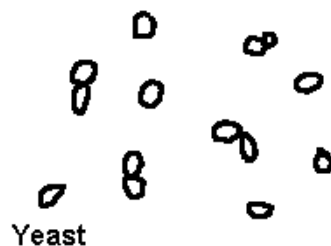
## Bactérias

Bactérias são comumente encontradas em amostras de urina devido a abundante flora microbiana fisiológica da vagina e meato urinário externo e devido à sua habilidade de se multiplicar rapidamente na urina à temperatura ambiente. Portanto, organismos microbianos encontrados em todas, exceto as coletadas mais assepticamente devem ser interpretadas às vistas dos sinais clínicos. Deve-se ter cuidado com falsa bacteriúria por tempo prolongado de exposição da amostra de urina previamente ao exame.

Uma grande quantidade de bactérias em amostra de urina fresca sugere infecção bacteriana em algum ponto do trato urinário, especialmente quando associada a outros sinais de inflamação como piúria, hematúria e proteinúria. A presença de bacteriúria em caso de suspeita de infecção do trato urinário inferior requer cultura. O achado de múltiplos organismos reflete contaminação. Entretanto, a presença de qualquer organismo em amostras coletadas por cistocentese deve ser considerada significativa.

## Fungos

A presença de leveduras podem ser contaminantes ou representar uma infecção fúngica verdadeira. Elas geralmente são difíceis de distinguir de eritrócitos e cristais amorfos, mas são diferenciados pela sua tendência ao brotamento.

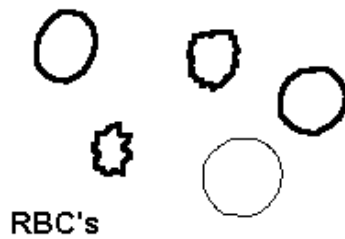


## Eritrócitos

As hemácias são menores que os leucócitos e seu achado é normal quando na quantidade de 1 a 2/campo de observação no microscópio. Quando superior a 5/campo pode ser considerado hematúria, que é a presença de número anormal de eritrócitos na urina, devido a dano glomerular, tumores no trato urinário, trauma renal, lesão causada por cálculos urinários, infarte renal, necrose tubular aguda, infecções e inflamações no trato urinário inferior ou superior, (pielonefrite, ureterite, cistite, pielite, prostatite), traumas (cateterização, cistocentese, neoplasias renais vesicais ou prostáticas), congestão passiva renal, infarto renal, certos parasitas (*Dioctophima renale*, *Sthefanurus sp*, dirofilariose), intoxicação (cobre e mercúrio), distúrbios hemostáticos, estro, pós-parto, nefrotoxinas e stress físico.

Os eritrócitos também podem contaminar a urina proveniente da vagina (período estral) ou de trauma produzido por cateterização vesical. Teoricamente, nenhum eritrócito deveria ser encontrado na urina, mas alguns estão presentes até mesmo em animais saudáveis. Entretanto,

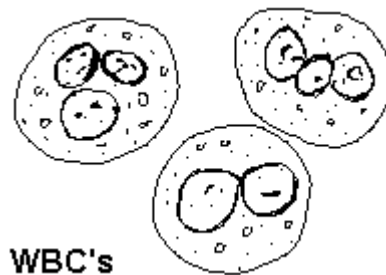
se mais de cinco eritrócitos forem encontrados na média de CGA e se contaminação for descartada, a amostra pode ser considerada anormal.



Os eritrócitos podem aparecer normocíticos, engurgitados pela urina diluída ou crenados pela urina concentrada. Tanto os engurgitados, como os parcialmente hemolizados e os crenados às vezes são difíceis de distinguir dos leucócitos na urina. A presença de eritrócitos dismórficos na urina sugere doença glomerular, como glomerulonefrite. Eritrócitos dismórficos têm formas variadas como consequência da distorção pela qual sofrem, durante a passagem pelos glomérulos alterados.

### **Leucócitos**

Apresentam-se como células granulares maiores que as hemácias, porém menores que as células epiteliais. Normal quando 1 a 2/campo e quando maior que 5/campo é considerado leucocitúria ou piúria. O termo piúria refere-se à presença de número anormal de leucócitos, os quais podem aparecer com infecção tanto no trato urinário inferior como superior, ou com glomerulonefrite aguda. Geralmente, os leucócitos são granulócitos. Leucócitos provenientes da vagina, especialmente na presença de infecções vaginais ou cervicais, ou do meato urinário externo podem contaminar a urina. Se cinco ou mais leucócitos por CGA aparecerem na urina não contaminada, a amostra provavelmente seja anormal. Leucócitos têm núcleo lobulado e citoplasma granular. Em pH alcalino, os leucócitos tendem a apresentar-se sob a forma de grumos.

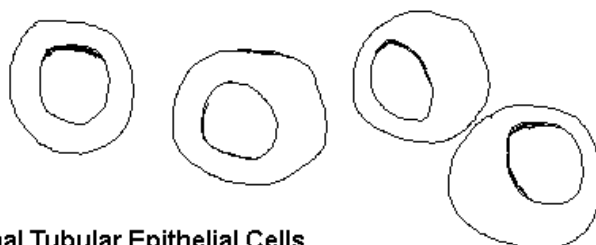


As causas de leucocitúria podem ser inflamações renais (nefrite, glomerulonefrite, pielonefrite), inflamações do trato urinário inferior (uretrite, cistite) e inflamações do trato genital (vaginite, prostatite e metrite).

### **Células epiteliais**

Normal quando estão ausentes ou têm discreta presença. Quando em quantidade elevada (>5 células/campo) podem indicar lesão local ou difusa. As células podem ser diferenciadas quanto sua morfologia como do epitélio renal, pelve, vesical, uretral e vaginal (Tabela 6). Em urinas de retenção ou quando há demora de exame, as células podem apresentar-se degeneradas.

Células epiteliais tubulares renais, geralmente maiores do que leucócitos, contêm núcleo grande oval e normalmente esfoliam-se na urina em pequenos números. Entretanto, na síndrome nefrótica e condições que levam a degeneração tubular, a esfoliação é maior.



**Renal Tubular Epithelial Cells**

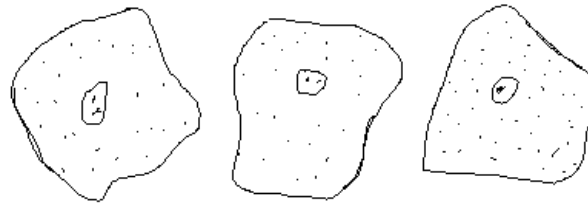
Quando ocorre lipidúria, estas células contêm lipídios endógenos. Quando preenchidos com numerosas gotículas lipídicas, são chamadas de corpúsculos de gordura ovais.

As células epiteliais de transição da pelve renal, ureter ou bexiga apresentam bordas mais irregulares, núcleo maior e tamanho menor que as células do epitélio escamoso. As células epiteliais tubulares renais são menores e mais arredondadas que as do epitélio de transição, e o seu núcleo ocupa mais espaço em relação ao volume celular total.



**Transitional Epithelial Cells**

As células epiteliais pavimentosas da superfície da pele ou da porção externa da uretra podem aparecer na urina. A sua presença representa possível contaminação na amostra com a flora cutânea.



**Squamous Epithelial Cells**

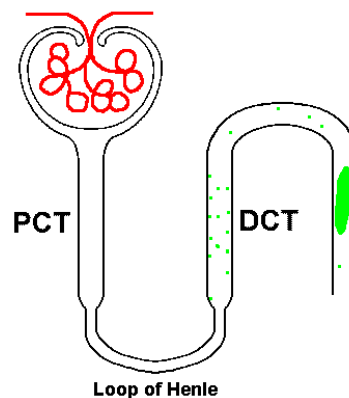
Tabela 6. Causas prováveis do elevada quantidade de células epiteliais na urina

| <b>Tipo de células</b> | <b>Possíveis causas</b>  |
|------------------------|--|
| Renais                 | degeneração tubular aguda, intoxicação renal, isquemia renal e processo inflamatório |
| Pelve                  | pielite, pielonefrite  |
| Vesicais               | cistite, cateterização agressiva   |
| Uretrais               | uretrite, cateterização agressiva  |
| Neoplásicas            | diagnóstico por morfologia citológica do sedimento                                   |

### Cilindros

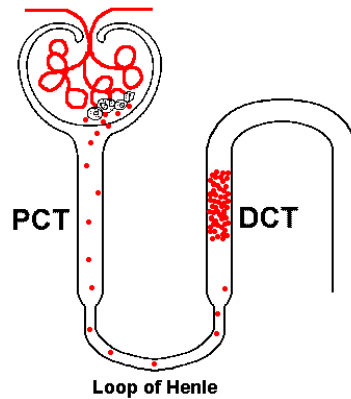
São constituídos primariamente de mucoproteína e proteína que aderem-se ou não a outras estruturas, sendo normal quando ausentes. Representam moldes dos túbulos onde são formados, como nos ductos coletores, túbulos contorcidos e alça de Henle. A formação dos cilindros dá-se na porção renal tubular, onde a urina atinge concentração máxima e acidez, o que favorece a precipitação de proteínas e mucoproteínas. Qualquer lesão tubular presente no momento da formação dos cilindros pode refletir a sua composição. Deste modo os cilindros são classificados conforme o material que contém (Tabela 7). Os cilindros não se formam em baixas densidades ou em pH alcalino.

Cilindros hialinos são compostos primariamente de mucoproteínas (proteínas de Tamm-Horsfall) secretadas por células tubulares. A secreção de tais proteínas (pontos verdes) é ilustrada no diagrama abaixo, formando o cilindro hialino no ducto coletor:

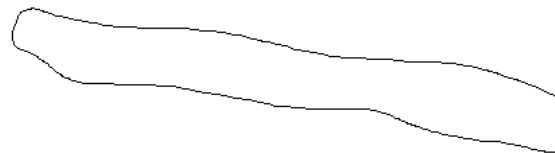


Mesmo que a injúria glomerular cause aumento de permeabilidade glomerular a proteínas plasmáticas, com proteinúria resultante, a maior parte da matriz que produz os cilindros é a

proteína de Tamm-Horsfall, embora a albumina e algumas globulinas também sejam incorporadas. Um exemplo de inflamação glomerular com liberação de eritrócitos, produzindo um cilindro eritrocitário é mostrado no diagrama abaixo:



Os fatores que favorecem a formação dos cilindros são baixo fluxo urinário, alta concentração de sais e baixo pH, todos os quais favorecem a desnaturação e precipitação protéica, particularmente as de Tamm-Horsfall. Cilindros proteicos com cauda longa e fina produzidos na junção da alça de Henle com o túbulo contorcido distal são chamados cilindróides. Cilindros hialinos podem ser encontrados, em pequeno número, em animais saudáveis.



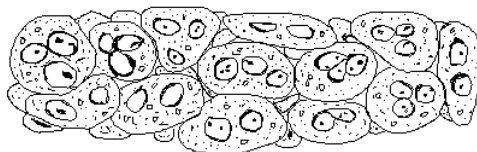
Hyaline Cast

Os eritrócitos podem se agrupar e formar cilindros eritrocitários. Tais cilindros são indicativos de glomerulonefrites, com liberação de eritrócitos do glomérulo ou severo dano tubular.



Red Blood Cell Cast

Cilindros leucocitários são mais comumente encontrados na pielonefrite aguda, mas podem também estar presentes na glomerulonefrite. A sua presença indica inflamação renal, pois tais cilindros só se formam nos rins.

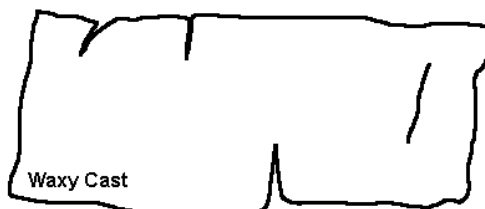


White Blood Cell Cast

Quando cilindros celulares permanecem nos néfrons por algum tempo antes de serem liberados na urina, as células podem se degenerar, produzindo o cilindro granular e, posteriormente, cilindro céreo. Acredita-se que estes dois últimos tipos são derivados de cilindros epiteliais tubulares renais. Cilindros largos emanam de túbulos danificados e dilatados e são, portanto, encontrados no estágio final de insuficiências renais crônicas.



Granular Cast



Waxy Cast

No estágio final de doenças renais o sedimento torna-se escasso, pois os poucos néfrons remanescentes produzem urina diluída.

Tabela 7. Tipos de cilindros urinários, sua composição e interpretação

| <b>Tipo</b>  | <b>Composição</b>         | <b>Interpretação</b>   |
|--------------|---------------------------|--|
| Hialino      | mucoproteínas e proteínas | geralmente associados a proteinúria, processos transitórios como febre e congestão, doença renal |
| Hemático     | muco + hemácias           | hemorragia glomerular e tubular, glomerulonefrite aguda, nefropatia crônica em fase evolutiva    |
| Leucocitário | muco + leucócitos         | associados a inflamação renal, pielonefrites e abscessos renais                                  |
| Epiteliais   | muco + restos celulares   | semelhante à presença de células isoladas, inflamações renais                                    |
| Granuloso    | muco + outras estruturas  | degeneração tubular, necrose de células tubulares  |
| Céreo        | cilindros angulares       | devido à grande permanência tubular, fase final da degeneração tubular, lesão tubular crônica    |

## Cristais

São produtos finais da alimentação do animal e dependem para sua formação do pH urinário. Grande quantidade de cristais pode indicar urolitíase, embora possa haver cálculos sem cristalúria e vice-versa. Exemplos de cristalúria em pH alcalino e ácido na Tabela 8. Cristais comuns encontrados mesmo em animais saudáveis consistem em oxalato de cálcio, carbonato de cálcio, fosfato triplo e fosfato amorfo. Cristais incomuns incluem cistina, tirosina ou leucina, encontrados em alterações no metabolismo de proteínas e doenças hepáticas. Cristais de bilirrubina e biurato de amônio são encontrados em doenças hepáticas obstrutivas.

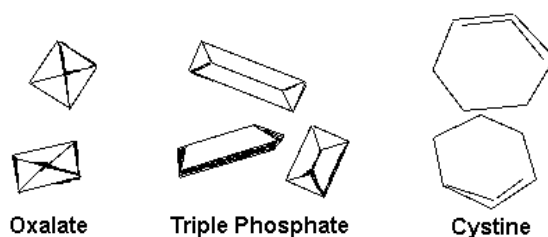


Tabela 8. Cristais encontrados em diferentes pHs

| <b>pH Alcalino</b>  | <b>pH Ácido</b>   |
|---------------------|-------------------|
| fosfato triplo      | urato amorfo      |
| fosfato amorfo      | oxalato de cálcio |
| carbonato de cálcio | ácido hipúrico    |
| urato de amônio     | cistina (raro)    |

## Provas de função renal

Os testes bioquímicos de função renal são realizados para o diagnóstico de doença renal e para a monitorização do tratamento. Os testes devem ser realizados após um criterioso exame clínico e analisado juntamente com a urinálise. A amostra deve ser obtida sem anticoagulante, porém, eventualmente algumas técnicas permitem o uso de plasma heparinizado ou com EDTA. Alguns cuidados devem ser tomados na coleta de sangue, como garroteamento prolongado, hemólise e obtenção de amostra suficiente para realização dos testes.

## Provas bioquímicas

As principais provas bioquímicas de função renal incluem a determinação da uréia e creatinina séricas/plasmáticas. Outras provas como sódio, potássio e fósforo séricos podem ser úteis no diagnóstico de doenças renais uma vez que são elementos excretados normalmente pela urina.

### Uréia (BUN)

A uréia é produzida no fígado através da arginase (ciclo da uréia) e é o principal produto final do catabolismo protéico. Por ser de baixo peso molecular, a uréia difunde-se igualmente pelos fluídos orgânicos. A uréia é excretada através do filtrado glomerular, em concentração

igual à do sangue. Em torno de 25 a 40% da uréia é reabsorvida através dos túbulos, na dependência do fluxo urinário e 60% é eliminada através da urina. Quando há maior velocidade de fluxo há menor absorção de uréia e vice-versa. Em situações em que ocorre diminuição da filtração glomerular, observa-se maior retenção da uréia. Isso ocasiona um aumento da concentração sangüínea, mas somente será considerada azotemia renal primária quando 75% dos nefrons de ambos os rins estão afuncionais.

A concentração de uréia é afetada por fatores extra-renais como ingestão proteica elevada e jejum prolongado. Devido a essas interferências, a uréia não é um bom indicador do funcionamento renal quando analisada unicamente. Para se analisar a função renal, esse parâmetro deve ser interpretado juntamente aos níveis de creatinina, proteína e densidade urinárias. Os fatores que interferem nos níveis de uréia estão relacionados na Tabela 9.

A redução dos níveis de uréia pode ocorrer pela diminuição da produção como em casos de Insuficiência hepática, na cirrose, no Shunt porto-sistêmico e em casos de redução da proteína dietética e hipoproteinemia.

Tabela 9. Causas de elevação dos níveis de uréia sangüínea

|                     |   |   |
|---------------------|---|---|
| <b>Extra-renais</b> | Aumento da síntese  | Ingestão proteica elevada<br>Hemorragia gastrointestinal                            |
|                     | Catabolismo tecidual  | Febre e trauma tecidual generalizado<br>Aplicação de glicocorticóide e tetraciclina |
| <b>Pré-renais</b>   | <input type="checkbox"/> Diminuição do fluxo renal<br><input type="checkbox"/> Diminuição da pressão glomerular<br><input type="checkbox"/> Hipotensão e choque<br><input type="checkbox"/> Insuficiência cardíaca<br><input type="checkbox"/> Aumento de pressão osmótica<br><input type="checkbox"/> Desidratação |   |
| <b>Renais</b>       | <input type="checkbox"/> Quando $\frac{3}{4}$ ou mais dos nefrons estão afuncionais   |   |
| <b>Pós-renais</b>   | <input type="checkbox"/> Ruptura e/ou obstrução do trato urinário   |   |

### Creatinina

A creatinina é formada através do metabolismo da creatina e fosfocreatina muscular. O nível sangüíneo não é afetado pela dieta, idade e sexo embora elevado metabolismo muscular possa aumentar os níveis de creatinina na circulação. A creatinina é totalmente excretada pelos glomérulos, não havendo a reabsorção tubular. Devido a isso, pode ser usada como índice de filtração glomerular. Além disso, por ser facilmente eliminada (4 horas), a elevação na circulação ocorre mais tardiamente nos estados de insuficiência renal, quando comparado com a uréia sangüínea (1,5 horas).

A creatinina pode estar elevada no soro devido a fatores pré-renais como diminuição do fluxo sangüíneo, renais como a diminuição da filtração glomerular e pós-renais como a ruptura e/ou obstrução do trato urinário.



## **Eletrólitos**

### **Sódio**

Normalmente o sódio é filtrado e reabsorvido, dependendo da quantidade na dieta. Na nefropatia crônica generalizada há perda de sódio, pois este acompanha a água na depleção hídrica para manter a isotonicidade. A redução de sódio é a hiponatremia.

### **Potássio**

O potássio fisiologicamente é filtrado nos glomérulos, reabsorvido nos túbulos contorcidos proximais e excretado pelos túbulos distais. A concentração sérica de potássio varia com a dieta. Na nefropatia com oligúria ou anúria há perda de função excretora renal e retenção de potássio, levando à hipercalemia.

### **Cálcio**

Na nefropatia aguda não há alteração nos níveis séricos de cálcio. Na nefropatia crônica generalizada há perda da capacidade de reabsorção, com conseqüente hipocalcemia. Quando perdura, esta hipocalcemia estimula a paratireóide a mobilizar cálcio ósseo para manter a homeostase, levando ao hiperparatireoidismo secundário renal.

### **Fósforo**

Na nefropatia crônica progressiva e na doença renal generalizada há redução na velocidade da filtração e perda na capacidade de excreção de fósforo, levando à hiperfosfatemia em cães e gatos. Em grandes animais este aumento não é uma constante. Quando perdura a hiperfosfatemia há um estímulo à paratireóide, no sentido de mobilizar cálcio ósseo para manter a homeostase sanguínea. Este processo leva ao hiperparatireoidismo secundário renal.

### **Uremia**

Realizados os exames de função renal, outro passo importante é a interpretação destes resultados. Na presença de concentrações séricas ou plasmáticas aumentadas de uréia e creatinina, mas ainda sem os sinais clínicos característicos deste acúmulo, tem-se a chamada **azotemia**. Quando há evolução do processo surgem os sinais clínicos característicos, tais como hálito urêmico, úlceras na cavidade bucal e língua, diarreia profusa até sanguinolenta e vômitos. Nesta fase a concentração de uréia e creatinina é maior no sangue que na urina. A associação destes sinais clínicos com o aumento sanguíneo de uréia e creatinina são denominadas de **uremia**.

Devido a diversidade da função renal, as interpretações dos testes determinadores da função renal devem ser sempre realizadas em conjunto considerando todas as alterações (Tabela 10).

Tabela 10. Comparação das alterações encontradas na urinalise em algumas doenças renais e não renais

| <b>Doença</b>                     | <b>Exame físico/químico</b>                           | <b>Sedimento</b>                             |
|-----------------------------------|---|--|
| Doença renal aguda                | densidade normal<br>densidade reduzida<br>proteinúria | cilindros<br>leucócitos e hemácias           |
| Insuficiência Renal Aguda (IRA)   | densidade reduzida*                                   | cilindros<br>leucócitos e células epiteliais |
| Insuficiência Renal Crônica (IRC) | densidade reduzida*<br>pH reduzido                    | poucos ou sem cilindros                      |
| Cistite                           | proteinúria pós-renal                                 | bacteriúria, leucocitúria                    |
| Neoplasias urinárias              | densidade normal<br>densidade baixa                   | células neoplásicas<br>hematúria             |
| Hemólise                          | hemoglobinúria<br>urobilinogênio elevado              | hematúria                                    |
| Hepatopatia                       | bilirrubina<br>urobilinogênio alterado                | crystalos de bilirrubina                     |
| Diabetes melito                   | glicosúria, cetonúria                                 | bacteriúria, leucocitúria                    |
| Diabetes insípido                 | densidade reduzida, poliúria                          |  |

## Casos clínicos

1) Anamnese: canino, M, 5 anos, Poodle. Abdômen distendido, dor à palpação lombar, poliúria.

Exames solicitados: análise do líquido abdominal, bioquímica hepática e renal, urinálise

Análise do líquido abdominal

Volume: 10 mL

Cor: incolor

Odor: inodoro

D=1015

pH=7,5

Prot:1,0g/dL

Celularidade: 850nucleadas/ $\mu$ L

Diferencial: mesoteliais, raras hemácias e linfócitos

Urinálise:

Físico

Volume: 20 mL

Aspecto: turvo

Odor: s.g

D= 1021

Químico

pH: 6,0

Proteína:+++

Glicose:+

Cetona: neg

Bilirrubina:neg

Sangue oculto:+

Sedimento

Hemácias: 10/CGA

Leucócitos: 8/cga

Células renais: 2/cga

Cilindros hialinos: 8/CGA

Cilindros granulosos: 2/CGA

Bioquímica sérica

BUN: 20 mg/dL (7-25)

Creatinina: 0,8 mg/dL (0,8-1,5)

Glicose: 90 mg/dL (70-110)

ALT: 30 U/L (15-58)

FA: 55 U/L (10-73)

2) Anamnese: felino, Persa, M, 3 anos apresentando desidratação moderada, anúria, bexiga repleta.

Exames solicitados: urinálise, bioquímica

Urinálise (coleta: cistocentese)

Físico

Volume: 15 mL

Cor: amarronzado

Odor: pútrido

D = 1045

Aspecto: turvo

Químico

pH: 8,0

Prot: ++

Sangue oculto: ++

Sedimento

Hemácias e leucócitos: 10-15/CGA

Cilindros hialinos: 1/CGA  
Cristais estruvita: +++  
Celulas vesicais: 8/cga  
Células uretrais: 10/cga

#### Bioquímica sérica

BUN: 92 mg/dL (7-25)

Creatinina: 2,6 mg/dL (0,8-1,5)

3) Anamnese: equino, F, crioula, 6 anos. Tratada com Gentamicina anteriormente apresentando poliúria, polidipsia, dor abdominal à palpação, aumento de volume lombar.

Exames solicitados: hemograma, urinálise, bioquímica

#### Hemograma

Eritrócitos: 8,0/mm<sup>3</sup>

Hemoglobina: 11,3 g/dL

Hematócrito: 34%

VCM: 42 fl

CHCM: 33,2 g/dL

Leucócitos totais: 25.000/mm<sup>3</sup> (5,2-13,9)

Neutrófilos: 18750/mm<sup>3</sup> (2,2-7,4)

Linfócitos: 3500/mm<sup>3</sup> (1,1-5,3)

Eosófilos: 1750/mm<sup>3</sup> (0-0,6)

Monócitos: 250/mm<sup>3</sup> (0-0,9)

#### Urinálise

##### Físico

Volume: 25 mL

Cor amarelo palha

Odor: sg

Aspecto pouco turvo

D = 1017

##### Químico

pH = 5,5

Prot: +

Sangue oculto: neg

Glicose: +

##### Sedimento

Células renais: 3/cga

Células da pelve: 8/cga

Cilindros hialinos: 8/cga

Cilindros granulosos: 5/cga

#### Bioquímica sérica

BUN: 80 mg/dL(12-26)

Creatinina: 2,5 mg/dL (1-1,9)

Glicose: 93 mg/dL (76-127)

4) Anamnese: felino, M, srd, 11 anos com oligúria, fraturas patológicas, mucosas hipocoradas, desidratação, vômitos halitose, úlceras orais.

Exames solicitados: hemograma, urinálise, bioquímica

#### Hemograma

Eritrócitos: 4/mm<sup>3</sup>(5,8-10,7)

Hemoglobina:6,6g/dL(9-15)

Hematócrito:20% (30-47)

VCM: 50 fl( 41-51)  
CHCM: 33g/dL(31-35)  
Leucócitos: 31000  
Segment:27900/mm<sup>3</sup> (2,5-12,5)  
Linfócitos: 930/mm<sup>3</sup>(1,5-7)  
Eosinófilos 0  
Monócitos 2170 (0-0,8)

#### Urinalise

##### Físico

Volume:10 mL  
Cor: amarelo palha  
Odor: s.g.  
Aspecto: límpido  
D=1009

##### Químico

pH= 4,5  
Proteína: neg  
Acetona: neg  
Bilirrubina: neg  
Sangue oculto: neg

##### Sedimento

Células renais: raras  
Cilindros granulosos: 2/cga  
Cilindros céreos: 3/cga

##### Bioquímica sérica

BUN: 98 mg/dL (18-33)  
Creatinina: 3,5 mg/dL (0,7-1,8)  
Fósforo: 15 mg/dL (2,5-7,9)

5) Anamnese: canino, macho, SRD, 10 anos, chegou ao HCV com mucosas hipocoradas, halitose, úlceras orais, vômitos, desidratado e urinando pouco.

#### Hemograma

|   |                                 |
|---|---------------------------------|
| Eritrócitos (5,4-7,8 X10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )            | 3,2                             |
| Hemoglobina (13-19 g/dl)  | 7,0                             |
| Hematócrito (37-54 %)   | 21                              |
| VCM (62-74 fl)  | 65                              |
| CHCM (32-36 g/dl)   | 33                              |
| PPT (6-8 g/dl)  | 8,5                             |
| Fibrinogênio (100-400 mg/dl)  | 300                             |
| LEUCOGRAMA  |                                 |
| Leucócitos totais (6-17X10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )          | 25.000                          |
| Bastonetes (0-0,3X10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )                | 0                               |
| Neutrófilos segmentados (3-11,5 X10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> ) | 22500                           |
| Linfócitos(1-4,8 X10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )                | 500                             |
| Eosinófilos (0,1-1,25 X10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )           | 0                               |
| Monócitos (0,13-0,15 X10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )            | 2000                            |
| Basófilos (<0,1 X10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )                 | 0                               |
| Observações   | Neutrófilos<br>hipersegmentados |

#### Urinalise

| Análise física    | Análise química     | Análise do sedimento         |
|-------------------|---------------------|------------------------------|
| DEU = 1007        | pH 4,9              | Cilindros hialinos: 2/lâmina |
| Cor amarelo palha | Sangue oculto: neg. | Cilindros céreos: 3/cga      |
| Volume 8 mL       | Proteína: +         | Eritrócitos: 0-2/cga         |
| Odor "S.G."       | Bilirrubina: neg.   | Leucócitos: 0-2/cga          |
| Depósito escasso  | Cetonas: neg.       |                              |
| Aspecto límpido   |                     |                              |

#### Bioquímica sérica:

BUN (7-25 mg/dl): 260; Creatinina (0,5-1,4 mg/dl): 4,2

FA (10-73 U/l):150; Fósforo sérico (2,4-6,1 mg/dl): 18

Nos 5 casos anteriores, de acordo com o resultado dos exames laboratoriais, marque a resposta que mais se adequa ao caso descrito:

- a) IRC com anemia normocítica normocrômica, e leucograma de stress
- b) IRA com anemia normocítica normocrômica e leucograma inflamatório agudo
- c) IRA com leucograma inflamatório crônico
- d) Doença renal com leucograma inflamatório
- e) Doença renal com leucograma de stress

6) Anamnese: felino, fêmea, Siamês, 3 anos de idade foi levado ao HCV por apresentar há 5 dias inapetência, dor abdominal e urina sanguinolenta. Ao exame clínico foram constatados leve aumento de temperatura retal, disúria e polaquiúria. A parede da bexiga estava espessa e a urina colhida por micção espontânea apresentava-se avermelhada.

#### Urinalise

| Análise física         | Análise química    | Análise do sedimento         |
|------------------------|--------------------|------------------------------|
| DEU (1025-1045) = 1040 | pH 8,5             | Cilindros hialinos: 2/lâmina |
| Cor avermelhada        | Sangue oculto: +++ | Células vesicais: ++/cga     |
| Volume 5 mL            | Proteína: ++       | Eritrócitos: incontáveis/cga |
| Odor fétido            | Bilirrubina: neg.  | Leucócitos: >20/cga          |
| Depósito abundante     | Cetonas: neg.      | Células uretrais +/cga       |
| Aspecto turvo          |                    | Bacteriúria intensa          |

#### Bioquímica sérica

BUN (18-33 mg/dl): 18 mg/dl; Creatinina (0,7-1,8 mg/dl): 0,9 mg/dl.

De acordo com o resultado dos exames laboratoriais, marque a resposta que mais se adequa ao caso anterior descrito:

- a) Doença renal com glomerulonefrite
- b) Insuficiência renal devido a um traumatismo renal
- c) Cistite bacteriana com hemorragia vesical associada
- d) Insuficiência renal devido a inflamação renal
- e) NRC

7) Uma cadela Poodle de 6 anos de idade chegou ao HCV apresentando hipertermia, poliúria, polidipsia e distensão abdominal. Ao exame clínico, quando era realizada a palpação abdominal, uma descarga do tipo “leite condensado” drenava de sua vagina.

#### Hemograma

|   |        |
|---|--------|
| Eritrócitos (5,4-7,8 X10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )            | 6,8    |
| Hemoglobina (13-19 g/dl)  | 15     |
| Hematócrito (37-54 %)   | 49     |
| VCM (62-74 fl)  | 72     |
| CHCM (32-36 g/dl)   | 30     |
| PPT (6-8 g/dl)  | 6,0    |
| Fibrinogênio (100-400 mg/dl)  | 700    |
| LEUCOGRAMA  |        |
| Leucócitos totais (6-17X10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )          | 45.000 |
| Bastonetes (0-0,3X10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )                | 2650   |
| Neutrófilos segmentados (3-11,5 X10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> ) | 42930  |
| Linfócitos(1-4,8 X10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )                | 4240   |
| Eosinófilos (0,1-1,25 X10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )           | 1060   |
| Monócitos (0,13-0,15 X10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )            | 2120   |
| Basófilos (<0,1 X10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )                 | 0      |

#### Bioquímica sérica:

BUN: 23 mg/dl; Creatinina: 1,0 mg/dl.

Albumina (2,5-3,6 mg/dl): 0,5; Globulinas (2,4-4 mg/dl): 4,7.

#### Urinalise

| Análise física        | Análise química   | Análise do sedimento      |
|-----------------------|-------------------|---------------------------|
| DEU (1025-1045)= 1013 | pH 6,5            | Cilindros hialinos: 4/cga |
| Cor amarelo claro     | Sangue oculto: +  | Células renais: ++/cga    |
| Volume 20 mL          | Proteína: ++++    | Eritrócitos: +/cga        |
| Odor “s.g.”           | Bilirrubina: neg. | Células da pelve +/cga    |
| Depósito moderado     | Cetonas: neg.     | Bacteriúria intensa       |
| Aspecto pouco turvo   |                   |                           |

De acordo com o resultado dos exames laboratoriais, marque a resposta que mais se adequa ao caso anterior descrito:

- Doença renal caracterizada por uma glomerulonefrite e leucograma inflamatório
- Insuficiência renal crônica com leucograma de stress associado
- Insuficiência renal aguda com leucograma de stress associado
- Insuficiência renal causada por uma inflamação renal, o que determinou o leucograma inflamatório
- NRC

## **Bibliografia**

- LATIMER, S. K., MAHAFFEY, E. A., PRASSE, K. W. Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine - Clinical Pathology. 4 ed. Ames, Iowa State Press, 2003.
- STOCKHAM, S. L., SCOTT, M. A. Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology. 1 ed. Ames, Iowa State Press, 2002.
- WILLARD, M. D., TVEDTEN, H. Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods. 4 ed. Saint Louis, Saunders, 2004.
- COWELL, R. L. Veterinary Clinical Pathology Secrets - Questions and Answers Reveal the Secrets of Veterinary Clinical Pathology. Saint Louis, Elsevier Mosby, 2004.
- OSBORNE, C. A.; LOW, D.G.; FINCO, D.R. Canine and feline urology. Philadelphia, Lea & Febiger, 1975. 870 p.
- CROSS, J.; JAYNE, D. Diagnosis and treatment of kidney disease. Best Practice & Research Clinical Rheumatology, v. 19 n. 5, p. 785-798, 2005.
- FORRESTER, S. D.; MARTÍNEZ, N. I.; PANCIERA, D. L.; MOON, M. L.; PICKETT, C. R. ; WARD, D. L. Absence of urinary tract infection in dogs with experimentally induced hyperadrenocorticism. Research in Veterinary Science, v.74, n. 2, p. 179-182,2003.
- STURGESS, C. P.; HESFORD, A.; OWEN, H.; PRIVETT, R. An investigation into the effects of storage on the diagnosis of crystalluria in cats. Journal of Feline Medicine & Surgery, v. 3, n. 2, p. 81-85, 2001.
- DUNCAN, J.R.; PRASSE, K.W.; MAHAFFEY, E.A. Veterinary laboratory medicine: clinical pathology. 3 ed. Ames, Iowa State University; 1994.
- GARCIA-NAVARRO, C.E.K. Manual de urinálise veterinária. São Paulo: Livraria Varela, 1996.
- GRAFF, S.L. Analisis de Orina: Atlas Color. Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana, 1987.
- MEYER, D.J.; HARVEY J.W. Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and Diagnosis. 2 ed. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1998.
- TIBÚRCIO, H.M.; LORD, P.F. Projeto 36:002.02-006:2002 Laboratório Clínico – Requisitos e recomendações para o exame de urina. ABNT/CB 36 – Comitê Brasileiro de Análises Clínicas e Diagnóstico in vitro, p. 1-25, 2002.



## 6. BIOQUÍMICA CLÍNICA

*Félix H. Diaz González*

### **Introdução**

A determinação e interpretação de compostos químicos no sangue é uma das principais aplicações práticas da Bioquímica Clínica. Os perfis bioquímicos do plasma podem ser utilizados em veterinária não somente para avaliação clínica individual, mas também para avaliar e monitorar a condição nutricional e metabólica em grupos de animais. Quando interpretado adequadamente, o perfil bioquímico do plasma fornece importante informação com relação ao estado clínico, metabólico e produtivo de um animal. Entretanto, deve-se ressaltar que os perfis laboratoriais são considerados uma ajuda no diagnóstico e que o veterinário deve fazer uso de toda a informação disponível, como o exame físico e a história clínica, antes de chegar a qualquer diagnóstico final.

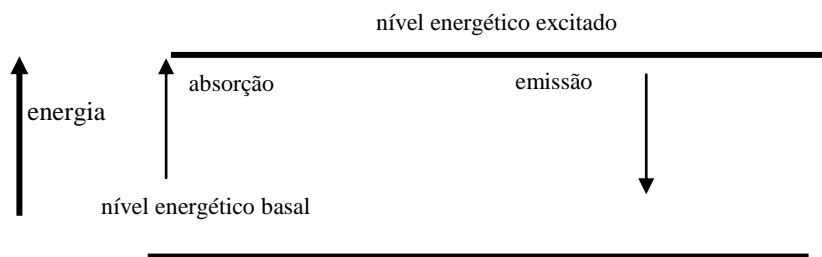
O perfil bioquímico serve também como indicador dos processos adaptativos do organismo, no metabolismo energético, protéico e mineral, além de oferecer subsídios na interpretação do funcionamento hepático, renal, pancreático, ósseo e muscular. Alguns metabólitos podem funcionar como indicadores do potencial produtivo e reprodutivo dos animais, sendo que alguns desses indicadores podem estar geneticamente controlados, o que motiva o aprofundamento no estudo desses aspectos na área de melhoramento animal.

O número de metabólitos a serem analisados no perfil sangüíneo pode ser ilimitado, mas só se justifica estudar aqueles em que se conhece a sua fisiologia e metabolismo de forma a poder fazer uma interpretação útil.

### **As análises fotométricas**

A espectroscopia é um ramo da física que se ocupa do estudo qualitativo e quantitativo da composição das radiações eletromagnéticas absorvidas, emitidas, dispersas e refletidas pelas substâncias químicas. A radiação eletromagnética, dividida em seus diversos comprimentos de onda ( $\lambda$ ) e níveis energéticos, forma o espectro eletromagnético. A fotometria estuda uma parte muito pequena do espectro eletromagnético, qual seja a radiação visível, isto é, o intervalo de comprimento de onda correspondente à visão humana (400 a 700 nm).

A matéria, na forma de moléculas, átomos ou íons, seja sólida, líquida, gasosa ou dissolvida em soluções aquosas, deve suas propriedades químicas e sua capacidade de absorção de fótons a sua estrutura eletrônica. Conforme a teoria quântica, os elétrons só podem existir na matéria em certos estados energéticos discretos. Considere-se uma molécula individual:



O estado energético basal nesta molécula corresponde ao menor nível energético possível. Sua energia eletrônica pode variar na medida em que um ou mais dos seus elétrons sejam excitados a estados energéticos superiores. Essa excitação eletrônica pode ser causada pela absorção de um fóton, sempre que a energia dele seja exatamente igual à mudança de energia da molécula.

As moléculas com ligações duplas absorvem luz com certa intensidade na região do ultravioleta longínquo (150-200 nm). Quando essas ligações são conjugadas, a máxima absorção desloca-se para a região visível com incremento da intensidade da absorção, desta forma indicando se há sistemas insaturados conjugados na molécula. Em outros casos, a molécula absorve luz no ultravioleta próximo (340-365 nm), como na coenzima NADH, propriedade bastante utilizada nos testes utilizados em bioquímica clínica.

A fotometria trata das medidas de intensidade lumínica e tem sido utilizada para expressar a medida de absorção de luz por um meio, o que constitui uma medida de concentração de soluções. Quando a luz passa através de um meio líquido, sólido ou gasoso, sofre modificações, pois a luz emitida tem uma intensidade menor que a luz incidida, o que se explica pela absorção de luz pelo meio. A luz utilizada na absorção deve ser luz monocromática, no espectro visível, infravermelho ou ultravioleta. A maioria dos fotômetros utilizados nos laboratórios de bioquímica clínica são adequados para leituras no espectro visível e ultravioleta próximo (340-700 nm).

Os métodos de análises fotométricas compreendem:

- colorimetria = fotocolorimetria = espectrofotometria: medida da quantidade de luz absorvida por uma solução;
- turbidimetria: medida da quantidade de luz absorvida por uma suspensão;
- nefelometria: quantidade de luz dispersa por uma suspensão;
- fluorometria: quantidade de luz transformada em outra de diferente comprimento de onda por uma substância fluorescente.

### **Leis fundamentais da fotometria: Lei de Lambert-Beer.**

Quando um raio de luz de comprimento de onda específico ( $I_0$ ) passa através de uma solução, parte da luz é absorvida e parte é transmitida ( $I_t$ ). A quantidade de luz absorvida depende de dois fatores: a distância que deve percorrer o feixe de luz dentro do líquido ( $b$ ) e a concentração da substância que absorve luz na solução ( $C$ ). A lei que relaciona esses fatores com as medidas colorimétricas das substâncias é conhecida como Lei de Lambert-Beer. Esta lei

estabelece os seguintes princípios:

- 1) A quantidade de luz transmitida por uma solução ( $I_t$ ) é proporcional à intensidade da luz incidente ( $I_0$ ), expresso mediante a seguinte equação:

$$I_t = I_0 \cdot a$$

onde  $a$  = fator de proporcionalidade (menor que a unidade).

Esta relação é constante em cada caso e se expressa como Transmitância ( $T$ ), conforme a seguinte relação:

$$T = \frac{I_t}{I_0}$$

- 2) A intensidade da luz transmitida ( $I_t$ ) decresce em proporção geométrica (varia exponencialmente) se a distância a ser atravessada ( $b$ ) aumenta em proporção aritmética:

$$I_t = I_0 \cdot 10^{-Kb}$$

onde  $K$  depende do comprimento de onda, do meio e da concentração.

- 3) A intensidade de luz transmitida ( $I_t$ ) decresce exponencialmente à medida que a concentração da substância ( $C$ ) aumenta em progressão aritmética, mantida constante a distância ( $b$ ).

$$I_t = I_0 \cdot 10^{-KC}$$

Combinando as três equações anteriores, fica estabelecida a Lei de Lambert-Beer:

$$T = \frac{I_t}{I_0}$$

Aplicando logaritmo nos dois termos da equação:

$$\log \frac{I_t}{I_0} = \log 10^{-KC}$$

Para que a Lei de Lambert-Beer seja cumprida, devem ser preenchidas as seguintes condições:

- usar luz monocromática (de um comprimento de onda específico);
- usar um filtro que elimine radiações desnecessárias;
- escolher um filtro de cor complementar ao da solução; na prática, isto significa que a leitura de Transmitância deve ser feita em uma região do espectro de acordo ao composto analisado;
- a referência é escolhida de forma que  $C=0$  quando  $T=100\%$
- a natureza da solução deve ser tal que a sua Transmitância responda a variações de  $C$ .

### Definição de Absorbância

A Absorbância, também conhecida como Densidade Óptica ou Coeficiente de Extinção, é o logaritmo decimal da relação entre a luz incidente ( $I_0$ ) e a luz transmitida ( $I_t$ ), ou seja, o log decimal do inverso da Transmitância:

$$A = \log \frac{I_0}{I_t} \text{ ou } A = -\log T$$

Trocando o sinal e considerando  $T$  em percentagem, tem-se que:

$$A = \log \frac{100}{T(\%)}$$

Uma forma prática de expressar Absorbância é através da seguinte relação:

$$A=b.EC$$

onde: b= passo óptico (distância em cm da cubeta)

E= absorvidade (absorbância específica do composto)

C= concentração do composto

### **Valores de referência do perfil bioquímico sanguíneo**

A interpretação do perfil bioquímico é complexa tanto aplicada a rebanhos quanto a indivíduos, devido aos mecanismos que controlam o nível sanguíneo de vários metabólitos e devido, também, a grande variação desses níveis em função de fatores como raça, idade, stress, dieta, nível de produção leiteira, manejo, clima e estado fisiológico (lactação, gestação, estado reprodutivo). Para a correta interpretação dos perfis metabólicos é indispensável contar, também, com valores de referência apropriados para a região e a população em particular ou, então, utilizar valores referenciais de zonas climáticas e grupos animais similares.

Na Tabela 1 são apresentados os valores de referência de alguns metabólitos sanguíneos em algumas espécies animais. Considera-se, em geral, que existe variação significativa no valor analisado quando está fora do intervalo compreendido entre a média  $\pm 2$  vezes o desvio padrão dos valores normais de referência. Contudo, o verdadeiro significado de um valor alterado deve ser analisado juntamente com fatores como a história clínica, o exame clínico, o manejo, a alimentação e a produção.

### **Coleta e manejo de amostras sanguíneas**

A confiabilidade no uso do laboratório como apoio diagnóstico depende em grande medida de que o material utilizado na análise tenha sido coletado e conservado adequadamente. Adicionalmente, para o aproveitamento ótimo das análises de patologia clínica deve existir uma relação estreita entre o médico veterinário clínico e o laboratório de diagnóstico. O envio de amostras inadequadas implica em perda de tempo, de recursos e, em ocasiões, complicações na saúde do animal devido a uma interpretação incompleta ou incorreta de resultados. Frequentemente é argumentado que, na prática clínica veterinária, é complicado recorrer ao uso dos laboratórios para apoiar o diagnóstico, uma vez que geralmente estão localizados a grandes distâncias, mas quando se domina um adequado manejo de amostras, esta limitante não é significativa.

Cada vez que amostras são enviadas a qualquer laboratório de diagnóstico, é muito importante fazer uma adequada identificação de tais amostras, utilizando material que resista ao manejo, isto é, tintas permanentes resistentes a água, fitas com cola ou etiquetas com adesivo apropriado.

Tabela 1. Valores de referência de alguns metabólitos sanguíneos.

| Metabólito           | Unid.  | Caninos   | Felinos   | Bovinos   | Equinos   | Ovinos    |
|----------------------|--------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Ácidos graxos livres | μmol/l |           |           | 8,8-20,6  | 2,9-11,8  | 2,9-14,7  |
| Albumina             | g/l    | 26-33     | 21-33     | 27-38     | 26-37     | 24-30     |
| Beta-OH-butilato     | mg/dl  | 0,24-0,36 |           | 0-10      | 0-10      | 6-10      |
| Bilirrubina direta   | mg/dl  | 0,06-0,12 |           | 0,04-0,44 | 0-0,4     | 0-0,27    |
| Bilirrubina total    | mg/dl  | 0,1-0,5   | 0,15-0,5  | 0,01-0,5  | 1-2       | 0,1-0,5   |
| Colesterol           | mg/dl  | 135-270   | 95-130    | 80-120    | 75-150    | 52-76     |
| Fructosamina         | mmol/l | 1,26-1,80 |           |           |           |           |
| Creatinina           | mg/dl  | 0,5-1,5   | 0,8-1,8   | 1,0-2,0   | 1,2-1,9   | 1,2-1,9   |
| Glicose              | mg/dl  | 65-118    | 70-100    | 45-75     | 75-115    | 50-80     |
| Globulinas           | g/l    | 27-44     | 26-51     | 30-52     | 26-40     | 35-57     |
| Lactato              | mg/dl  | 2-13      |           | 5-20      | 10-16     | 9-12      |
| Proteínas totais     | g/l    | 54-71     | 54-78     | 66-75     | 52-79     | 60-79     |
| Triglicérides        | mg/dl  | 32-120    | 35,4      | 0-14      | 4-44      |           |
| Uréia                | mg/dl  | 21,4-59,9 | 42,8-64,2 | 42,8-64,2 | 21,4-51,3 | 17-43     |
| Cálcio               | mg/dl  | 9-11,3    | 6,2-10,2  | 8-12,4    | 11,2-13,6 | 11,5-12,8 |
| Cobre                | μmol/l | 15,7-31,5 |           | 5,16-5,54 |           | 9,13-25,2 |
| Ferro                | μmol/l | 5,4-32,2  | 12,2-38,5 | 10,2-29,0 | 13,1-25,1 | 29,7-39,7 |
| Fósforo              | mg/dl  | 2,6-6,2   | 4,5-8,1   | 3,4-7,1   | 3,1-5,6   | 5-7,3     |
| Magnésio             | mg/dl  | 1,8-2,4   | 2,2       | 1,7-3,0   | 2,2-2,8   | 2,2-2,8   |
| Potássio             | mmol/l | 4,4-5,3   | 4,0-4,5   | 3,9-5,8   | 2,4-4,7   | 3,9-5,4   |
| Sódio                | mmol/l | 141-152   | 147-156   | 132-152   | 132-146   | 139-152   |

Fontes: Kaneko et al. (1997), Wittwer et al. (1987), LacVet/UFRGS (2004)

É necessário acompanhar as amostras com um protocolo que inclua:

- Identificação de proprietário, médico veterinário ou pessoa responsável, telefone e endereço.
- Dados de identificação do animal ou animais amostrado (s).
- Anamnese completa do paciente e/ou do rebanho, sem omitir dados relevantes da história clínica, nutrição, reprodução, produção e manejo.
- Indicar se existe suspeita de doenças infecciosas, especialmente se elas são zoonóticas.

Devido às mudanças físico-químicas que ocorrem na amostra com o tempo, deve ser mencionada a hora da coleta da amostra, bem como o tipo de conservante utilizado.

### Coleta de amostras

Existem diferentes métodos para obter uma amostra de sangue:

- agulha direta: útil e rápido para obter grandes volumes; sua contra-indicação mais importante é que causa contaminação da amostra e, especialmente, do meio-ambiente;
- seringa: não deve ser feito vácuo violento; quando sejam usadas seringas com anticoagulante; recomenda-se que esteja na forma líquida; quando o sangue vai ser transferido a outro recipiente, deve ser retirada a agulha da seringa para evitar hemólise na amostra;
- sistema de tubos com vácuo (*vacutainer*): siga as instruções do fabricante; é necessária certa

prática para um manejo eficiente; é importante que, se utilizado algum tipo de anticoagulante, o tubo deve ser enchido até terminar o vácuo para manter as proporções sangue/anticoagulante.

(d) sistema de vácuo com tubos de plástico: são de recente introdução no mercado; sua principal vantagem é que o vácuo é regulável; sua utilização está mais orientada para determinações sorológicas, tais como detecção de anticorpos para diferentes patologias.

O principal fator de alteração de resultados é a hemólise, a qual tem como causas mais comuns as seguintes:

- provocar vácuo violento na coleta da amostra com agulha de calibre de muito fino;
- causar impacto do jato de sangue no fundo do recipiente;
- utilizar material úmido com água ou álcool;
- usar material sujo ou contaminado;
- usar material de má qualidade, com bordas ou paredes rugosas.
- agitar a amostra ao incorporá-la com o anticoagulante;
- provocar choques térmicos tanto quentes quanto frios;
- permitir temperaturas extremas;
- manipular bruscamente as amostras para obter o soro antes que o coágulo tenha sido formado.

### **Determinações de bioquímica clínica**

Para este fim é utilizado soro ou plasma. O soro é obtido a partir de uma amostra de sangue extraída sem anticoagulante, esperando o tempo necessário para a formação de coágulo. O tempo que dura a sua formação é muito variável, entre 30 a 180 minutos. Por esta razão, é mais prático enviar ao laboratório amostras de plasma utilizando heparina de sódio como anticoagulante (tubos de tampa verde). Os anticoagulantes EDTA, oxalato e citrato não deve ser utilizados para determinações bioquímicas. Em recipientes de plástico, o tempo de formação do coágulo é aproximadamente o dobro daquele do vidro.

Assim que se forma o coágulo, este deve ser separado das paredes do tubo ou seringa onde foi obtida a amostra utilizando-se de um palito longo de madeira ou de uma pipeta Pasteur. Posteriormente, deve ser centrifugado a 1.500 g (2.500 a 3.500 rpm) durante 10 minutos e transferir o soro para outro recipiente livre do coágulo. A amostra não deve ser centrifugada e nem colocada em refrigeração antes que o coágulo esteja bem formado, pois se prolonga o tempo de coagulação e existe predisposição à hemólise.

É necessário separar o soro do coágulo ou o plasma das células sanguíneas dentro de um período máximo de 2 horas depois de tirada a amostra. Se o tempo for maior, as frações dos parâmetros a serem medidos variam devido à troca de elementos entre as fases celular e líquida do sangue.

Assim que estiver separado o soro ou o plasma, é conveniente analisar de imediato (especialmente no caso da glicose). Se não for possível, é conveniente conservar a amostra sob refrigeração (0-4 °C). Quando a obtenção dos resultados não for urgente, é possível enviar as amostras congeladas (-8 a -20 °C) uma vez que a grande maioria dos parâmetros é estável pelo menos por uma semana nestas temperaturas. Contudo, é recomendável consultar um bioquímico clínico antes de proceder, pois existem algumas determinações instáveis.

A melhor forma de obter o plasma é coletando as amostras de sangue com heparina como anticoagulante, na proporção de 3 gotas de heparina 1% (0,2 mg ou 200 UI) para cada 10 mL de sangue. É importante mesclar várias vezes de forma suave para incorporar totalmente o anticoagulante com o sangue para que este se conserve em bom estado. A amostra heparinizada deve centrifugar-se a 1.500 g durante 10 minutos, e depois deve ser transferido somente o plasma (livre de células) para um outro tubo, com uma pipeta Pasteur ou com uma seringa. Após, tampar e enviar para o laboratório clínico. Para as análises de bioquímica clínica completa (8-10 metabólitos) é suficiente extrair 3 a 5 mL de plasma, volume que se obtém a partir de 7 a 10 mL de sangue aproximadamente. Nos laboratórios que utilizam microtécnicas, é suficiente com 1,5 mL de plasma.

Quando se trata de dosar microelementos, particularmente Zn, é recomendado usar soro e colocar *parafilm* ao invés da rolha de borracha para fechar o tubo, devido a que o material das rolhas pode interferir com o resultado.

A amostra de plasma ou soro deve estar protegida da luz quando se trata de dosar pigmentos biliares (bilirrubina). Se existe o interesse de medir os valores do perfil lipêmico (ácidos graxos não esterificados, colesterol,  $\beta$ -hidroxibutirato, triglicéridios, lipídios totais), sua determinação deve ser feita no soro, e não no plasma.

Para a determinação de glicose, é possível refrigerar imediatamente a amostra de sangue completa com heparina, e ser analisada nas 3 horas seguintes a coleta. Se o tempo da análise for mais prolongado, a amostra deve ser coletada com fluoreto de sódio, o qual atua como anticoagulante e simultaneamente inibe as enzimas da glicólise, evitando a degradação da glicose na amostra. Quando uma amostra está hemolisada os valores se podem observar alterados, geralmente aumentados.

### **Mecanismo de ação da heparina**

A heparina foi descoberta acidentalmente em 1916 por Jay McLean, na época um estudante de medicina. Ele investigava com extratos de fígado e encontrou que esse tecido era capaz de retardar a coagulação do plasma. Como foi encontrada no fígado foi batizada de heparina.

O efeito anticoagulante da heparina está relacionado com sua forte carga eletronegativa.

São descritos 3 efeitos da heparina sobre o processo de coagulação. Primeiro, interfere na conversão de protrombina a trombina. Segundo, tem efeito oposto à ação da trombina sobre o fibrinogênio, impedindo a formação de um cofator desta proteína na fração albumina do plasma. E terceiro, reduz a capacidade de aglutinação das plaquetas.

O efeito anticoagulante da heparina é muito rápido, cerca de 1 minuto, desaparecendo em 3 a 4 horas. A heparina geralmente é utilizada no início em tratamentos anticoagulantes in-vivo (trombose, embolia pulmonar, fibrilação atrial). Além da utilização in-vivo, é o anticoagulante de escolha para análises bioquímicas no sangue. Não deve ser utilizado como anticoagulante para determinações de hematologia, pois altera a morfologia dos leucócitos.

### **Determinação do estado ácido-básico**

Este tipo de análise requer um manejo muito preciso das amostras. Os passos para fazer uma adequada coleta são descritos a seguir:

- (a) carregar uma seringa limpa de 1-3 mL de capacidade com uma solução de heparina a 1% (1000 UI por mL), permitindo que as paredes fiquem umedecidas;
- (b) voltar a heparina, de forma suave, a seu recipiente. A quantidade de heparina aderida às paredes da seringa é suficiente para a conservação da amostra;
- (c) trocar a agulha usada nos passos anteriores por uma limpa e seca;
- (d) fazer pressão sobre a veia no máximo por 30 segundos, para não alterar os resultados;
- (e) obter o sangue sem fazer vácuo violento e evitando a formação de bolhas e/ou espuma na amostra; é suficiente com 1 mL de sangue;
- (f) rapidamente proceder a eliminar as bolhas na seringa e observar que saia uma gota de sangue na ponta da agulha;
- (g) tampar a ponta da agulha com massa (não é suficiente dobrar a agulha);
- (h) depositar imediatamente a seringa em um recipiente de água com gelo (0-4 °C), para bloquear o processo da glicólise;
- (i) enviar ao laboratório.

A determinação deve ser feita nas primeiras 3 horas posteriores a coleta da amostra. Em ocasiões é possível analisar o sangue de bovinos durante as 24 horas seguintes, usando tabelas de correção, para o que é importante indicar a hora de coleta da amostra.

Quando o médico veterinário tenha dúvidas sobre o envio de amostras ao laboratório, deve entrar em contato direto com o patologista clínico veterinário responsável, o que permitirá a ambos terem um melhor intercâmbio de informações e dessa forma, o clínico fará um uso mais eficiente do laboratório clínico como ferramenta de ajuda nos seus diagnósticos.



## PRINCIPAIS METABÓLITOS SANGÜÍNEOS USADOS NA CLÍNICA

### Ácidos graxos livres

Os ácidos graxos livres (AGL) no sangue podem ser de origem exógena, provenientes da digestão e absorção de gorduras ou endógena, provenientes da lipólise dos triglicerídeos armazenados no tecido adiposo. Em vacas, os níveis sanguíneos normais de AGL são de  $226 \pm 20,4 \mu\text{Eq/l}$ .

O nível de AGL plasmáticos é indicador da mobilização dos depósitos graxos e, portanto, do déficit energético. Em bezerras recém desmamadas os níveis de AGL sobem abruptamente. A falta de alimento causa elevações de AGL em menos de 48 horas, sendo melhores indicadores do *status* energético do que glicose ou corpos cetônicos. O empecilho para sua utilização como indicadores rápidos do equilíbrio energético é a dificuldade e o alto custo da análise.

Os níveis de AGL aumentam na lactação, especialmente durante as primeiras semanas, e diminuem durante o período seco. Níveis sanguíneos de AGL superiores a  $600 \mu\text{Eq/l}$ , em vacas leiteiras lactantes, são considerados como resultado do estresse metabólico da lactação.

Existe uma correlação positiva entre os níveis de sanguíneos de AGL e de corpos cetônicos. A oxidação excessiva de ácidos graxos, junto com a deficiência aguda de energia na dieta, provoca, em alguns casos, a cetose. A maioria das vacas de alta produção têm algum grau de cetose subclínica no início da lactação em função do balanço energético negativo nesse período crítico. A habilidade metabólica para contornar o problema e evitar a manifestação de sintomas varia entre indivíduos. Ovelhas no final da gestação também podem sofrer grande mobilização de ácidos graxos e eventual cetose, especialmente em gestação gemelar.

Concentrações baixas de AGL não são frequentes, exceto na desnutrição severa.

### Ácido úrico

O ácido úrico é produto do metabolismo das purinas nos primatas e no cão da raça Dálmata, representando o fim do metabolismo de compostos nitrogenados do organismo. Na maioria dos mamíferos, este metabolismo ocorre convertendo o ácido úrico em alantoína. A maioria do ácido úrico sintetizado provém da dieta e, em larga extensão, da quebra de ácidos nucléicos endógenos.

Valores de ácido úrico acima dos normais podem ser observados em neoplasias de células sanguíneas, em doença hepática por incompleta conversão do ácido úrico a alantoína, na insuficiência renal, em endocrinopatias, em aumentos da reciclagem de ácidos nucléicos, na ingestão de substâncias tóxicas ou drogas (salicilatos, tiazida), no hipotireoidismo e finalmente em falhas genéticas das enzimas necessárias para o metabolismo do ácido úrico. Nas aves, o ácido úrico é um bom indicador da função renal.

## Ácidos biliares

Os ácidos biliares (taurocólico e glicocólico) são sintetizados pelo fígado a partir de colesterol e mediante conjugação (ácido cólico com taurina e glicina), sendo excretados junto com a bile na forma de sais de sódio. Durante a digestão, eles atuam como agentes emulsificantes favorecendo a absorção da gordura. Por efeito das bactérias intestinais, os ácidos biliares são desconjugados, ficando livres para serem reabsorvidos pelo intestino, direcionando-se via circulação portal para o fígado para serem reciclados. Uma pequena parte desses ácidos alcança a circulação periférica, sendo eles os que são medidos. Normalmente ocorre um leve aumento dos ácidos biliares após uma refeição.

A medição de ácidos biliares no soro pode servir como teste sensível de avaliação de disfunção hepática, pois o fígado com disfunção não consegue captar os ácidos reabsorvidos e a sua concentração aumenta no plasma. Uma obstrução hepática ou biliar também é causa de aumento dos ácidos biliares. Um baixo valor de ácidos biliares pode indicar uma obstrução intestinal.

Considera-se disfunção hepática quando a concentração de ácidos biliares em jejum ou pós-prandial é  $>25 \mu\text{mol/L}$  (cão) e  $>20 \mu\text{mol/L}$  (gato). Uma leve diminuição na concentração de ácidos biliares pode não ser conclusiva para dizer se ocorreu uma melhora na função hepática. A principal desvantagem de uso de ácidos biliares é o alto custo de sua determinação.

## Albumina

A albumina é a proteína mais abundante no plasma, perfazendo cerca de 50% do total de proteínas. Tem um peso molecular aproximado de 66 kD. É sintetizada no fígado e contribui em 80% da osmolaridade do plasma sanguíneo, constituindo também uma importante reserva protéica, bem como um transportador de ácidos graxos livres, aminoácidos, metais, cálcio, hormônios e bilirrubina. A albumina também tem função importante na regulação do pH sanguíneo, atuando como ânion.

A concentração de albumina é afetada pelo funcionamento hepático, a disponibilidade de proteínas na dieta, o equilíbrio hidro-eletrolítico e por perdas da proteína em algumas doenças.

A única causa de aumento da albumina plasmática (hiperalbuminemia) é a desidratação.

A concentração da albumina plasmática pode diminuir (hipoalbuminemia) em várias situações:

(a) Síntese de albumina diminuída devido a dano hepático crônico ou déficit alimentar de fontes protéicas. O nível de albumina pode ser indicador do conteúdo de proteína na dieta, muito embora as mudanças ocorram lentamente. Para a detecção de mudanças significativas na concentração de albumina sérica é necessário um período de pelo menos um mês, devido à

baixa velocidade de síntese e de degradação. Níveis de albumina diminuídos, juntamente com diminuição de uréia, indicam deficiência protéica. Níveis de albumina diminuídos com níveis de uréia normais ou elevados acompanhados de níveis de enzimas altos são indicadores de falha hepática. No processo de fígado gorduroso, como consequência de excessiva mobilização de lipídeos, evento comum no início da lactação devido ao desequilíbrio energético, pode ocorrer hipoalbuminemia em vacas leiteiras.

(b) Perda de albumina em parasitismos, devido à saída de proteínas pelo intestino ou em doença renal (síndrome nefrótico, glomerulonefrite crônica, diabetes).

(c) Em casos de síndrome de má absorção.

(d) Catabolismo aumentado da albumina como consequência de déficit energético, o que estimula a mobilização de reservas de aminoácidos para entrar na via da gliconeogênese.

(e) Vazamento do sistema vascular (hemorragias).

A hipoalbuminemia pode afetar o metabolismo de outras substâncias devido ao papel da albumina como transportador, além de causar queda da pressão osmótica do plasma e levar a ascite, geralmente quando a concentração de albumina cai para menos de 20 g/l.

Mudanças fisiológicas do teor de albumina podem ser observadas em vacas quando cai após o parto para menos de 30 g/l. Normalmente, o teor aumenta progressivamente durante o pós-parto a uma taxa entre 3,7 a 6,9 mg/100 ml por dia, exceto em vacas com dietas pobres em proteína, nas quais a concentração pode continuar baixa por até 4-6 meses pós-parto, afetando negativamente a fertilidade.

A concentração sanguínea de albumina tem sido relacionada positivamente com a produção de leite, observando-se que vacas hipoalbuminêmicas não produzem todo seu potencial.

Uma correlação negativa entre nível de albumina e a idade pode ser consequência da correlação positiva entre nível de globulinas e a idade.

## **Amônia**

A amônia é produzida por praticamente todas as células do organismo, mas principalmente pelas bactérias do trato gastrointestinal, como resultado da degradação de compostos nitrogenados. A amônia é uma substância tóxica que afeta principalmente o sistema nervoso central.

A amônia que se encontra no plasma é proveniente principalmente da absorção no intestino, sobretudo no cólon, e, em animais ruminantes, a principal fonte é o rúmen. Uma pequena parte deriva do metabolismo periférico, em especial do músculo esquelético.

A amônia intestinal é derivada da degradação bacteriana dos aminoácidos da dieta no intestino e da uréia endógena que se excreta no intestino e no rúmen. Também pode ser

produzida pelo fígado a partir do catabolismo dos aminoácidos tissulares e da dieta, mas neste caso imediatamente entra no ciclo da uréia para ser convertida em uréia.

Normalmente, a amônia transportada do trato gastrointestinal é convertida em uréia quando alcança o fígado e, portanto, seu nível no sangue tende a ser baixo. Entretanto, altos níveis de amônia podem ser encontrados quando há uma inadequada função hepática ou quando o sangue portal é desviado sem passar antes pelo fígado (desvio ou *shunt* portosistêmico). Níveis altos de amônia circulante, especialmente em situação pós-prandial, podem afetar o encéfalo, podendo provocar apatia ou uma série de sinais neurológicos (confusão, convulsão, andar em círculo). Esta condição é conhecida como encefalopatia hepática.

Os níveis de amônia também podem estar aumentados na ocorrência de uma infecção, de uma dieta com altos teores de proteína, em desequilíbrio ácido-básico (insuficiência renal principalmente) e em obstrução do trato gastrointestinal.

## **Bilirrubina**

A maior parte da bilirrubina no plasma deriva da degradação dos eritrócitos velhos pelo sistema retículo-endotelial, especialmente no baço. A bilirrubina restante provém da degradação da mioglobina, dos citocromos e de eritrócitos imaturos na medula óssea. A hemoglobina liberada dos eritrócitos se divide em porção globina e grupo heme. Após a extração da molécula de ferro, que fica armazenado ou é reutilizado, o grupo heme é convertido em bilirrubina. A bilirrubina assim formada é chamada de bilirrubina não-conjugada, que é transportada até o fígado ligada à albumina plasmática. Esta forma também é conhecida como bilirrubina livre ou indireta. Esta bilirrubina não é solúvel em água. Sendo lipossolúvel, não é filtrada pelos glomérulos renais, e não é excretada pela urina.

A bilirrubina livre pode não estar ligada à albumina em três situações distintas: (a) quando os níveis de albumina são extremamente baixos, (b) quando existe uma alta concorrência pelos lugares de união da albumina, por exemplo com tiroxina, salicilatos, sulfonamidas, digoxina, cortisol e diazepam; ou (c) quando o nível de bilirrubina livre é extremamente alto (> 20 mg/dl).

No fígado, a bilirrubina é desligada da albumina e conjugada com o ácido glicurônico para formar bilirrubina conjugada. Esta é solúvel em água e secretada ativamente pelos canalículos biliares menores e posteriormente excretada pela bile. No plasma, se observam pequenas quantidades de bilirrubina conjugada, sendo que a maior parte da bilirrubina plasmática é livre.

A bilirrubina conjugada não pode ser reabsorvida no intestino, mas as enzimas bacterianas presentes no íleo e cólon convertem a bilirrubina em urobilinogênio fecal (estercobilinogênio), que é reabsorvido em torno de 10 a 15% pela circulação portal até o

fígado. A maioria deste urobilinogênio é re-excretada pela bile e uma parte pode ser excretada pela urina. O urobilinogênio não reabsorvido no intestino é oxidado a estercobilina, pigmento responsável pela cor marrom das fezes.

O aumento dos níveis plasmáticos de bilirrubina pode ser devido ao aumento da bilirrubina livre na hemólise aguda grave, em absorção de um grande hematoma, em hemorragia interna massiva ou na transfusão de eritrócitos armazenados inadequadamente. Aumento da bilirrubina conjugada ocorre na perda da funcionalidade hepato-celular devido a doença infecciosa, dano tóxico ou obstrução do trato biliar. Aumento de ambas bilirrubinas ocorre na perda da funcionalidade hepato-celular, obstrução do fluxo biliar ou após uma hemólise intravascular aguda grave.

Diminuição dos níveis plasmáticos de bilirrubina são observados em doenças crônicas, principalmente as que cursam com diminuição da formação dos eritrócitos, causando anemia. Neste caso, devido ao número reduzido de eritrócitos, o sistema retículo-endotelial reduz a fagocitose dos eritrócitos, o que diminui os níveis de bilirrubina no plasma. Portanto, a hipobilirrubinemia é devido a anemias hipoproliferativas atribuídas a uma infecção ou inflamação crônica, neoplasia maligna ou na última fase da enfermidade renal.

## **Cálcio**

No plasma, o cálcio (Ca) existe em duas formas, livre ionizada (cerca de 45%) ou associado a moléculas orgânicas, tais como proteínas, principalmente albumina (cerca de 45%) ou a ácidos orgânicos (cerca de 10%). O cálcio total, forma como é medido no sangue, contém a forma ionizada que é biologicamente ativa, e a forma não ionizada. Estas duas formas estão em equilíbrio e sua distribuição final depende do pH, da concentração de albumina e da relação ácido-base. Quando existe acidose, há uma tendência para aumentar a forma ionizada de Ca. Uma queda no nível de albumina causa diminuição do valor de cálcio sanguíneo.

O nível de cálcio no plasma sanguíneo da maioria das espécies animais, excetuando as galinhas poedeiras, é bastante constante, entre 8 a 12 mg/dl.

O sistema endócrino envolvendo a vitamina D<sub>3</sub>, o paratormônio (PTH) e a calcitonina, responsáveis pela manutenção dos níveis sanguíneos de cálcio, atua de forma bastante eficiente para ajustar-se à quantidade de cálcio disponível no alimento e às perdas que acontecem, principalmente na gestação e na lactação. O firme controle endócrino do Ca faz com que seus níveis variem muito pouco (17%) comparado com o fósforo (variação de 40%) e o magnésio (variação de 57%). Portanto, o nível sanguíneo de cálcio não é um bom indicador do estado nutricional, enquanto que os níveis de fósforo e magnésio refletem diretamente o estado nutricional com relação a estes minerais.

A hipocalcemia é freqüente nas vacas leiteiras de alta produção, podendo causar febre do

leite ou paresia do parto. A quantidade total de cálcio em uma vaca adulta está em torno de 6.000 g, 90% dos quais armazenados nos ossos. Cerca de 1% (60 g) está no sangue e nos tecidos moles, sendo que na corrente circulatória há cerca de 8 g. Uma vaca que produza 30 kg de leite, com conteúdo de 0,12% de Ca, perde diariamente cerca de 36 g de cálcio, isto é, mais de 4 vezes a quantidade de cálcio sanguíneo. Estima-se que durante o período de uma lactação, cerca de 18% do mineral do esqueleto é perdido. Portanto, a taxa de reposição deve ser rápida o suficiente para cobrir a demanda e evitar a hipocalcemia. Qualquer interferência com a absorção intestinal e a mobilização óssea do Ca pode ser fatal.

A absorção de cálcio no intestino diminui com a idade. Animais mais velhos sofrem redução na capacidade de mobilizar reservas de Ca quando ocorrem desequilíbrios, sendo, portanto, mais suscetíveis de sofrer hipocalcemia.

A absorção de cálcio no intestino também é afetada por outros fatores, tais como: (a) a relação Ca:P nos alimentos (a relação ótima é de 2:1); (b) a quantidade de proteína na dieta, uma vez que a deficiência de proteína causa diminuição da absorção de cálcio; (c) ingestão excessiva de magnésio, que interfere com a absorção de cálcio, por competição nas células intestinais (d) dietas deficientes em magnésio, que reduzem a disponibilidade de cálcio; (e) suplementação excessiva de vitamina D<sub>3</sub> que aumenta a absorção de cálcio e pode causar calcificação dos tecidos moles.

A hipercalcemia é rara. Pode ocorrer por intoxicação com vitamina D, neoplasias, hiperparatireoidismo primário e dietas ricas em Ca. Em touros, o excesso de cálcio pode causar osteopetrose (excessiva calcificação dos ossos).

## **Cloro**

O Cl<sup>-</sup> é um dos 4 íons, juntamente com K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> e HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, que são medidos no plasma para determinar o equilíbrio ácido-básico. Sendo um íon principalmente extracelular, a sua concentração pode mudar em resposta as variações de outros eletrólitos para manter o equilíbrio elétrico dos fluidos corporais. Em geral, a sua concentração está inversamente relacionada com a de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> e diretamente relacionada com a de Na<sup>+</sup>. As mudanças de Cl<sup>-</sup> estão reguladas principalmente pela sua excreção no rim. No momento em que o Cl<sup>-</sup> seja substituído por outros ânions, como ácidos orgânicos, sem compensação de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> ou Na<sup>+</sup>, está conformada uma diferença aniônica anormal.

Uma hipocloremia pode ser observada na acidose metabólica por acúmulo de ácidos orgânicos (cetose, diabetes, acidose láctica), na acidose respiratória por acúmulo de CO<sub>2</sub>, que leva a um aumento de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> e, conseqüentemente, queda de Cl<sup>-</sup>, no vômito contínuo, por perda de HCl, na diarreia, por perda de fluidos intestinais ricos em Cl<sup>-</sup>, e em casos de doença renal, por acúmulo de grupos fosfato (H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>) e sulfatos (HSO<sub>4</sub><sup>-</sup>) que não se excretam e substituem o

Cl<sup>-</sup>. Uma hiperclorêmia pode ser observada na desidratação, e na alcalose respiratória, por perda de CO<sub>2</sub> e conseqüentemente de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> com aumento de Cl<sup>-</sup> compensatório.

Em transtornos do córtex adrenal, a produção alterada de aldosterona pode levar a quadros de hiper- ou hipoclorêmia.

## **Colesterol**

O colesterol nos animais pode ser tanto de origem exógena, proveniente dos alimentos, como endógena, sendo sintetizado, a partir do acetil-CoA, no fígado, nas gônadas, no intestino, na glândula adrenal e na pele. A biossíntese de colesterol no organismo é inibida com a ingestão de colesterol exógeno. O colesterol circula no plasma ligado às lipoproteínas (HDL, LDL e VLDL), sendo que cerca de 2/3 dele está esterificado com ácidos graxos. Os níveis de colesterol plasmático são indicadores adequados do total de lipídios no plasma, pois corresponde a aproximadamente 30% do total.

O colesterol é necessário como precursor dos ácidos biliares, os quais fazem parte da bile, e dos hormônios esteróides (adrenais e gonadais). Os estrógenos, sintetizados a partir de colesterol, afetam a complexa inter-relação das funções hipofisiária, tireoidiana e adrenal. Portanto, os níveis de colesterol podem dar uma indicação indireta da atividade tireoidiana.

O colesterol é excretado pela bile, na forma de ácidos biliares, ou na urina, na forma de hormônios esteróides.

Os níveis sanguíneos de colesterol podem estar aumentados no hipotireoidismo, em obstruções biliares, na diabetes mellitus, na pancreatite ou quando são utilizadas dietas ricas em carboidratos ou gorduras. O nível normal de colesterol é maior em animais mais velhos.

Os níveis de colesterol têm valores máximos durante a gestação em função do aumento da síntese de esteróides gonadais nessa fase. Por outro lado, as vacas lactantes podem apresentar hipercolesterolemia fisiológica. O aumento de colesterol durante a lactação tem sido atribuído ao aumento na síntese de lipoproteínas plasmáticas.

Níveis baixos de colesterol ocorrem quando há deficiência de alimentos energéticos. Seu nível também pode diminuir em uma lesão hepato-celular, no hipertireoidismo, em alimentação deficiente em energia e em doenças genéticas relacionadas com síntese diminuída de apolipoproteínas do plasma.

Os valores de colesterol no momento do parto são significativamente menores que durante o estados pré- e pós-parto. No início da lactação os valores de colesterol são baixos, aumentando progressivamente até a 10ª semana para voltar a cair no fim do período.

Em animais monogástricos é recomendável que as coletas para dosar colesterol sejam feitas após jejum de 12 horas.

## **Corpos cetônicos**

Os corpos cetônicos, produto do metabolismo dos ácidos graxos, são o  $\beta$ -hidroxibutirato, o acetoacetato e a acetona. Em situações onde há deficiência de energia, o acetoacetato, produzido normalmente no metabolismo dos ácidos graxos, não pode ser metabolizado e sofre redução a  $\beta$ -hidroxibutirato ou descarboxilação até acetona.

A cetose ou cetonemia é uma condição caracterizada por um aumento anormal na concentração de corpos cetônicos nos fluídos corporais (sangue, urina, leite e saliva). Esta condição é comumente encontrada em situações como diabetes mellitus, jejum prolongado, má nutrição e má absorção. A cetose está geralmente associada com hipoglicemia. Esta síndrome denominada cetonemia é bastante freqüente em bovinos, principalmente em vacas leiteiras de alta produção, devido a um balanço nutricional negativo, pois o animal precisa de muita energia para a produção de leite e não consegue manter equilibrada a sua glicemia, ocorrendo assim uma mobilização lipídica que dará origem ao aumento dos corpos cetônicos no plasma. Aumentar somente a quantidade de alimento pode não resolver o problema, visto que estes animais têm uma capacidade máxima admissível no trato gastrointestinal.

## **Creatinina**

A creatinina plasmática é derivada, praticamente em sua totalidade, do catabolismo da creatina presente no tecido muscular. A creatina é um metabólito utilizado para armazenar energia no músculo, na forma de fosfocreatina, e sua degradação para creatinina ocorre de maneira constante, ao redor de 2% do total de creatina diariamente (Figura 1). A conversão de fosfocreatina em creatinina é uma reação não enzimática e irreversível, dependente de fatores estequiométricos.

A concentração sanguínea de creatinina é proporcional à massa muscular. Por este motivo em situações de atrofia muscular e outras enfermidades relacionadas, ocorre diminuição do teor de creatinina plasmática. Ao mesmo tempo, em situações de exercício prolongado ou intenso, pode ser observado um aumento nos níveis plasmáticos de creatinina. Na prática, a produção de creatinina é constante e muito pouco afetada pelo aumento do catabolismo das proteínas tissulares e da dieta.

A excreção de creatinina só se realiza por via renal, uma vez que ela não é reabsorvida nem reaproveitada pelo organismo. Por isso, os níveis de creatinina plasmática refletem a taxa de filtração renal, de forma que níveis altos de creatinina indicam uma deficiência na funcionalidade renal.

Entre as causas de aumento plasmático da creatinina, devem ser consideradas uma azotemia pré-renal por diminuição da perfusão renal, como por exemplo na desidratação, uma azotemia renal devido à insuficiência renal, uma azotemia pós-renal por obstrução do fluxo



urinário ou ruptura de bexiga ou simplesmente uma atividade muscular intensa ou prolongada.

Entre as causas da diminuição dos níveis de creatinina no plasma são consideradas hidratação excessiva, insuficiência hepática e doenças musculares degenerativas.

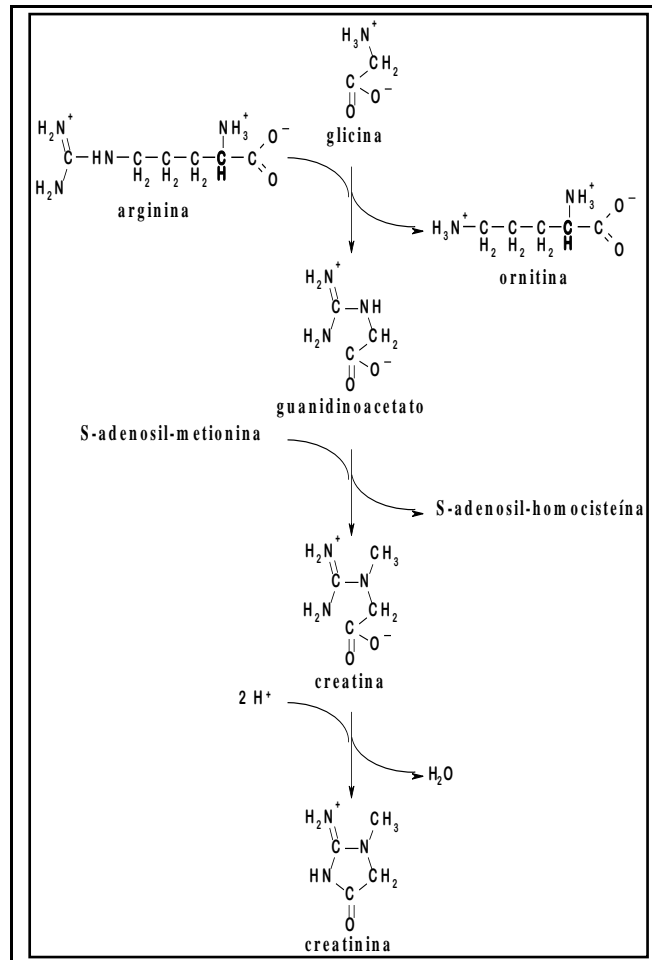


Figura 1. Formação de creatinina no músculo.

### Dióxido de carbono

O dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) é o produto final do metabolismo. Na presença da enzima anidrase carbônica, o  $\text{CO}_2$  e água formam o ácido carbônico, que posteriormente é dissociado em bicarbonato e hidrogênio. Estes compostos são responsáveis pelo equilíbrio ácido-básico e o controle do pH plasmático, agindo como um sistema tampão.

A determinação do dióxido de carbono no plasma é feita para avaliar o balanço ácido-básico e a capacidade tamponante do plasma. A concentração do dióxido de carbono no plasma, pode ser regulada através da sua excreção via respiração. Níveis aumentados de dióxido de carbono estão relacionados com alcalose metabólica, hipocalemia e acidose respiratória. Níveis abaixo do normal são encontrados quando ocorre uma acidose metabólica (devido a uma

insuficiência renal), diarreia, hipotensão, alcalose respiratória e desidratação.

## **Ferro**

O ferro é um constituinte essencial da porção heme da hemoglobina. Esta proteína é continuamente degradada e sintetizada em função da meia-vida dos eritrócitos, de forma que o ferro é reciclado continuamente. Uma proteína  $\beta$ -globulina, denominada transferrina, transporta o ferro via sanguínea para todo o organismo. O ferro derivado da degradação da hemoglobina é captado pelo sistema mononuclear fagocitário e pode ser armazenado no sistema retículo-endotelial (baço, fígado e medula óssea) sob a forma de ferritina e hemossiderina, proteínas armazenadoras do mineral.

Perdas de ferro ocorrem inevitavelmente, principalmente pelas células epiteliais do trato gastrointestinal. A principal fonte de ferro da dieta é a carne. A taxa de absorção é determinada pela quantidade de ferro armazenado e pela taxa de produção de eritrócitos.

O valores do ferro podem estar aumentados no plasma em decorrência de diversos fatores, tais como: anemia hemolítica (ocorre liberação de ferro dos eritrócitos), doenças hepáticas (local de estocagem do ferro na forma de hemossiderina e ferritina), leucemia aguda, níveis altos de substâncias estrogênicas, transfusão sanguínea, nefrite, administração parenteral excessiva de ferro ou excesso de ferro na dieta.

Níveis de ferro abaixo do normal indicam uma deficiência de ferro na dieta, problemas de má absorção, anemia, infecção crônica, uremia, síndrome nefrótica ou  $\alpha$ -transferrinemia congênita.

## **Fósforo**

O fósforo (P) existe em combinações orgânicas dentro das células, mas o interesse principal no perfil metabólico reside no fósforo inorgânico presente no plasma. A manutenção do nível de P do sangue é governada pelos mesmos fatores que promovem a assimilação do Ca. Porém, na interpretação do perfil os dois minerais indicam diferentes problemas. Por outro lado, o controle da concentração de cálcio via endócrina é mais rigoroso e o nível de fósforo inorgânico no plasma sanguíneo dos bovinos geralmente oscila bem mais que o nível de cálcio.

Os níveis de P são particularmente variáveis no ruminante em função da grande quantidade que se recicla via saliva e sua absorção no rúmen e intestino. A interrupção do ciclo leva a hipofosfatemia. Normalmente a perda de P nas secreções digestivas no bovino chega a 10 g/dia. Por outro lado, o P no rúmen é necessário para a normal atividade da microflora e portanto para a normal digestão.

A disponibilidade de P alimentar diminui com a idade (90% em bezerras, 55% em vacas adultas). Daí que os níveis sanguíneos de P sejam menores em animais mais velhos.

Deficiências no fósforo não tem efeitos imediatos, como é o caso do cálcio, porém no longo prazo podem causar crescimento retardado, osteoporose progressiva, infertilidade e baixa produção. A deficiência severa de fósforo manifestada por níveis sanguíneos de <3,0 mg/dl leva a depravação do apetite. As hipofosfatemias são observadas em dietas deficientes em P, mais comumente em solos deficientes em fósforo, principalmente durante o outono/inverno e em vacas de alta produção. Existem muitas áreas deficientes em P (McDowell, 1999). Vários trabalhos mostram deficiências na África (Senegal, Quênia), na Europa (Irlanda, Escócia), na Austrália e na América Latina (Brasil, Costa Rica, entre outros).

No leite a relação Ca:P é de quase 1:1. Entretanto, a relação Ca:P ótima nos alimentos para absorção é de 2:1, a mesma que existe nos ossos. Assim, a excreção de P pelo leite é maior, especialmente em vacas em produção. Nesses animais, uma alimentação com concentrados (rica em P) pode evitar problemas de deficiência.

Geralmente, as pastagens são abundantes em Ca e deficientes em P, acontecendo uma relativa deficiência de P e um excesso de Ca. Porém, os ruminantes estão bem adaptados para compensar altas relações Ca:P (até mais de 3:1). Por outro lado, o excesso de suplementação com Ca e P podem causar diminuição da absorção intestinal de outros minerais, tais como Mg, Zn, Mn e Cu.

Dietas com excesso de cereais, especialmente trigo, que contém alto teor de P, podem causar hiperfosfatemia em ovelhas e cabras, em decorrência da qual pode ocorrer urolitíase. O mesmo pode acontecer em gado sobrealimentado com concentrados e em cães e gatos com dietas únicas de carne.

## **Glicose**

Entre vários metabólitos usados como combustível para a oxidação respiratória, a glicose é considerada o mais importante, sendo vital para funções tais como o metabolismo do cérebro e na lactação. O nível de glicose sanguínea pode indicar falhas na homeostase, como ocorre em doenças tais como as cetoses.

Na digestão dos ruminantes, pouca glicose proveniente do trato alimentar entra na corrente sanguínea. O fígado é o órgão responsável pela sua síntese a partir de moléculas precursoras na via da gliconeogênese. Assim, o ácido propiônico produz 50% dos requerimentos de glicose, os aminoácidos gliconeogênicos contribuem com 25% e o ácido láctico com 15%. Outro precursor importante é o glicerol.

O nível de glicose tem poucas variações, em função dos mecanismos homeostáticos bastante eficientes do organismo, os quais envolvem o controle endócrino por parte da insulina e do glucagon sobre o glicogênio e dos glicocorticóides sobre a gliconeogênese. Quando o fornecimento energético é inadequado, esses hormônios estimulam a degradação de glicogênio

hepático e a síntese de nova glicose no fígado e quando o balanço energético se torna negativo, estimulam a mobilização de triglicerídeos para fornecer ácidos graxos como fonte de energia e glicerol como precursor de glicose hepática.

A dieta tem pouco efeito sobre a glicemia, em função dos mecanismos homeostáticos, exceto em animais com severa desnutrição. Sob alimentação sem deficiência ou excesso drásticos de energia, o nível de glicose não é bom indicador do nível energético da dieta. Porém, o fato de ser um metabólito vital para as necessidades energéticas do organismo justifica sua inclusão no perfil metabólico.

A concentração de glicose pode aumentar no estresse crônico. A diabetes mellitus, mais freqüente em monogástricos do que em ruminantes, é caracterizada por quadro de hiperglicemia e glicosúria.

A glicemia pode diminuir com a idade. Estados hipoglicêmicos em vacas leiteiras estão associados a cetose e deficiências severas de energia ou, em menor grau, a produções elevadas de leite. O nível de glicose tende a diminuir com produções acima de 30 kg de leite/dia. Na lactação, o suprimento de glicose na vaca é importante, especialmente quando alcança o máximo de produção, pois a glândula mamária necessita de glicose para síntese de lactose. Quando ocorre hipoglicemia na lactação (glicemia menor que 35 mg/dl), diminui a produção de leite como forma de compensação. Em casos extremos pode sobrevir cetose.

Nas vacas de alta produção, os requerimentos energéticos são cobertos pela alimentação adequada e gliconeogênese normal. A primeira deve adaptar-se às necessidades particulares dos ruminantes (a fibra é importante no peri-parto) e a segunda só é realizada se o fígado estiver funcionando normalmente. Diante de uma falha na alimentação ou na gliconeogênese, ocorre mobilização de triglicerídeos que servem como fonte de energia. A falta de oxalacetato leva ao aumento dos corpos cetônicos e, eventualmente, a cetose. Por outra parte, a excessiva mobilização de lipídeos pode levar a uma infiltração gordurosa no fígado, aumentando a falha hepática e, eventualmente, causando cirrose.

Sob condições de campo, diferentemente das condições experimentais, em ocasiões ocorre hipoglicemia, e seja qual for a causa ela indica um estado patológico com importantes implicações na saúde e na produção. Em cavalos subalimentados apresenta-se com freqüência hipoglicemia e hiperlipemia. A mobilização de lipídeos nesta espécie pode ser excessiva podendo causar dano hepático, às vezes fatal.

O nível de glicose nos ruminantes tende a ser menor no terço final da gestação do que nos períodos anteriores, isto é, os níveis tendem a diminuir à medida que a gestação avança. Sabe-se que o feto *in utero* demanda glicose como maior fonte de energia. Entretanto, no momento do parto, a glicemia tem um aumento agudo, talvez devido ao estresse. No período posterior ao parto os níveis caem de novo, especialmente na primeira semana e em vacas de alta produção.

## **Globulinas**

A concentração de globulinas é obtida pela diferença de concentração entre as proteínas totais e a albumina. As globulinas podem ser divididas em três tipos,  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , identificadas mediante eletroforese. Elas têm funções no transporte de metais, lipídeos e bilirrubina, bem como papel na imunidade (fração gama). As globulinas são indicadores limitados do metabolismo protéico, tendo mais importância como indicadores de processos inflamatórios.

Altos níveis de globulinas estão associados a doenças infecciosas ou a vacinações recentes. As globulinas aumentam com a idade, talvez por maior “experiência” imunológica, e durante a gestação. Existe uma correlação negativa entre a concentração de albumina e globulinas; assim, um aumento nas globulinas devido a estados infecciosos, inibe a síntese de albumina no fígado como mecanismo compensatório para manter constante o nível protéico total e, portanto, a pressão osmótica sanguínea. Por outra parte, na disfunção hepática, o nível de albumina cai e o de globulinas aumenta.

Mudanças nos níveis das globulinas podem ser usadas para avaliar estados de adaptação ao stress. Animais adaptados tendem a ter níveis normais, enquanto os não adaptados têm os níveis aumentados.

A concentração de globulinas diminui ao final da gestação devido à passagem de gamaglobulinas para o colostro. Em bezerras, a hipoglobulinemia é indicativo de que a ingestão de colostro foi pouca, o que os predispõe a sofrer de doenças, principalmente diarreias por colibacilose. A concentração de globulinas também diminui semanas antes do parto, recuperando seus valores até três semanas após o parto.

## **Hemoglobina**

A função da hemoglobina (Hb) é transportar oxigênio no sangue. Está composta por 4 subunidades que contém a fração heme, em complexo com a proteína globina. O heme está encarregado de transportar o oxigênio. A Hb é produzida pelos eritrócitos imaturos (reticulócitos) e sua degradação leva a formação de bilirrubina. Quase toda a Hb está localizada no eritrócito, porém uma mínima fração pode ser encontrada no plasma, como resultado da degradação eritrocítica.

A concentração de Hb aumenta com a idade e na desidratação.

A Hb diminui no período final do parto e durante o pós-parto. A queda de Hb no final do parto pode estar relacionada com a transferência indireta de Hb materna para o sangue fetal, o que é possível mediante a degradação dos eritrócitos nos cotilédones e a transferência do ferro do heme da Hb, aumentando, portanto, o nível de bilirrubina no sangue materno.

A redução do nível de hemoglobina e do hematócrito indicam anemia, a qual pode ser causada por vários fatores: (a) deficiência de proteínas ou de alguns minerais, principalmente

ferro, cobre e cobalto; (b) hemólise por intoxicações, defeitos congênitos, porfirias; (c) hematozoários e infestação por nematóides; (d) infecções virais específicas. Em geral, a anemia representa um sinal de alerta para que sejam tratados os problemas causadores. A anemia fica configurada quando a concentração de Hb é menor que 8 g/dl ou o hematócrito é menor que 25%.

Logo após o parto é normal acontecer anemia subclínica por hemodiluição, devido ao ajuste circulatório às necessidades hídricas e metabólicas como resultado do funcionamento da glândula mamária. Entretanto, se a anemia se prolongar por mais de 4 semanas pós-parto, isto pode ser indicação de algum problema, geralmente deficiência de nutrientes ou falha hepática.

As anemias subclínicas estão associadas a baixa fertilidade. Em bezerros, a anemia causa crescimento retardado. Em leitões é indispensável a suplementação com ferro porque o leite da porca é deficitário nesse mineral. A anemia pode levar a diminuição da tolerância ao exercício em cavalos e cães. A deficiência de cobre, que é causa de anemia, pode ser exacerbada por excesso de Mo ou de sulfatos.

## **Lactato**

O lactato é um produto intermediário do metabolismo dos glicídeos, sendo o produto final da glicose anaeróbica. Na presença suficiente de oxigênio e uma moderada taxa de glicólise, o ácido pirúvico entra no ciclo de Krebs, gerando  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ . Em condições em que o ácido pirúvico é produzido em uma quantidade maior da que consiga utilizar, ou quando ocorre condição de anaerobiose, o ácido pirúvico é convertido em ácido láctico. Em condições normais, a maioria do lactato é produzida pelos eritrócitos, mas durante exercício ou atividade física intensa, o músculo produz grandes quantidades de lactato, devido à condição de insuficiente oxigenação do músculo nestas situações.

As condições patológicas que resultam no aumento do lactato plasmático são agrupadas em: transtornos do músculo esquelético, cardiomiopatias, diabetes mellitus (onde o lactato e o piruvato estão aumentados), deficiência de tiamina, transtornos hepáticos, doença genética na qual ocorre falha nas enzimas responsáveis pela estocagem do glicogênio, toxemia da gestação, hipoxia, choque e redução da pressão sanguínea e anemia causando redução na capacidade de oxigenação.

Em ruminantes pode ocorrer também aumento do lactato sanguíneo na chamada acidose láctica ou indigestão láctica. Este transtorno é observado em animais que têm mudanças súbitas de dieta de forragem para concentrado, onde há uma rápida fermentação de carboidratos solúveis com alta produção de lactato.

## **Lipídeos totais**

Os lipídeos encontrados no plasma são divididos em três grandes grupos: colesterol, fosfolipídeos e gorduras neutras (TG). Mudanças na composição e na concentração plasmática dos lipídeos, podem ser observadas em várias condições fisiológicas, como por exemplo, em animais jovens, nos quais há baixas concentrações de lipídeos totais, ou durante a gestação, quando ocorre um aumento considerável de lipídeos totais no plasma.

Condições patológicas que cursam com o aumento dos lipídeos totais plasmáticos são nefrose, cirrose, hepatite aguda, hipotireoidismo e caquexia. Diminuição nos níveis plasmáticos de lipídeos totais pode ser devida a anemia, infecção aguda ou hipertireoidismo. É normal encontrar aumento nos níveis de lipídeos totais em vacas leiteiras de alta produção durante o pós-parto.

## **Magnésio**

Não existe um controle homeostático rigoroso do Mg e, portanto, sua concentração sanguínea reflete diretamente o nível da dieta. O controle renal de Mg está mais direcionado para prevenir a hipermagnesemia, mediante a excreção do excesso de Mg pela urina. Diante de uma deficiência de Mg, seus níveis na urina caem a praticamente zero. Assim, os níveis de Mg na urina são indicadores da ingestão do mineral nos alimentos.

A hipomagnesemia tem sérias conseqüências para os ruminantes podendo levar até a morte, enquanto que a hipermagnesemia não causa maior transtorno. A hipomagnesemia ou a tetania hipomagnesêmica constitui uma doença da produção, geralmente causada pela baixa ingestão de magnésio (Mg) na dieta. A hipomagnesemia pode causar, além da tetania, hiperexcitabilidade, retenção de placenta, bem como anormalidade da digestão ruminal e diminuição da produção de leite. Também predispõe à apresentação de febre do leite em vacas após o parto, devido a que níveis baixos de Mg (< 2 mg/dl) reduzem drasticamente a capacidade de mobilização das reservas de Ca dos ossos. O Mg está mais disponível em forragens secas e em concentrados (10-40%) do que em pastos frescos (5-33%). Pastagens jovens com altos níveis de proteína e K inibem a absorção de Mg. O Mg é absorvido no intestino mediante um sistema de transporte ativo que pode ser interferido pela relação Na:K e ainda pela quantidade de energia, de Ca e de P presentes no alimento. A hipomagnesemia também pode ser conseqüência de uma excessiva lipólise em decorrência de uma deficiência de energia.

O Mg é um mineral não essencial para o crescimento das pastagens. O K, que é essencial, muitas vezes fica em excesso especialmente por causa dos fertilizantes. Esse K em excesso inibe a absorção intestinal de Mg e, associado à deficiência de Mg, pode levar facilmente à hipomagnesemia. O nível de Mg no perfil metabólico pode indicar estados subclínicos antes de surgir o problema (nível normal 2,0-3,0 mg/dl), sendo especialmente útil antes do parto para

evitar problemas de tetania no pós-parto, geralmente complicados com febre de leite.

Configura-se hipomagnesemia em ruminantes com níveis de Mg abaixo de 1,75 mg/dl, aparecendo sintomas com concentrações abaixo de 1,0 mg/dl. Os níveis de Mg na urina podem ser indicativos de deficiência quando estão abaixo de 0,5 mg/dl (o nível normal de Mg na urina é de 10-15 mg/dl). É aconselhável fazer monitoramento dos níveis de Mg no sangue ou na urina ao longo do ano para prevenir hipomagnesemias. O leite é relativamente deficiente em Mg, pelo qual recomenda-se suplementar aos animais lactentes.

### **Potássio**

O potássio é o cátion intracelular mais abundante do organismo. Na maioria dos animais, a concentração de potássio dentro da célula é similar a concentração de sódio fora da célula. Este cátion, quando presente no fluido extracelular, está relacionado com o processo de excitação nervosa e muscular. A concentração sérica deste elemento é controlada através de sua contínua filtração pelo rim. O potássio é encontrado na saliva, no suco gástrico, na bile, no suco pancreático e nos líquidos intestinais. Qualquer situação patológica que interfira com a absorção ou reabsorção deste eletrólito no rim ou qualquer situação que implique em perda de líquidos corporais ricos em potássio alteram sua concentração sérica.

Situações em que pode ser encontrado aumento nos níveis séricos de K (hipercalemia) são devidas à excreção reduzida, como no hipoadrenocorticism, no tratamento com espirinolactona, em ingesta baixa de sódio, na fase oligúrica da insuficiência renal (principalmente insuficiência renal aguda), em ruptura vesical ou quando ocorre redistribuição do potássio do espaço intracelular para o líquido extracelular, como por exemplo, em casos de acidose (especialmente metabólica), hiperosmolaridade do plasma, dano tecidual extenso (queimadura) e trombocitose.

Situações em que é encontrado um nível baixo de K sanguíneo (hipocalemia) incluem diminuição da ingestão de potássio ou aumento da perda deste elemento como, por exemplo em vômito e diarreia persistente, em terapias de diuréticos, mineralocorticóides em excesso, em enfermidade hepática crônica, na fase poliúrica da insuficiência renal crônica ou por redistribuição do potássio do líquido extracelular para o espaço intracelular, como por exemplo, em alcalose, hiperinsulinemia e em recuperação de traumatismo grave.

### **Proteínas totais**

As principais proteínas plasmáticas são a albumina, as globulinas e o fibrinogênio. Elas estão envolvidas em múltiplas funções: (a) manutenção da pressão osmótica e da viscosidade do sangue; (b) transporte de nutrientes, metabólitos, hormônios e produtos de excreção, (c) regulação do pH sanguíneo; e (d) participação na coagulação sanguínea.



As proteínas sanguíneas são sintetizadas principalmente pelo fígado, sendo que a taxa de síntese está diretamente relacionada com o estado nutricional do animal, especialmente com os níveis de proteína e de vitamina A, e com a funcionalidade hepática.

A concentração de proteínas totais pode estar aumentada na desidratação por hemoconcentração. Alguns autores assinalam que os animais mais velhos têm maiores teores de proteína sanguínea que os mais novos, talvez por apresentarem maior eficiência metabólica na utilização da proteína. A fração protéica responsável por este aumento parece ser a das globulinas, principalmente da fração gama.

A concentração das proteínas totais encontra-se diminuída em falhas hepáticas, transtornos intestinais e renais, hemorragia, ou por deficiência na alimentação. Em estados de inanição, a proteína de reserva, especialmente do músculo e do fígado, é degradada para servir de fonte de glicose, ao mesmo tempo em que ocorre diminuição das proteínas totais do plasma provocando queda na osmolaridade plasmática, o que pode resultar, em casos extremos, em saída de líquidos da corrente circulatória para os tecidos (edema). Dietas com menos de 10% de proteína causam diminuição dos níveis protéicos no sangue.

Fisiologicamente, a concentração de proteínas pode cair na semana anterior ao parto, recuperando-se depois do parto. Vacas secas podem ter maiores teores de proteínas que vacas em lactação ou em gestação. Dietas com deficiência de proteína no início da lactação impedem a recuperação dos níveis sanguíneos protéicos no pós-parto e levam, necessariamente, a uma redução da produção leiteira.

## **Sódio**

O sódio está presente principalmente no líquido extracelular e determina, em grande parte, o volume deste líquido e a osmolaridade do plasma. O nível de sódio dentro das células é mantido baixo, graças a uma membrana celular relativamente impermeável à entrada de sódio e a uma bomba de sódio que retorna o sódio da célula para o líquido extracelular. Os rins regulam a quantidade de sódio do organismo, controlando também a de água, mantendo assim a concentração plasmática de sódio dentro de limites estreitos, apesar das flutuações devidas a ingesta diária.

Um aumento nos níveis plasmáticos de sódio é produzido por aumento na ingestão de sódio, por perda excessiva de água ou fluidos (poliúria, vômito, diarreia) ou por ingestão inadequada de água (falta ou incapacidade de beber).

Uma diminuição nos níveis plasmáticos de sódio pode ser devida a perdas deste eletrólito na diurese osmótica, na desidratação grave, na fase poliúrica da insuficiência renal aguda, na polidipsia psicogênica. Nesses casos, se observa aumento da pressão sanguínea e diminuição da pressão osmótica coloidal.

## **Triglicerídeos**

Os triglicerídeos (TG) formados nas células da mucosa intestinal a partir dos monoglicerídeos e ácidos graxos de cadeia longa absorvidos, são transportados pelos vasos linfáticos como quilomícrons e posteriormente entram na circulação sanguínea. Os quilomícrons são formados praticamente em sua totalidade por triglicerídeos (80-95%) e por pequenas quantidades de colesterol, fosfolídeos e uma proteína plasmática que confere solubilidade a este lipídeo. Os TG ligados aos quilomícrons são considerados TG exógenos.

Os TG formados no fígado são transportados no sangue sob a forma de lipoproteínas de baixa densidade (VLDL). Estes compostos consistem principalmente de triglicerídeos (em torno de 60%), contendo também colesterol, fosfolídeos e proteínas plasmáticas. Os TG ligados à VLDL são considerados TG endógenos.

Os níveis de triglicerídeos plasmáticos estão aumentados depois de ingerir alimentos ricos em gordura, em casos de deficiência da atividade da enzima lipase lipoprotéica, o que ocorre secundariamente a processos como diabetes mellitus ou por falha genética da atividade desta enzima.

## **Uréia**

A uréia é sintetizada no fígado a partir da amônia proveniente do catabolismo dos aminoácidos e da reciclagem de amônia do rúmen. Os níveis de uréia são analisados em relação ao nível de proteína na dieta e ao funcionamento renal.

A uréia é excretada principalmente pela urina e, em menor grau, pelo intestino e o leite. Na maioria dos animais (exceto em aves, que secretam ácido úrico), o nível de uréia é indicador de funcionamento renal. Na insuficiência renal pode ser observada azotemia (aumento nos níveis sanguíneos de uréia e creatinina). Também pode ocorrer azotemia por causas pré-renais, que incluem desidratação, choque hipovolêmico e hipotensão, bem como por causas pós-renais, principalmente obstrução do trato urinário.

Os níveis de uréia sanguínea também estão afetados pelo nível nutricional, particularmente em ruminantes. De modo geral, a uréia é um indicador sensível e imediato da ingestão de proteína, enquanto que a albumina é indicador a longo prazo do estado protéico. Por outra parte, uma dieta baixa em proteínas afeta pouco a concentração de globulinas.

A concentração de uréia pode estar aumentada em alimentação com excesso de proteína ou de fontes de nitrogênio não protéico, como a própria uréia, que é usada em ruminantes em até 3% da dieta. No entanto, também são encontrados níveis aumentados de uréia quando ocorre deficiência de energia, devido a diminuição da capacidade da microflora ruminal em utilizar os compostos nitrogenados para a síntese de proteínas, aumentando a quantidade de amônia absorvida no rúmen. O adequado fornecimento de glicídeos na dieta, quando há suplementação de compostos nitrogenados, evita o aumento excessivo dos níveis de uréia sanguínea, devido à

utilização pelas bactérias do rúmen da uréia e dos glicídeos para sintetizar aminoácidos e proteína.

O jejum prolongado pode causar aumento da proteólise endógena para utilizar aminoácidos como fonte energética o que causa aumento na concentração de uréia. Isto é freqüente em bezerros com diarreia, quando o consumo de alimento chega a ser nulo. Nesses casos, o quadro é exacerbado pela desidratação, pois o fluxo de urina diminui e inibe a excreção renal de uréia, podendo causar uremia.

Em ruminantes ocorre diminuição dos níveis de uréia sanguínea por dietas deficientes em compostos nitrogenados. O balanço nitrogenado nestas espécies pode ser estudado com base nos níveis de uréia tanto no sangue quanto no leite. Os valores de uréia sanguínea diminuem pouco antes e após o parto, inclusive em vacas com adequados níveis de proteína na dieta.

É importante considerar quando se expressa um resultado, se o dosado é uréia ou N uréico, uma vez que o valor de uréia é 2,14 vezes maior que o valor de N uréico. Também deve ser observada a unidade com que é expressado o resultado, pois o Sistema Internacional de Unidades utiliza mmol/l, enquanto que alguns laboratórios entregam o resultado no sistema convencional de medida, isto é, mg/dl. Facilmente é possível converter as unidades de um sistema para outro usando o fator 0,167 (1 mg/dl = 0,167 mmol/l).

## ENZIMAS CLÍNICAS

A enzimologia clínica é de grande ajuda diagnóstica, principalmente em relação as enzimas presentes na corrente sanguínea, várias das quais são incluídas no estudo do perfil metabólito sanguíneo (Tabela 2).

Tabela 2. Níveis séricos normais (U/l) de algumas enzimas.

| Enzima                          | Bovinos   | Equinos  | Caninos | Ovinos   |
|---------------------------------|-----------|----------|---------|----------|
| Fosfatase alcalina (FA)         | 0-488     | 143-395  | 20-156  | 68-387   |
| Alanina transaminase (ALT)      | 14-38     | 3-23     | 21-102  | 30       |
| aspartato transaminase (AST)    | 78-132    | 226-366  | 23-66   | 307      |
| Colinesterase (ChE)             | 1270-2430 | 450-790  | 270     | 640      |
| Amilase (Amyl)                  |           | 75-150   | 185-700 |          |
| Arginase (Arg)                  | 1-30      | 0-14     | 0-14    | 0-14     |
| Creatina quinase (CK)           | < 94      | < 140    | < 125   | < 40     |
| Glutamato desidrogenase (GLDH)  | 31        | 0-11,8   | 3       | 20       |
| Gama-glutamil transferase (GGT) | 6,1-17,4  | 4,3-13,4 | 1,2-6,4 | 20-52    |
| Lactato desidrogenase (LDH)     | 692-1445  | 162-412  | 45-233  | 238-440  |
| Sorbitol desidrogenase (SDH)    | 4,3-15,3  | 1,9-5,8  | 2,9-8,2 | 5,8-27,9 |

Fonte: Kaneko *et alii.* (1997), Wittwer (199)

A medição da atividade enzimática no plasma como ajuda diagnóstica esta fundamentada no seguintes conceitos:

- (a) No plasma sanguíneo podem ser encontradas enzimas cuja síntese e função são

exercidas em nível intracelular, mas que podem sair para a corrente circulatória, após a morte celular. Sob condições normais, estas enzimas têm baixa atividade no plasma. Outras enzimas, que também são produzidas no espaço intracelular podem ser secretadas para atuar fora das células, como é o caso das enzimas da coagulação sanguínea (trombina).

(b) Como a concentração intracelular das enzimas é bem maior que no plasma, danos celulares relativamente pequenos podem levar a aumentos significativos da atividade das enzimas no plasma.

(c) Aumentos da atividade enzimática no plasma permite fazer inferência sobre o lugar e o grau do dano celular, uma vez que muitas enzimas são específicas de órgãos. O grau de alteração pode ser determinado pela atividade de enzimas associadas a diferentes compartimentos celulares. Assim, em danos tissulares severos, aparece maior atividade de enzimas mitocôndrias (e.g. GLDH) e em danos menores aparece atividade de enzimas citoplasmáticas (e.g. ALT) ou de membrana (e.g. FA).

(d) Os níveis enzimáticos no plasma estão influenciados pela velocidade com que entram na corrente circulatória, o que por sua vez depende do dano celular e pela taxa de inativação enzimática (meia-vida da enzima).

(e) O evento que interessa na determinação enzimática é o aumento da atividade, não tendo geralmente importância a diminuição.

O sistema de medida da concentração das enzimas mais usado é o de Unidades Internacionais (U), equivalente à quantidade de enzima que catalisa a conversão de 1  $\mu\text{mol}$  de substrato por minuto. Devem ser expressadas as condições de pH, temperatura e concentração de substrato usadas na determinação. A União Internacional de Bioquímica (IUB) recomenda, para expressar a atividade enzimática, o uso do katal (1 kat= 1 mol/s) unidade que tem equivalência no sistema internacional (1 U/l= 16,67 nkat/l).

A amostra utilizada para a análise de enzimas deve ser preferivelmente soro e, se usar plasma, deve evitar-se o uso de anticoagulantes com agentes quelantes de metais, tais como EDTA, citrato ou oxalato, para evitar a inativação das metaloenzimas. A heparina é uma boa alternativa. A estabilidade das enzimas é diferente para cada uma sendo conveniente separar o soro ou o plasma o mais rapidamente possível. Deve evitar-se congelar e descongelar muitas vezes a mesma amostra, pois este processo pode causar a desnaturação de algumas enzimas. Quando for necessário analisar uma amostra em dias diferentes, recomenda-se dividir em pequenas alíquotas, descongelando só o que for analisado logo em seguida.

Além dos cuidados, já citados, com a coleta e armazenamento da amostra, o clínico deve ter cuidado especial com a anamnese do paciente. Alguns fatos podem passar despercebidos e levar a uma interpretação equivocada dos resultados, como por exemplo:

- a aplicação de uma injeção por via intramuscular pode causar uma irritação tecidual no músculo, suficiente para elevar a concentração de CK, AST ou LDH no sangue;

- a hemólise pode interferir não somente pela variação na absorbância da amostra como também pela liberação de enzimas presentes nos eritrócitos;
- a CK pode elevar-se devido uma crise convulsiva em que o animal se debata e traumatize os músculos esqueléticos;
- o animal pode ter sofrido algum acidente que não foi percebido ou relatado pelos proprietários, caso em que se deve procurar por outras evidências, pois além do traumatismo muscular, pode ter ocorrido alguma lesão visceral;
- verificar a possibilidade de indução enzimática por uso de drogas;
- levar em conta fatores como caquexia, prenhez, idade, dieta e outros que possam interferir nos resultados;
- animais e raças com taxas de crescimento maiores apresentam maior atividade enzimática de AST, ALT e FA.

## **PRINCIPAIS ENZIMAS USADAS NA CLÍNICA VETERINÁRIA**

### **Aldolase (ALD)**

Catalisa a hidrólise da frutose-1,6-difosfato em gliceraldeído-3-fosfato e dihidroxiacetona-fosfato, na via da glicólise. Tem importância no diagnóstico de lesão muscular (esquelética e cardíaca). Também pode estar aumentada em casos de dano hepático, na hemólise e após administração de cortisol. A sua medição é difícil, razão pela qual são preferidas outras enzimas indicadoras desses problemas, tais como AST, ALT, CK e LDH.

### **Alanina aminotransferase (ALT)**

A ALT (GPT, TGP) catalisa a transaminação reversível de alanina e 2-cetoglutarato em piruvato e glutamato. Tem como cofator o piridoxal-fosfato. É encontrada em grande concentração no fígado e, em menor grau, no rim e nos músculos, tendo localização citoplasmática. A ALT é um bom indicador de hepatopatias agudas em cães, gatos, coelhos, ratos e primatas, principalmente em doenças hepato-celulares, necrose hepática, obstrução biliar, intoxicações e infecções parasitárias. Seu uso em suínos, cavalos e ruminantes é de pouco valor diagnóstico devido aos baixos teores da enzima nos tecidos destas espécies. Em processos crônicos seu valor está diminuído. Também pode estar aumentada em casos severos de dano muscular.

Gestação, nutrição inadequada e falha renal podem levar a uma atividade da ALT diminuída pela deficiência desta vitamina. Cães e ratos tratados com cefalosporina também podem apresentar diminuição da atividade desta enzima

Embora presente no coração, nos rins, músculos e eritrócitos, a enzima oriunda destes

órgãos não é capaz de fazer a ALT aumentar muito mais do que 3 vezes.

O aumento da ALT está relacionado com o número de células envolvidas, ou seja, com a extensão, e não com a gravidade da lesão. Na realidade, mesmo uma lesão que não cause morte celular, pode ser suficiente para que ocorra a liberação de ALT na corrente sanguínea.

Diversas drogas podem induzir um incremento da atividade da ALT. Em pequenos animais são relevantes para o clínico os seguintes princípios ativos: acetaminofeno, barbitúricos, glicocorticóides, cetoconazol, mebendazol, fenobarbital, fenilbutazona, primidona e tetraciclina. Substâncias químicas (fenóis, alcatrão e outros), plantas hepatotóxicas e aflatoxina podem causar o mesmo efeito.

ALT tem um pico de liberação no sangue cerca de 3 ou 4 dias após a lesão, mas retorna aos valores basais cerca de 2 semanas após. A persistência de valores elevados por um período maior pode indicar o estabelecimento de uma patologia crônica como neoplasia ou hepatite.

Outras causas possíveis de aumento da ALT são *shunts* portossistêmicos, lipidose hepática, pancreatite aguda (aumento moderado), hepatites tóxicas ou infecciosas (leptospirose, peritonite infecciosa felina, e outras), hipóxia e febre (pequena variação).

### **Amilase (Amyl)**

A amilase é uma metaloenzima  $\text{Ca}^{2+}$ -dependente que atua no intestino hidrolisando polímeros de glicose (amido, amilopectina e glicogênio) nas ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4, produzindo maltose e dextrina limite. Existem, no mínimo, 4 isoenzimas de amilase no plasma de cães e 7 nos humanos. Existe amilase em vários tecidos (glândulas salivares, cérebro, pulmão) exceto no fígado. Seu nível é 6 vezes maior no pâncreas e no duodeno do que nos outros tecidos. A elevação de amilase no plasma é indicativo de pancreatite em cães, obstrução intestinal, falha renal, obstrução urinária, neoplasias do pâncreas, hiperadrenocorticismos, obstrução das glândulas salivares e administração de drogas (cortisol, opiáceos). Também pode aparecer amilase na urina nos casos de pancreatite, lesões das glândulas salivares e insuficiência renal.

O cão não possui alfa-amilase nas glândulas salivares, embora outras espécies a possuam.

Grande parte da amilase sanguínea é removida do organismo pela filtração renal e eliminada na urina. Portanto, uma das causas prováveis de hiperamilasemia é a diminuição da filtração glomerular. No entanto, se esta causa for eliminada, a amilase tem uma alta especificidade para lesão pancreática. Em casos mais raros pode ocorrer aumento da amilase sanguínea por trauma cerebral.

Algumas drogas podem causar pancreatite e por conseqüência hiperamilasemia. No entanto, não foram encontrados relatos de indução da produção enzimática pelo uso de drogas.

Vários tecidos como intestino, rins e útero apresentam atividade de amilase, e por isso, os pesquisadores preferem considerar que o diagnóstico de pancreatite em cães seja dado só

quando o valor ultrapassar 3 ou 4 vezes os valores de referência.

### **Arginase (Arg)**

Esta enzima apresenta aumento de atividade após uma injúria aguda do fígado, retornando aos valores normais mais rapidamente que a ALT e AST. Em hepatites necróticas crônicas pode manter níveis elevados, com um mau prognóstico para o animal. A arginase já foi demonstrada em várias espécies, mas pode ter valor diagnóstico em eqüinos, bovinos, ovinos, caprinos e cães. Atualmente não é usada na rotina laboratorial por falta de kit comercial disponível.

### **Aspartato aminotransferase (AST)**

A AST (GOT, TGO)) catalisa a transaminação reversível de aspartato e 2-cetoglutarato em oxalacetato e glutamato. Tem como cofator o piridoxal-fosfato. Existe em muitos tecidos como duas isoformas, no citosol e na mitocôndria, sendo mais abundante no fígado, nos eritrócitos e nos músculos esquelético e cardíaco. Seu uso é como indicador de danos nesses tecidos.

Aumento de AST são observados em hepatite infecciosa e tóxica, cirrose, obstrução biliar e fígado gorduroso. Seu nível também está aumentado quando ocorre hemólise, deficiência de selênio/vitamina E e no exercício físico intenso. Em lesões musculares, convém conferir também a atividade de CK. A AST é usada para avaliar condicionamento físico em animais de esportes. Também, em suínos, pode ser indicador da capacidade de suportar estresse por transporte (teste de halotano)

Em ruminantes a AST é um bom indicador do funcionamento hepático. Assim, seus níveis sanguíneos são utilizados em vacas no pré-parto para prevenir doenças metabólicas durante o pós-parto, especialmente em vacas de alta produção. Vacas com altos valores de AST antes do parto (>35 U/l), têm mais tendência a sofrer problemas de infertilidade, paresia de parto e retenção de placenta que vacas com baixos valores (<25 U/l). Valores altos de AST e baixos de colesterol e de albumina revelam, com razoável certeza, transtornos na função hepática.

Em aves e outros animais, a AST pode indicar toxicidade por ionôforos usados como drogas anticoccidiais. AST pode estar elevada na intoxicação crônica pelo cobre nos ovinos. Plantas hepatotóxicas que causem necrose hepática, como *Cestrum parqui* e *Xanthium cavalinense* são causas possíveis de aumento da AST. *Senna occidentalis* e outras que causam extensa necrose muscular podem ter o mesmo efeito.

A deficiência de vitamina E e selênio pode causar necrose segmentar dos músculos esqueléticos (doença dos músculos brancos), incrementando a atividade de AST no plasma. Nestes casos pode ser interessante avaliar conjuntamente a creatina quinase, que é mais

específica para lesão muscular, e a glutathione peroxidase, para avaliar a carência de selênio.

AST pode ser usada para avaliar lesão hepática em pequenos animais da mesma forma que a ALT, porém com uma especificidade muito menor. Na avaliação de lesão muscular, ela produz aumentos menores do que a creatina quinase, mas que se estendem por um período de tempo maior.

AST por ser uma enzima mitocondrial e citossólica, necessita uma lesão maior para ser liberada na corrente sanguínea. Por outro lado CK e LDH, por serem citossólicas e de tamanho pequeno, conseguem ultrapassar a membrana celular mesmo que não exista um dano tecidual muito grande. Na realidade, um simples aumento de permeabilidade de membrana é suficiente para que ocorra o extravasamento da enzima.

Lesões no músculo cardíaco também são demonstradas pelo aumento da AST. Cardiomiopatias diversas podem causar este efeito, assim como endocardites bacterianas, dirofilariose, trombose aórtica e infarto do miocárdio. Quando estiver presente congestão hepática por problema cardíaco, a enzima provavelmente estará elevada devido ao fígado congesto. O aumento da AST sérica pode ocorrer em patologias de localização no sistema nervoso central. Quando isto ocorrer, sugere uma grande lesão do parênquima e um prognóstico ruim.

### **Colinesterase (ChE)**

Existem duas enzimas conhecidas por este nome, a acetilcolinesterase (AChE) ou colinesterase verdadeira, e a butirilcolinesterase (ButChE), ou pseudocolinesterase. No plasma encontram-se maiores níveis da pseudo-colinesterase (butiril-colinesterase) do que da ChE verdadeira (acetil-colinesterase), mas os níveis de ambas são paralelos e indicativos um do outro, tendo os mesmos inibidores e ativadores.

A ChE é uma enzima integrante da junção mioneural, da substância cinzenta do cérebro que catalisa a hidrólise do neurotransmissor acetilcolina em colina e acetato. Entre os mais importantes inibidores desta enzima estão os organofosforados, cujo grupo fosforil se une irreversivelmente à ChE, permitindo a ação contínua da acetilcolina e causando tremores e convulsões.

O significado clínico da ChE é quando se observam níveis menores que o normal, por exemplo na intoxicação com organo-fosforados ou em lesão hepática. Níveis baixos de ChE também são observados em animais anêmicos ou mal alimentados. Aumentos da ChE são vistos em lesões cerebrais (abscessos) ou em hiperlipoproteinemia.

A intoxicação por organofosforados causa uma inibição relativamente estável da enzima, enquanto que aquela causada por carbamatos é muito lábil. A acetilcolinesterase serve para fazer o diagnóstico diferencial entre as substâncias tóxicas, uma vez que não tem uma relação muito grande com a gravidade dos sinais clínicos. A avaliação da atividade da



acetilcolinesterase varia muito com o tempo e quantidade do produto ingerido. Como a AChE é encontrada em quantidades muito pequenas no plasma, normalmente avalia-se a atividade enzimática da ButChE como indicador da atividade enzimática da AChE na junção mioneural.

### **Creatina quinase (CK)**

A CK, também conhecida como creatina fosfoquinase (CPK), existe na forma dímeros, cujas subunidades pesam 40 kD. As subunidades correspondem a formas M (muscular) ou B (cerebral), havendo 3 isoenzimas (MM, MB e BB). Em medicina veterinária, a determinação das isoenzimas de CK ainda não tem utilidade prática, embora seja comum na medicina humana.

A principal atividade da CK está no tecido muscular (esquelético e cardíaco), tendo como função fosforilar de forma reversível a creatina a expensas do ATP, como uma forma adicional de conservação de energia em ligações fosfatadas (Figura VIII-1). Além do tecido muscular, a CK pode estar localizada, em menor quantidade, no rim, cérebro, diafragma, trato gastrointestinal, útero e bexiga.

A CK é amplamente usada para diagnosticar transtornos musculares. A enzima é citosólica ou associada às estruturas das miofibrilas. Requer  $Mg^{2+}$  como cofator e, portanto, sua atividade pode estar inibida na presença de compostos quelantes (EDTA, citrato, oxalato). Seu nível está aumentado no infarto cardíaco e em danos musculares, como isquemia muscular por decúbito prolongado, convulsões, tremores, traumas, excesso de exercício, necrose, cirurgias, injeções intramusculares, choque e miopatias nutricionais que envolvam deficiência de vitamina E e selênio.

Em problemas musculares, é conveniente dosar também AST. A CK aparece elevada antes da AST e também desaparece primeiro. Assim, o padrão enzimático dessas enzimas pode indicar o estágio do problema. CK aumentada com baixa AST indica lesão recente, níveis persistentemente altos das duas indicam lesão continuada, enquanto que níveis baixos de CK e altos de AST indicam processo de recuperação.

Cães com leptospirose apresentam a atividade sérica da CK aumentada, o que sugere uma extensa degeneração muscular, o que explica as dores observados na clínica veterinária.

Incremento de CK ocorre em bovinos transportados por longos períodos. Este aumento ocorre pelo esforço físico que são submetidos os animais. O esforço do parto também é um fator de aumento da CK, assim como o exercício de cavalos de pentatlon.

O uso da isoenzima CK-MB não é um indicador confiável de lesão cardíaca em cães, diferente do que ocorre com humanos. Isto é devido a que a meia vida da CK-MB canina é muito curta e, desta forma, raramente a isoenzima pode ser avaliada a tempo.

### **Fosfatase ácida (AcP)**

Enzima da família das fosfatases, que hidrolisam ésteres do ácido fosfórico. A AcP tem a sua atividade ótima a pH menor de 7,0. Tem localização intra e extra-lisossômica, atuando principalmente em próstata, fígado, baço, leite, células sanguíneas e sêmen.

Em humanos, a enzima tem sua atividade sérica aumentada em doenças prostáticas (hipertrofia, prostatite e carcinoma), além de algumas doenças ósseas e hematológicas. Em medicina veterinária ainda não existem resultados conclusivos a respeito de doenças prostáticas e a atividade sérica da AcP.

### **Fosfatase alcalina (FA, ALP)**

Foi a primeira enzima utilizada na clínica por King e Armstrong em 1927. A FA catalisa a hidrólise de ésteres de ácido fosfórico em condições alcalinas, tendo um pH ótimo de atividade in-vitro de 10. Como nenhuma célula possui esse pH, acredita-se que o pH intracelular exerce um importante controle sobre a atividade desta enzima.

Existem várias isoenzimas de FA em praticamente todos os tecidos, estando localizada na membrana celular. Tem maior presença nas células do epitélio intestinal, osso, fígado, túbulos renais e placenta. Todas as isoenzimas de FA são dímeros cujas cadeias pesam de 40 a 70 kD. São metaloenzimas que contêm  $Zn^{2+}$  e têm como cofator o  $Mg^{2+}$ . Existe uma isoenzima induzida por corticosteróide em cães.

A concentração sérica de FA é 2 a 3 vezes maior em animais jovens do que em adultos. Em gestantes, o aumento pode ser de 300% do normal, devido a sua presença na placenta. A isoforma hepática da FA é a que predomina no plasma, tendo maior importância em doença hepatobiliar. Assim, na colestase ocorre aumento da concentração de FA, de forma que quanto maior a atividade da FA, maior o grau de obstrução biliar. Em danos do parênquima hepático, o aumento de FA é de baixo a moderado. Os felinos possuem uma menor quantidade hepatocelular de fosfatase alcalina, e é rapidamente eliminada pelos rins. Além disso, nessa espécie, nem toda hepatopatia significativa causa um aumento significativo da enzima. Em cães, a hepatopatia que causa aumento da fosfatase alcalina, cursa com colestase. A obstrução biliar extra-hepática, assim como a indução por corticosteróides, pode aumentá-la em até 10 vezes. Necrose hepatocelular geralmente cursa com aumento transitório da fosfatase alcalina.

A isoforma renal não está presente no plasma. Quando há dano renal, a FA aparece na urina junto com a enzima GGT.

FA é de pouca importância em doenças hepáticas em cavalos e ruminantes devido aos amplos intervalos normais de concentração nestes animais. Também pode estar aumentada em casos de osteomalácia, hiperparatireoidismo, tumor ósseo, cicatrização de fraturas, deficiência de vitamina D, raquitismo, hiperadrenocorticismo, gestação e retenção de placenta. Como a FA

está presente no leite cru, serve como marcador da pasteurização e da inativação por calor.

A isoenzima de FA induzida por corticosteróide pode estar presente nos cães com hiperadrenocorticismo, cães em tratamento, ou secundário a doenças prolongadas pelo efeito do stress. Além dos corticosteróides, outras drogas induzem ao aumento da fosfatase alcalina, entre as quais se citam barbitúricos, cefalosporinas, fenobarbital, fenotiazinas, fenilbutazona, tetraciclina, tiabendazol e halotano.

FA de origem óssea pode estar aumentada em animais jovens, em consolidação de fraturas, hiperparatireoidismo, osteossarcoma, osteomalácia ou na deficiência de vitamina D. Os animais castrados apresentam uma maior atividade da enzima que os inteiros.

### **Gama-glutamil transferase (GGT)**

A GGT catalisa a transferência de grupos gama-carboxila do glutamato a um peptídeo, geralmente o dipeptídeo Gly-Gly. Esta enzima também é conhecida como gama-glutamil transpeptidase. Encontra-se como enzima associada às membranas, mas também está no citosol, especialmente nos epitélios dos dutos biliares e renais, embora possa ser encontrada no pâncreas e no intestino delgado, mas somente aquela de origem hepática é normalmente encontrada no plasma, pois a de origem renal é excretada na urina.

Seu peso molecular varia de 90 a 350 kD, dependendo da espécie. A função da GGT não está muito bem esclarecida, mas acredita-se que está relacionada com o metabolismo do glutation. A GGT do plasma é de origem hepática, sendo indicativa de colestases e proliferação de dutos biliares em todas as espécies, aumentando também na cirrose e no colangiocarcinoma. Em felinos, mas não em cães, pode ser utilizada no lugar da fosfatase alcalina, com maior sensibilidade e especificidade para o fígado. Por isso é mais utilizada em gatos do que em cães.

Em cães pode ser induzida pelo tratamento com prednisolona, sem causar colestase. Em filhotes de cão, a GGT pode atingir valores de até 25 vezes o valor normal para cães adultos.

A GGT urinária provem da GGT renal e é indicativa de dano renal.

O nível de GGT é muito baixo em cães e gatos, comparado com os níveis nos ruminantes. Os níveis desta enzima podem estar aumentados também em neonatos após o consumo de colostro, fato que pode servir de marcador da ingestão de colostro, principalmente em bezerras recém-nascidos, embora com menor eficiência que a imunoglobulina G. Os níveis de GGT começam a diminuir no soro, e aos 21 dias estabilizam.

Em bovinos, se relata elevação da atividade da GGT em vacas leiteiras com lipidose hepática e em animais infestados com *Fasciola hepatica*, nos quais os níveis de GGT estão aumentados cerca de 6 semanas após a infecção.

### **Glutamato desidrogenase (GLDH)**

A glutamato desidrogenase é uma enzima mitocondrial, encontrada principalmente no fígado e no rim, e em menor extensão, no músculo cardíaco e em outros tecidos. É considerada uma enzima hepato-específica. Em ruminantes, principalmente, esta enzima é um importante indicador de necrose hepática ou obstrução do ducto biliar. Quanto maior a sua atividade plasmática, maior o dano hepático.

Durante processos inflamatórios, como hepatite ou cirrose, esta enzima, comparada com a ALT, tem um pequeno aumento na sua atividade plasmática, devido a sua localização mitocondrial. Podem ser observados grandes aumentos na sua atividade em doenças hepáticas causadas por agentes hepatotóxicos.

### **Glutation peroxidase (GSH-Px)**

É uma enzima intracelular presente nos eritrócitos, que contém 4 átomos de selênio por molécula. A GSH-Px representa mais de 75% do selênio sanguíneo. O fato de existir uma boa correlação entre a atividade enzimática nos eritrócitos e a concentração de selênio, faz com que a GSH-Px seja usada para avaliar a deficiência deste mineral. Como a enzima é intracelular, normalmente ela é avaliada como unidades por miligrama de hemoglobina (U/mg de Hb) ou unidades por decilitro de hemácias (U/dL de hemácias).

A deficiência de selênio é conhecida por estar relacionada a uma maior incidência de mastite, degeneração testicular, imunossupressão, aborto, retenção de placenta, miopatia cardíaca, doença dos músculos brancos entre outras. A GSH-Px pode ser usada para avaliar a melhor forma de suplementar o mineral e sua resposta frente a doenças e correlação com ganho de peso. Animais deficientes em selênio, quando submetidos a esforços físicos intensos, têm uma maior lesão tecidual e por conseqüência um nível mais elevado de outras enzimas como a AST, CK e LDH.

### **Lactato desidrogenase (LDH)**

A LDH catalisa a oxidação reversível do lactato para piruvato com o cofator  $\text{NAD}^+$ . Existem como mínimo 5 isoenzimas, estando compostas por tetrâmeros, cujos protômeros são de 2 tipos (H e M) com pesos moleculares aproximados de 35 kD. A concentração de LDH nos eritrócitos é 150 vezes maior do que no plasma. Portanto, uma hemólise leve é detectada por aumento nos níveis desta enzima no soro. A análise eletroforética das isoenzimas revela danos tissulares específicos. Existem cinco isoenzimas conhecidas de LDH, que não são comumente analisadas nos laboratórios veterinários. Isoladamente a enzima não é específica para nenhum órgão.

Lesões musculares de etiologias variadas podem estar relacionadas ao aumento da LDH. Deficiência de vitamina E e selênio e a mioglobínúria são causas de aumento de LDH. Em

cavalos de salto, a LDH aumentou imediatamente após o exercício e se manteve elevada após 24 horas, diferente da CK que teve um pico após o exercício, mas voltou aos valores basais após um dia.

Por se apresentar como um bom indicador de lesão muscular, LDH se usa em conjunto com CK e AST para monitorar a intensidade de exercício em cavalos.

A LDH pode ser utilizada para avaliar cardiomiopatias diversas (isquemia, endocardite bacteriana, dirofilariose, trombose aórtica e infarto do miocárdio). Normalmente a LDH aumenta menos rapidamente que a CK, mas também mantém os valores elevados por mais tempo. Após o infarto agudo do miocárdio, em humanos, a LDH atinge valores acima da referência após 16 horas, atingindo valores máximos em 40 horas e mantendo a atividade elevada por até 8 dias.

Em medicina humana é comum analisar a isoenzima LDH1, e comparar com os valores de outras isoenzimas para avaliar o infarto do miocárdio. LDH1, que normalmente não ultrapassa 40% da atividade total, após o infarto pode atingir a proporção de 50 a 60% da atividade total. Além disso, ela costuma estar em menor quantidade que a LDH2, situação que se inverte após o infarto.

A LDH também pode ser utilizada em casos de meningite bacteriana. Nestes casos, ocorre um incremento da isoenzima LDH5 e um pequeno aumento da LDH4.

### **Lipase (LIP)**

A lipase catalisa a hidrólise de triglicerídeos liberando 2 ácidos graxos e um 2-monoglicerídeo. A lipase pancreática é a mais abundante de todas as lipases no plasma. Sua presença elevada no soro é indicativo de pancreatite, especialmente em cães, mas seu uso tem sido substituído pela amilase, devido aos custos de análise. Os níveis de colipase (cofator da lipase pancreática) são importantes na análise. Como a colipase é excretada no rim e a lipase não, um dano renal pode produzir um aumento na atividade da lipase sérica.

### **Sorbitol desidrogenase (SDH)**

A SDH catalisa a oxidação reversível de sorbitol para frutose, tendo como cofator o NAD<sup>+</sup>. Seu peso molecular é de 95 kD e aparece exclusivamente no citosol dos hepatócitos. Seu incremento no plasma revela dano hepático. É especialmente instável no soro equino, onde sua atividade só dura 1-2 dias depois de ser obtida a amostra. É mais usada em ruminantes e em cavalos do que em cães e gatos.

### **Tripsina**

A tripsina é sintetizada pelas células acinares do pâncreas, sob a forma de uma pró-

enzima inativada, denominada tripsinogênio, a qual é secretada no duodeno através do suco pancreático. No trato gastrointestinal, o tripsinogênio é convertido pela enteroquinase em tripsina, enzima que participa da proteólise de proteínas e peptídeos produzindo aminoácidos. No plasma, fatores antitripsina estão presentes para proteger as proteínas plasmáticas da hidrólise pela tripsina e sua entrada na circulação vascular. Ela pode estar na forma de tripsina, tripsinogênio ou do complexo antitripsina. Um tipo de imunoenensaio específico é capaz de detectar as três formas de tripsina, e é chamado de TLI (trypsin-like immunoreactivity ou imunorreatividade semelhante à tripsina). A técnica é mais utilizada em cães, dosando no plasma com jejum de doze horas. Uma concentração plasmática baixa de TLI ( $< 2,3 \mu\text{g/l}$ ), está relacionada com insuficiência pancreática exócrina. Níveis elevados de TLI ( $> 100 \mu\text{g/l}$ ) são observados em casos de pancreatite aguda.

### **Outras enzimas**

Algumas outras enzimas podem ser utilizadas na medicina veterinária. No entanto, devido aos custos elevados, dificuldade de realizar os testes ou à baixa especificidade que oferecem, acabam substituídas por outras enzimas. É o caso da aldolase, enzima que tem uma boa especificidade por lesões no fígado e nos músculos esquelético e cardíaco. A sua atividade sérica pode estar aumentada em hepatites virais, tumores hepáticos, infarto do miocárdio e lesões dos músculos esqueléticos. A dificuldade de realizar o ensaio de determinação da atividade da aldolase, faz com que seja substituída por outros testes mais fáceis e rápidos, como a AST, ALT, CK e LDH.

A piruvato quinase (PK) pode ser utilizada para avaliar lesões musculares. A enzima pode auxiliar na identificação de suínos homocigotos para hipertermia maligna.

A transcetolase é uma enzima intra-eritrocitária que pode estar aumentada em casos de necrose cerebrocortical ou na acidose láctica nos bovinos.

## **INDICADORES DA FUNÇÃO HEPÁTICA**

Na avaliação da função hepática devem ser considerados dois tipos de indicadores sanguíneos que podem estar alterados: as enzimas hepáticas, que podem estar aumentadas por processos de inflamação ou injúria e os metabólitos sintetizados nesse órgão, que podem estar diminuídos. Uma exceção a este caso é o aumento que pode ocorrer na amônia por conta de sua falta de metabolização em uréia. Na Tabela 3 constam os principais indicadores sanguíneos da função hepática.

Tabela 3. Indicadores sanguíneos do funcionamento hepático.

| <b>Metabólito</b>                | <b>Comentário</b>   |
|----------------------------------|---|
| Alanina aminotransferase (ALT)   | Enzima específica para diagnóstico de insuficiência hepática em pequenos animais.   |
| Aspartato aminotransferase (AST) | O aumento desta enzima no plasma indica insuficiência hepática aguda em diversas espécies; não é muito específica, pois pode indicar também problemas musculares, entre outros; mais usada em grandes animais.  |
| Fosfatase alcalina (FA)          | Enzima pouco específica; sua atividade está aumentada principalmente em casos de obstrução biliar.  |
| Gama-glutamil transferase (GGT)  | Seu aumento no plasma é indicativo de insuficiência hepática crônica (tumor, colestase).  |
| Sorbitol desidrogenase (SDH)     | Enzima específica para o diagnóstico de insuficiência hepática em eqüinos e ruminantes.   |
| Bilirrubina total                | Seus níveis estão aumentados no plasma quando ocorre redução da função hepatocelular ou obstrução do trato biliar.  |
| Amônia                           | Seus níveis estão aumentados no sangue devido à incapacidade do fígado de transformá-la em uréia, no caso de insuficiência hepática grave e desvios porto sistêmicos.   |
| Uréia                            | Em caso de insuficiência hepática, seus níveis estão diminuídos devido à incapacidade de síntese a partir de amônia.  |
| Albumina                         | O fígado lesado não consegue sintetizar a albumina necessária para manter o equilíbrio osmótico do plasma ocorrendo hipoalbuminemia que pode levar a edema ou ascite.   |
| Glicose                          | Com lesão do fígado haverá diminuição da glicemia devido à redução das reservas de glicogênio e a incapacidade do fígado de efetuar a gliconeogênese adequadamente.   |
| Colesterol                       | Freqüentemente se encontra aumentado em doenças hepáticas, sendo um achado acidental não específico. Entretanto, é comum observar diminuição do colesterol sanguíneo em insuficiência hepática, devido à incapacidade de síntese por parte do fígado. |
| Ácidos biliares                  | Em lesão do fígado pode ocorrer aumento de seus níveis em decorrência da redução da extração de ácidos biliares do sangue pelas células hepáticas. Também pode haver aumento em casos de obstrução biliar.  |

## **ANÁLISES PARA MONITORAR A FUNÇÃO RENAL**

Na avaliação da função renal é necessário considerar que a função do rim compreende processos de excreção e de reabsorção. Dessa forma, é recomendável revisar a fisiologia deste órgão. Os principais indicadores sanguíneos da função renal constam na Tabela 4.

### **Uréia e creatinina plasmáticas**

A uréia é sintetizada no fígado a partir da amônia derivada do catabolismo protéico. É excretada por via renal, sendo filtrada no glomérulo e parcialmente reabsorvida de forma passiva nos túbulos. A reabsorção de uréia no túbulo está relacionada de forma inversa com o fluxo de urina. Assim, em condições de alto fluxo, cerca de 40% da uréia da urina se reabsorve,

enquanto que em casos de pouco fluxo de urina (desidratação e outros problemas pré-renais ou pós-renais) pode reabsorver até 70% de uréia.

Em ruminantes e eqüídeos, a uréia pode ser excretada por via gastrointestinal, de forma que nestas espécies, valores normais ou não muito elevados de uréia podem ser achados em casos de insuficiência renal. Nos ruminantes cobra especial importância no metabolismo nitrogenado, a reciclagem de uréia que pode acontecer por via salival, para servir de fonte de nitrogênio às bactérias ruminais.

Tabela 4. Indicadores sanguíneos do funcionamento renal.

| <b>Metabólito</b>   | <b>Comentário</b>   |
|---|---|
| Albumina  | É a principal fração protéica que se perde nos rins em casos de glomerulonefrites e doenças glomerulares primárias, levando a hipoalbuminemia.  |
| Uréia   | Este metabólito é excretado quase que totalmente pelo rim; altos níveis no plasma podem estar relacionados com filtração renal insuficiente.  |
| Creatinina  | Metabólito mais específico de diagnóstico de função renal alterada. É excretado pelos rins e, por isso, altos níveis plasmáticos indicam deficiente função renal.                       |
| Relação Albumina/Globulinas                               | Em doenças glomerulares ocorre diminuição da relação A/G por perda de albumina nos rins.  |
| Cálcio  | No hiperparatireoidismo secundário de origem renal pode ocorrer hipocalcemia.   |
| Potássio  | Altos níveis no plasma são encontrados em problemas da função glomerular; níveis baixos no plasma estão associados com problemas nos túbulos renais ou na nefrite intersticial crônica. |
| Fósforo   | Seus níveis séricos estão aumentados quando há insuficiente filtração renal, o que pode levar a um hiperparatireoidismo secundário de origem renal.                                     |
| Fibrinogênio  | Seu aumento está relacionado com amiloidose renal.  |
| Fosfatase alcalina (FA) e gama glutamil transferase (GGT) | A isoforma renal da FA não está presente no plasma; quando há dano renal, a FA aparece na urina junto com a GGT.  |

A uréia sanguínea pode ser expressada como uréia propriamente ou como BUN (nitrogênio uréico sanguíneo). Para converter BUN a uréia, em mg/dL, o fator de multiplicação é 2,14. A creatinina se forma endogenamente a partir da conversão da creatina, composto que armazena energia no músculo (fosfocreatina). A síntese de creatinina ocorre de forma constante, influenciada sobretudo pela massa muscular. Treinamentos prolongados, doenças musculares ou emagrecimento pronunciado podem afetar os valores de creatinina. Diferentemente da uréia, o teor de creatinina não é afetado pelo aumento do catabolismo das proteínas tisulares ou pela dieta. A creatinina é filtrada pelo glomérulo e não se reabsorve no túbulo, pelo qual se considera como melhor marcador da filtração glomerular que a uréia.

### **Aumentos por causas pré-renais**

O aumento de compostos nitrogenados (uréia e creatinina) no sangue é chamado de azotemia, e pode ser pré-renal, renal e pós-renal.

Azotemia pré-renal pode ser ocasionada pelas causas seguintes:

(a) Aumento do catabolismo protéico devido a:



- hemorragia gastrointestinal que provoca absorção de proteínas do sangue;
- dieta alta em proteínas: causam aumentos pouco significativos de uréia em animais sadios, mas podem provocar grande aumento em animais com doença renal oculta;
- infecção e febre;
- exercício prolongado;
- uso de glicocorticóides;
- hipertireoidismo

(b) Diminuição da perfusão renal: há filtração glomerular reduzida, porém aumento da reabsorção de uréia. As principais causas são:

- hipovolemia por desidratação: vômito, diarreia, processos que cursam com poliúria como diabetes mellitus ou hipoadrenocorticismo;
- doença cardiovascular.

Em geral, nas causas de azotemia pré-renal, aumenta menos a creatinina e mais a uréia.

### **Aumentos por causas renais e pós-renais**

São produzidas em casos de insuficiência renal aguda ou crônica, quando cerca de 75% da taxa de filtração glomerular está comprometida. Pode ser associada com queda da densidade da urina, embora em gatos pode encontrar-se densidade normal.

A razão para que não haja azotemia com alterações iniciais dos néfrons, é porque em qualquer dano renal com perda de néfrons funcionais, ocorre hipertrofia compensatória e aumento da função do resto de néfrons não afetados. Quando se atinge 75% dos néfrons afetados, pequenos danos adicionais e queda da filtração glomerular causam aumentos exponenciais de uréia e creatinina. Portanto, a principal limitação da dosagem de uréia e creatinina é que não pode detectar danos renais leves, sendo que apenas detectam falha renal demasiado tarde.

Azotemia renal pode ser causada por nefrite, amiloidose, necrose tubular, neoplasias e, enfim, qualquer causa que afete a função do rim.

Azotemia pós-renal pode ser por causas obstrutivas que impedem o fluxo normal da urina e que se associam a sinais clínicos de oligúria e anúria.

Os aumentos causados por fatores renais e pós-renais podem ser diferenciados das causas pré-renais (Tabela 5). Em causas renais, os aumentos de uréia e creatinina são maiores, enquanto que a densidade específica é baixa. Alguns autores indicam as seguintes densidades na urina para suspeitar de insuficiência renal:

- <1,025 em bovinos e eqüinos
- <1,030 no cão
- <1,035 no gato

A creatinina, comparada com a uréia, não se afeta pela dieta nem o catabolismo protéico e

aumenta pouco em casos de desidratação ou falha cardíaca, a não ser em casos severos. Entretanto, aumenta de forma mais significativa e rápida em casos de insuficiência renal e responde antes que a uréia ao tratamento. Portanto, a creatinina é melhor indicador da função renal e do prognóstico em casos de insuficiência renal que a uréia.

Tabela 5. Diferenças analíticas entre as principais causas de azotemia pré-renal e renal.

| Causa da azotemia         | Uréia                          | Creatinina  | Densidade                |
|---------------------------|--------------------------------|---|--------------------------|
| Catabolismo protéico      | Levemente elevada (<100 mg/dL) | Não aumenta   | Normal                   |
| Falta de irrigação ao rim | Pode chegar a >100 mg/dL       | Só aumenta em casos graves (indicaria início de IR) | Aumentada (desidratação) |
| Insuficiência renal       | Muito elevada (>180-200 mg/dL) | Aumenta sempre de forma significativa               | Diminuída (isostenúria)  |

### Queda de uréia e creatinina

Diminuição de uréia ocorre em casos de insuficiência hepática, quando diminui sua síntese. Também está associada a dietas baixas em proteína.

Diminuição de creatinina pode ser vista em casos de caquexia com perda da massa muscular.

### Estimação da taxa de filtração glomerular (TFG) com provas de *clearance* ou depuração renal

Estas provas estão baseadas na administração intravenosa de compostos que apenas se excretam pelo rim e que não se reabsorvem pelos túbulos nem se metabolizam em nenhum tecido. Entre outros compostos, se utiliza creatinina e inulina (polímero de fructose). Em caso de insuficiência renal, esses compostos têm maior persistência no sangue ao realizar uma cinética de excreção. Atualmente, devido ao tempo e esforço que requerem, não aportam vantagens suficientes do ponto de vista diagnóstico, de forma que apenas são usados em pesquisa.

### Outros indicadores alterados na insuficiência renal.

#### Cálcio e fósforo

Em pequenos animais, a insuficiência renal produz uma queda na excreção de fósforo pelo rim e, portanto, uma hiperfosfatemia. Persistindo o processo, o fósforo causa diminuição do cálcio circulante devido à formação de complexos de ambos minerais que se depositam nos tecidos e diminuição da relação Ca/P, o que leva a hiperparatireoidismo secundário. Este evento é uma tentativa para aumentar os níveis de cálcio a partir de sua mobilização em nível ósseo e aumentar a excreção de fósforo em nível renal. Como o rim não está funcional, o fósforo não se excreta e o processo se agrava cada vez mais. Assim, um sinal de insuficiência renal crônica em pequenos animais é aumento de fósforo com cálcio normal ou diminuído, além de fragilidade óssea.

Em bovinos, pode apresentar-se baixa concentração de cálcio nesses casos, porém sem hiperfosfatemia, uma vez que o rim não é o órgão principal de excreção de fósforo. Em cavalos, pode haver hipercalcemia, sobretudo em animais alimentados com dietas ricas em cálcio, porque o rim é o órgão fundamental na excreção de cálcio nesta espécie, estando o fósforo normal ou baixo.

### **Potássio**

O rim, de forma normal, excreta ácidos ( $H^+$ ) e reabsorve bicarbonato ( $HCO_3^-$ ). Em caso de insuficiência renal, o rim não é capaz de cumprir esta função e, portanto, há um acúmulo de ácidos no sangue provocando acidose metabólica.

O potássio sofre troca com o hidrogênio em nível celular na tentativa de compensar a acidose, de forma que aparecem níveis elevados de potássio no sangue (hipercalcemia) na insuficiência renal. A dosagem sérica de K nesses casos é indicadora da severidade da acidose. Entretanto, os bovinos podem apresentar um equilíbrio ácido-básico normal ou inclusive uma alcalose metabólica devido à atonia ruminal secundária que se produz e que causa seqüestro de ácidos.

### **Anemia**

Na insuficiência renal crônica é característico o aparecimento de anemia não regenerativa com ausência de reticulócitos, não muito severa, que se desenvolve pela falta de síntese de eritropoietina renal. Tanto a anemia como o hiperparatireoidismo secundário renal são considerados melhores indicadores para diferenciar insuficiência renal crônica de aguda que os sintomas clínicos de oligúria (na insuficiência renal aguda) e poliúria (na insuficiência renal crônica), uma vez que podem ser observados com freqüência casos de poliúria na insuficiência renal aguda.

## **INDICADORES DA FUNÇÃO PANCREÁTICA EXÓCRINA**

A função principal do pâncreas exócrino é produzir e secretar enzimas digestivas que degradam proteínas, lipídeos e polissacarídeos, facilitando a absorção de nutrientes, vitaminas e minerais. As enzimas, com exceção da lipase e da amilase, são armazenadas e secretadas na forma inativa (zimogênios), evitando assim a autodigestão do pâncreas. A ativação dos zimogênios ocorre depois que eles são secretados no intestino delgado, onde a enteropeptidase, enzima sintetizada pela mucosa duodenal, ativa o tripsinogênio, que transformado em tripsina ativará os outros zimogênios. O pâncreas secreta também bicarbonato, que contribui para a neutralização do ácido gástrico no duodeno. Na Tabela 6 constam os principais indicadores da função pancreática exócrina.

Distúrbios pancreáticos exócrinos podem ser causados por inflamação da glândula

(pancreatite aguda ou crônica) ou por produção e secreção reduzidas de enzimas digestivas (insuficiência pancreática exócrina).

### **Pancreatite**

O processo inflamatório do pâncreas resulta na perda de enzimas no interstício pancreático e cavidade abdominal. As enzimas atingem a corrente sanguínea, o que é evidenciado pelo seu aumento no soro. Em herbívoros a pancreatite não é descrita. A etiologia pode ser de origem desconhecida (idiopática), ou causada por traumatismo, obesidade, dieta rica em gordura, infecção, lipidose hepática, fármacos e isquemia.

### **Lipase e amilase**

A lipase e a amilase são as duas enzimas que são mensuradas com maior frequência como marcadores da pancreatite aguda. A amilase em geral está muito elevada no início do processo patológico, e a lipase aumenta mais vagarosamente, mas permanece elevada por mais tempo. O enfoque laboratorial da pancreatite se aplica ao cão. Em gatos, o exame é controverso, podendo apresentar lipase normal ou aumentada, e amilase normal. A maioria dos autores afirma que em gatos, nenhuma das enzimas plasmáticas utilizadas é confiável para avaliar a presença de pancreatite, indicando-se para esta espécie outros exames diagnósticos, como o ultra-som.

Outras causas do aumento da lipase e da amilase incluem insuficiência renal, doença gastrintestinal, doença hepática e neoplasia. No entanto, as elevações não-pancreáticas geralmente não excedem 2 a 3 vezes o limite superior do valor de referência normal. Corticosteróides causam aumento considerável da lipase (de até 5 vezes), mas não da amilase.

### **Tripsina imunorreativa (imunorreatividade tripsinóide, imunorreatividade semelhante à tripsina)**

O teste de tripsina imunorreativa mede a tripsina e o tripsinogênio plasmáticos. Como o tripsinogênio só é sintetizado pelo pâncreas e convertido a tripsina no intestino delgado, os níveis de tripsina imunorreativa bastante elevados são indicativos de pancreatite. Este teste ainda não é utilizado rotineiramente no Brasil, pois é espécie-específico necessitando de kits para as espécies animais. Animais com insuficiência pancreática exócrina apresentam níveis reduzidos, devido a pouca ou nenhuma produção de tripsinogênio e tripsina.

### **Outros indicadores alterados na pancreatite**

Outras anormalidades laboratoriais que podem estar associadas à pancreatite incluem leucocitose e neutrofilia, hiperlipidemia, hiperglicemia, aumento das enzimas hepáticas e hiberbilirrubinemia (mais comum em gatos, por lesão hepática secundária).

## **Indicadores na insuficiência pancreática exócrina**

A insuficiência pancreática exócrina ocorre devido à perda de mais de 85% da capacidade acinar do pâncreas de secretar enzimas digestivas, levando a uma falha na absorção adequada de nutrientes. É caracterizada por função digestiva inadequada, isto é, por má digestão. Assim como na pancreatite, o enfoque laboratorial da insuficiência pancreática exócrina se aplica quase que exclusivamente ao cão, sendo extremamente rara em gatos. A insuficiência pancreática exócrina não tem sido relatada em herbívoros. As causas da insuficiência pancreática podem ser idiopáticas ou hereditárias, sendo esta última mais comum no caso da raça Pastor Alemão.

### *Teste de desafio com triglicerídeos*

Nesta prova, os triglicerídeos são mensurados no plasma antes e após a administração de óleo de milho. No animal saudável ocorrerá um aumento de duas a três vezes o valor basal, e no animal com insuficiência pancreática exócrina o valor será igual ao basal, devido à falta de absorção intestinal.

### *Outros indicadores alterados na insuficiência pancreática exócrina*

Geralmente estão dentro dos valores normais o hemograma, a urinálise e os exames bioquímicos. Pode ocorrer hipoalbuminemia nos casos graves e de longa duração, tempo de protrombina prolongado devido a deficiência de vitamina K (por baixa absorção) e hipocalcemia caso a albumina estiver diminuída. A microscopia fecal pode auxiliar no diagnóstico, sendo observada gordura excessiva nas fezes (esteatorréia) e amido não digerido nas fezes (amilorréia), porém estes testes não são exclusivos da insuficiência pancreática exócrina, apresentando sensibilidade e especificidade baixas. Dosagens de amilase e lipase séricas não são úteis em casos de insuficiência pancreática.

Tabela 6. Indicadores do funcionamento pancreático.

| <b>Metabólito</b>     | <b>Comentário</b>   |
|-----------------------|---|
| Amilase               | Níveis extremamente elevados são encontrados no estágio inicial de uma pancreatite aguda; níveis baixos estão relacionados com insuficiência pancreática exócrina.      |
| Lipase                | É considerada a melhor enzima para o diagnóstico de pancreatite por ser menos afetada por outros fatores que a amilase e por se manter elevada por longo período.       |
| Tripsina imunoreativa | Seus níveis aumentam na disfunção do pâncreas. Existem limitações técnicas para sua determinação em veterinária   |
| Cálcio                | A hipocalcemia é freqüente achado na pancreatite aguda devido ao aumento de ácidos graxos, por ação da lipase, que se combinam com o Ca tornando-o insolúvel no plasma. |
| Colesterol            | Seus níveis estão aumentados na disfunção pancreática devido à elevação das lipoproteínas de alta e baixa densidade no plasma.  |
| Triglicérides         | Podem diminuir no plasma na insuficiência pancreática devido à pouca liberação de lipase pelo pâncreas.   |
| Glicose               | Pode estar com níveis aumentados na pancreatite por aumento da secreção de glucagon.  |
| Albumina              | Níveis diminuídos no plasma em casos avançados de insuficiência pancreática por falhas na absorção de aminoácidos.  |

## INDICADORES DE AVALIAÇÃO DO EXERCÍCIO E DE DANO MUSCULAR

No exercício, o organismo sofre uma série de respostas metabólicas:

- (1) aumento da capacidade de oxigenação do sangue mediante aumento da freqüência respiratória e contração esplênica que leva a aumentar o número de eritrócitos no sangue (aumento de hematócrito e de hemoglobina);
- (2) aumento da produção de ácido láctico quando o metabolismo passa de aeróbico a anaeróbico; o ácido láctico, por sua vez, pode afetar a permeabilidade das membranas celulares, especialmente das células musculares e algumas enzimas podem vazar para o sangue, principalmente creatina quinase;
- (3) desidratação, devido à perda de água no suor e na respiração;
- (4) mudanças no equilíbrio ácido-básico, processo no qual intervêm dois fatores:
  - (a) hiperventilação que causa uma queda da concentração de CO<sub>2</sub> e tendência a alcalose;
  - (b) aumento de ácido láctico com tendência a acidose. As mudanças no equilíbrio vão depender da duração e intensidade do exercício e da adaptação do animal. Um animal melhor treinado tem menor aumento de ácido láctico e maior capacidade de oxigenação.

O uso do perfil metabólico para avaliar a adaptação ao exercício deve incluir a standardização de valores referenciais para a raça, o sexo e a idade dos animais. Os melhores indicadores de adaptação ao exercício são o ácido láctico e as enzimas CK, AST e LDH (Tabela 7). Em geral, animais mais bem adaptados tem menores aumentos de ácido láctico e de enzimas e retorno mais rápido aos valores basais após corridas ou exercícios fortes.

Em exercícios de longa duração acentua-se o risco de desidratação, a qual é mais bem

indicada pela concentração de proteínas totais do que pelo hematócrito, o qual pode aumentar pela contração esplênica, além da desidratação. Também em corridas longas pode ocorrer aumento do potássio por dano nas células musculares, diminuição do cloro por perda no suor, aumento de ácidos graxos livres e diminuição da glicose por gasto energético e aumento do fósforo por defosforilação de compostos energéticos. Além disso, como o exercício aumenta a peroxidação das membranas celulares, a demanda de vitamina E/selênio aumenta, tornando-se metabólitos que podem limitar o performance do exercício. O transporte prolongado causa as mesmas mudanças metabólicas que o exercício exagerado.

## INDICADORES DE TRANSTORNOS ÓSSEOS

### Fosfatase alcalina

A isoenzima óssea da fosfatase alcalina está presente em altas concentrações nos osteoblastos. Infelizmente, não estão disponíveis testes na rotina que diferenciem as isoenzimas (óssea, intestinal, hepática, induzida por esteróides), devendo a fosfatase alcalina ser interpretada em conjunto com outros testes e quadro clínico. O aumento da atividade osteoblástica, ou seja, deposição de tecido ósseo novo produzirá um aumento dos níveis plasmáticos da fosfatase alcalina, sendo normal em animais jovens (em crescimento). A elevação desta enzima ocorre também nas fraturas em processo de consolidação, doenças como osteossarcoma e osteíte, e em casos de reabsorção óssea ativa, como por exemplo raquitismo, osteomalácia e hiperparatireoidismo.

Tabela 7. Indicadores de avaliação do exercício e do tecido muscular.

| Metabólito                       | Comentário  |
|----------------------------------|---|
| Creatina quinase (CK)            | É a enzima mais específica para diagnóstico de dano muscular. Níveis extremamente altos no plasma são observados logo após uma lesão muscular.                            |
| Aspartato aminotransferase (AST) | Aumenta concomitantemente com a CPK quando ocorrem danos musculares.  |
| Lactato desidrogenase (LDH)      | Enzima menos específica que fica com níveis elevados vários dias após a lesão muscular.   |
| Mioglobina                       | Dano muscular pode resultar em mioglobinemia. Quando a concentração no plasma excede a 20 mg/dl, a mioglobina começa a aparecer na urina (mioglobinúria).                 |
| Creatinina                       | Pode estar aumentada em transtornos que aumentem o catabolismo muscular devido à liberação de creatina, composto precursor de creatinina.                                 |
| Piruvato quinase (PK)            | Enzima que pode estar moderadamente aumentada quando ocorre dano muscular.  |
| Cálcio                           | Hipocalcemia pode estar associada com tetania em cadelas, no período de gestação ou lactação ou com paralisia muscular após o parto em vacas leiteiras.                   |
| Fósforo                          | Em períodos prolongados de paralisia muscular, pode ocorrer hipofosfatemia.   |
| Magnésio                         | Hipomagnesemia está associada a tetanias hipocalcêmicas em cadelas, principalmente.   |
| Selênio (GSH-Px)                 | A deficiência crônica de Se está associada a distrofia muscular. O diagnóstico pode ser feito mediante dosagem da enzima glutation peroxidase nos eritrócitos.            |
| Potássio                         | Pode ocorrer hipercalemia na degeneração ou necrose muscular por liberação do K intracelular. Hipocalcemia ocorre associada a períodos prolongados de paralisia muscular. |

## **Cálcio**

Os níveis de cálcio são regulados primariamente por três hormônios: paratormônio (PTH), calcitonina e vitamina D<sub>3</sub>. O PTH, secretado pelas paratireóides, mobiliza o cálcio das reservas esqueléticas para o fluido extracelular, ou seja, eleva a concentração sérica do cálcio e reduz a do fósforo (por inibição da reabsorção renal). Portanto, a secreção do paratormônio é estimulada por hipocalcemia. O PTH estimula a desmineralização óssea para aumentar os níveis de cálcio circulante. O 1,25 di-hidroxicolecalciferol (calcitriol), metabólito ativo da vitamina D, tem como função aumentar a absorção de cálcio e fósforo pela mucosa intestinal e facilitar a ação do PTH nos ossos (“efeito permissivo”), mantendo desta forma níveis suficientes destes eletrólitos no fluido extracelular para permitir mineralização adequada da matriz óssea. A calcitonina, secretada pelas células C da tireóide, possui ação oposta ao PTH. Inibe a liberação de cálcio e fósforo dos ossos, ou seja, reduz a concentração sérica do cálcio e do fósforo. A calcitonina aumenta a excreção renal de fósforo e inibe a ação do PTH.

## **Fósforo**

O metabolismo do fósforo é regulado através da interação com o cálcio e pela ação do PTH, calcitonina e calcitriol. O aumento do fósforo plasmático pode resultar em uma diminuição recíproca de cálcio no plasma. O PTH promove aumento da excreção urinária de fósforo assim como inibe sua absorção no túbulo renal proximal, o que auxilia na manutenção da proporção do cálcio para o fósforo no plasma. Animais em crescimento tem um valor de fósforo plasmático maior que os adultos.

Como a excreção de fósforo depende de filtração glomerular e reabsorção tubular, a redução do fluxo sanguíneo renal e da taxa de filtração glomerular geralmente resultam em hiperfosfatemia. A hiperfosfatemia induz a hipocalcemia e hipocalcitriolemia, que por sua vez estimula a liberação de PTH. A hiperfosfatemia também pode ser por aumento da ingestão do fósforo na dieta. Na Tabela 8 constam os principais indicadores de lesões e transtornos ósseos.

## **Principais distúrbios relacionados com o cálcio**

O **hiperparatireoidismo primário** ocorre por secreção excessiva de PTH pela paratireóide. É raro em cães e gatos. Causa hipercalcemia, hipofosfatemia, e diminuição da densidade urinária. Se ocorrer insuficiência renal concomitante, pode haver aumento dos níveis de fósforo.

No **hiperparatireoidismo nutricional secundário (osteodistrofia fibrosa)** também ocorre reabsorção óssea excessiva, estimulada pelo PTH, na tentativa de corrigir o desequilíbrio causado por uma dieta rica em fosfato e pobre em cálcio e/ou vitamina D. Este quadro pode



resultar na chamada “mandíbula de borracha”. O cálcio sérico geralmente está dentro dos parâmetros de referência normais por causa das alterações compensatórias. Fosfatase alcalina e fosfato inorgânico podem estar aumentados (animais em crescimento já apresentam valores maiores que adultos normalmente).

No **hiperparatireoidismo secundário renal (osteodistrofia renal)**: ocorre reabsorção óssea excessiva e mineralização osteóide prejudicada. O hiperparatireoidismo resulta da excreção renal comprometida de fosfato e conseqüente hiperfosfatemia e redução da concentração sanguínea de cálcio, que aumenta a atividade da paratireóide e induz reabsorção óssea. Embora isso tenda a normalizar as concentrações sanguíneas de cálcio, o estado hiperparatireóideo é mantido pela hiperfosfatemia persistente.

O **hipoparatireoidismo** leva a uma hipocalcemia devido a deficiência de PTH, e geralmente é iatrogênico, causado pela retirada cirúrgica das paratireóides. Secundariamente ocorre hiperfosfatemia. O principal diagnóstico diferencial desta combinação de desequilíbrio eletrolítico é a insuficiência renal, porém pacientes com insuficiência renal estão azotêmicos.

**Raquitismo** (filhotes) / **osteomalácia** (adultos): ocorre principalmente quando há deficiência de vitamina D, mas também quando há insuficiência de cálcio e/ou fósforo para a mineralização do osteóide recém formado. As causas mais prováveis em cães e gatos são hipovitaminose D por deficiência dietética, erro inato no metabolismo, ou baixa quantidade de minerais na dieta. Cães e gatos não sintetizam colecalciferol (pré-vitamina D<sub>3</sub>) na pele exposta à luz ultravioleta e dependem principalmente do consumo alimentar para obter a vitamina. Em ruminantes ocorre por deficiência de fosfato na dieta, ou por falta de exposição ao sol. As anormalidades nos testes sanguíneos incluem baixos níveis de cálcio e fosfato inorgânico, aumento de fosfatase alcalina e PTH e baixo 25-hidroxicolecalciferol.

A **osteoporose** ocorre com maior freqüência em vacas de alta produção leiteira, devido ao baixo consumo de cálcio e gasto excessivo no leite, levando a desmineralização óssea.

**Tumores ósseos primários** podem resultar em hipercalcemia devido a destruição óssea pelas células neoplásicas, secreção do fator ativador de osteoclastos ou efeitos de prostaglandinas.

O **pseudohiperparatireoidismo** é causado por neoplasias malignas, não localizadas na paratireóide, capazes de produzir substâncias que causam osteólise e liberação maciça de cálcio dos ossos para o plasma. As neoplasias mais comumente envolvidas são o linfossarcoma e o adenocarcinoma de glândula perianal.

Tabela 8. Indicadores de lesões e transtornos ósseos.

| <b>Metabólito</b>       | <b>Comentário</b>  |
|-------------------------|--|
| Fosfatase alcalina (FA) | O aumento da atividade osteoblástica causa elevações na atividade plasmática desta enzima em cães e gatos. Doenças como hiperparatireoidismo e osteossarcoma, bem como processos de cicatrização óssea e de crescimento, envolvem maior atividade osteoblástica. |
| Cálcio                  | Hipercalcemia é comum em casos de osteoporose, tumores ósseos osteolíticos, hiperparatireodismo primário e pseudohiperparatireodismo.  |
| Fósforo                 | Está diminuído em casos hiperparatireodismo primário e pseudohiperparatireodismo e aumentado em casos de tumores ósseos osteolíticos, hipotireodismo e hiperparatireoidismo secundário.  |
| Relação Ca/P            | Sempre que a relação estiver alterada (normal é 2:1) é indício de uma predisposição a patologias ósseas.   |

### **Indicadores bioquímicos do status nutricional**

Embora de difícil aplicação, os perfis metabólicos podem ser usados para monitorar o estado nutricional em grupos de animais, principalmente em ruminantes (Tabela 9). Baixos valores sanguíneos de proteínas e especialmente de uréia revelam deficiência protéica na dieta, que pode causar diminuição do consumo e da produção de leite. Alto nível de uréia pode indicar excesso de consumo de proteínas ou deficiência de substratos energéticos e ocasionar baixa fertilidade. Baixos valores plasmáticos de albumina, uréia e hemoglobina revelam a necessidade de adicionar proteína na dieta. Valores de sódio plasmático diminuídos indicam baixos valores de sal na ração. Baixos valores de glicose e altos de corpos cetônicos no sangue indicam deficiência de energia na dieta. Uma revisão das aplicações do perfil metabólico na condição nutricional são encontradas em González et al. (2000a).

Tabela 9. Metabólitos sanguíneos indicadores do status nutricional.

| <b>Metabólito</b>    | <b>Comentário</b>  |
|----------------------|--|
| Uréia                | Dieta com altos teores de proteína causam aumento da uréia plasmática devido ao aumento do catabolismo protéico. Deficiência energética na dieta também aumenta o catabolismo protéico e aumenta o nível de uréia no plasma. Dieta com baixos teores de proteína pode causar diminuição dos níveis de uréia.   |
| Proteína total       | Deficiência protéica na alimentação tende a causar hipoproteïnemia.  |
| Albumina             | Dietas com baixo teor de proteínas podem causar hipoalbuminemia devido à diminuição da síntese protéica no fígado.   |
| Triglicerídeos       | A produção de quilomícrons logo após uma refeição rica em gordura pode resultar em aumento temporário dos triglicerídeos plasmáticos. Jejum em animais obesos pode causar aumento dos triglicerídeos plasmáticos devido à mobilização das reservas de gordura.   |
| Colesterol           | Seus níveis aumentam após uma refeição rica em gordura (hiperlipidemia pós-prandial). Dietas com alto teor de gordura resultam em hipercolesterolemia. Jejum também pode causar aumento de colesterol no plasma devido à mobilização de gorduras de reserva. Dietas com baixo teor de gordura causam diminuição do colesterol plasmático.  |
| Glicose              | A glicemia aumenta logo após as refeições. A hipoglicemia só é problema nos animais recém-nascidos (principalmente em suínos) pois os adultos conseguem manter o nível de glicose constante mesmo durante períodos longos de inanição.   |
| Beta-hidroxibutirato | Seus níveis podem aumentar em ruminantes como consequência de severa deficiência energética, devido à mobilização de triglicerídeos de reserva e conversão dos ácidos graxos em corpos cetônicos. Em situações críticas, como início de lactação e altos níveis de produção, pode ocorrer cetoacidose.   |
| Sódio                | Altos teores de proteína na dieta podem causar aumento do sódio plasmático devido à diurese induzida pelos altos níveis de uréia.  |
| Potássio             | Animais cardíacos aos quais se prescreve uma dieta com baixos teores de sódio, podem apresentar hipercalemia devido a um desequilíbrio na troca iônica nos túbulos renais. Animais com anorexia que são mantidos com fluidoterapia sem suplementação de potássio, apresentam hipocalemia pois a excreção de potássio continua normalmente.   |
| Cálcio               | O aumento relativo de albumina (desidratação), principal proteína transportadora de cálcio no plasma ou a suplementação com excesso de cálcio provocam hipercalcemia. A hipoalbuminemia ou uma dieta deficiente de cálcio são responsáveis por baixos níveis de cálcio plasmático. Hipocalcemia pode ocorrer em desbalanços Ca/P na alimentação, principalmente em animais jovens. |
| Fósforo              | Dietas compostas exclusivamente a base de carne e vísceras podem causar hiperfosfatemia devido a desbalanço na relação Ca/P.   |

### **Perfil bioquímico no crescimento**

O crescimento é um processo multifatorial que envolve muitas possíveis limitações. A multiplicação das células demanda de muitos metabólitos e a limitação de um deles pode diminuir ou ainda deter o processo integral de crescimento.

Mediante o uso do perfil metabólico podem ser detectadas anormalidades metabólicas limitantes, embora não exista um indicador específico que detecte uma possível superioridade de um animal para o crescimento. O uso do perfil metabólico para avaliar o crescimento exige levar em consideração o manejo e o tipo de alimentação.

Os animais possuem uma marcada individualidade para o crescimento e essa diferença pode ser devida simplesmente ao apetite. Se o animal come mais, tem melhor crescimento. Assim, a avaliação da habilidade para crescer pode ser medida pelo consumo de alimento. Entretanto, alguns indicadores químicos podem estar relacionados com o crescimento.

Os tecidos em crescimento demandam de proteína e energia adicionais. A deficiência

desses nutrientes causará falhas no crescimento. Encontram-se correlações positivas entre a concentração de glicose sanguínea e a taxa de crescimento. Aqueles animais que conseguem manter níveis de glicose normais, apesar de limitações de energia na dieta seriam superiores fisiologicamente àqueles com menor glicemia nas mesmas condições.

A deficiência de sódio e eventualmente a hiponatremia podem causar falhas digestivas e indiretamente diminuição do apetite. O cobalto, ligado à produção de eritrócitos e o ferro, ligado à produção de hemoglobina, podem afetar indiretamente o crescimento quando ocorrem deficiências desses minerais, especialmente em bezerros e leitões, pois a anemia está vinculada a baixo crescimento. O zinco é um elemento cuja deficiência mostra tipicamente falhas no crescimento. Já o cobre parece não afetar a taxa de crescimento.

Por enquanto não existem indicadores químicos do sangue que possam ser utilizados para selecionar animais geneticamente superiores em termos de crescimento, embora exista alta herdabilidade das concentrações de alguns metabólitos, especialmente hemoglobina, glicose e potássio, todos eles relacionados com a taxa de crescimento. Os fatores que intervêm no crescimento são tão múltiplos que o resultado supera a herdabilidade de uns poucos metabólitos.

### **Perfil bioquímico na avaliação da fertilidade**

O problema da infertilidade é multifatorial, muitas vezes em relação com o manejo e a alimentação. Entretanto, o perfil metabólico como ferramenta para detectar anormalidades na química sanguínea pode relacionar problemas metabólicos com infertilidade.

Os principais problemas que causam baixa fertilidade nos rebanhos são falhas na detecção de estros e na inseminação no momento certo. O perfil metabólico tem pouco a oferecer com relação a esses problemas. Entretanto, mediante a análise de progesterona no leite é possível saber se o tempo de inseminação foi correto e pode diagnosticar de forma precoce a gestação. Amostras no dia da inseminação e 21-23 dias após revelam se a inseminação foi feita no dia apropriado, quando haverá baixos níveis de progesterona ou se o animal está gestante aos 21-23 dias, quando há altos níveis de progesterona.

Vários metabólitos tem sido estudados em relação com a fertilidade. Entre os mais estudados estão a glicose e a albumina. Com relação a glicose os resultados são inconsistentes. As vezes se relaciona a hipoglicemia com infertilidade, às vezes não se encontra relação. Baixos níveis de glicose sanguíneo tem sido indicados como causa de fertilidade reduzida, especialmente em vacas no pós-parto. A hipoglicemia também tem sido responsabilizada por causar anestro, falhas na ovulação e diminuição da taxa de gestação. Sugere-se que exista um nível de glicose abaixo do qual a fertilidade é inibida. De qualquer forma, como nos ruminantes a síntese de glicose depende de um adequado funcionamento hepático, o mais racional deve ser avaliar o fígado mediante os principais indicadores de sua função, conjuntamente com a glicose.

No caso da albumina sabe-se que fisiologicamente seu nível no sangue pode diminuir

após o parto, devendo recuperar-se gradativamente durante o pós-parto. A capacidade dessa recuperação está diretamente relacionada com a reativação ovariana e o potencial de produção leiteira nesse período. A fertilidade na vaca diminui se a concentração de albumina estiver abaixo de 32 g/l. Aquelas vacas que tendem a manter os níveis de albumina mais estáveis, têm tendência a serem mais férteis. De qualquer forma, volta-se ao fígado. A lenta recuperação dos níveis de albumina após a queda no parto pode estar relacionada com problemas no funcionamento hepático que diminuem a síntese de albumina e outras proteínas. Por outra parte, vacas com níveis elevados de globulinas geralmente requerem de maior número de serviços por concepção, o que pode estar relacionado com estados inflamatórios ou infecciosos.

Muitos trabalhos mencionam a influência negativa que uma inadequada nutrição pode causar sobre a fertilidade. Se o perfil metabólico é capaz de refletir o *status* nutricional do animal, pode ser usado para diagnosticar ou prevenir transtornos reprodutivos. O déficit energético, que às vezes podem levar a uma cetose, pode afetar também a função hepática devido à acumulação de corpos cetônicos e à excessiva mobilização de lipídeos que causa infiltração gordurosa no fígado.

Concentrações elevadas de fósforo, potássio, proteínas totais e uréia têm sido relacionadas com baixa fertilidade em rebanhos bovinos. O excesso de proteínas e de uréia podem causar problemas de sobrevivência embrionária, diminuindo portanto a taxa de concepção. O anestro em vacas tem sido relacionado com níveis inadequados de fósforo e de beta-carotenos na dieta. A deficiência de alguns oligoelementos tais como cobre, selênio e cobalto têm sido relacionados com infertilidade. Igualmente a diminuição dos níveis de Ca, Mg e Na tem sido apontada como causa de infertilidade.

### **Perfil bioquímico no diagnóstico e prognóstico de doenças**

A hipoglobulinemia em animais neonatos que receberam pouco colostro pode ser detectada mediante perfil metabólico, o que permite tomar providências para evitar complicações devidas ao aumento da suscetibilidade a sofrer infecções, especialmente diarreias por colibacilose. O estado hipoproteinêmico da mãe ao final da gestação é uma das causas do baixo nível de imunoglobulinas no colostro, e isto também pode ser detectado pelo perfil metabólico da mãe antes do parto.

Nos animais neonatos com problemas de baixas defesas observa-se, além da hipoglobulinemia, tendência a hipoglicemia, especialmente antes dos sintomas aparecerem.

A desidratação que ocorre durante um quadro de diarreia pode ser avaliada mediante o perfil metabólico. Um hematócrito acima de 55% indica grave comprometimento da vida do animal, uréia elevada (>100 mg/dl) é de mal prognóstico, a hipercalemia e a hiperfosfatemia devidas à saída de K e P das células danificadas podem indicar a iminência de um colapso.

Outras deficiências detectadas mediante o perfil metabólico podem ser tratadas em animais antes de ocorrerem os sintomas. A deficiência de Zn causa diminuição da competência imunológica, aumentando a probabilidade de infecções, especialmente em animais jovens. Em carneiros consumindo pastagens com menos de 100 ppm de Zn, observam-se níveis sanguíneos de Zn abaixo do limite inferior que pode causar predisposição a infecções e morte (6  $\mu$ moles/l). Deficiências causadoras de doenças graves em animais jovens e que podem ser detectadas mediante o perfil metabólico incluem também: deficiência de selênio/vitamina E mediante nível de glutathione peroxidase (GSHPx), deficiências de fósforo e de sódio e, mediante medição de tiroxina, deficiências de iodo.

Com relação à cetose das vacas leiteiras, a questão é: pode o perfil metabólico ser utilizado para prever o problema? Os eventos metabólicos mais importantes na cetose manifestam-se na hipoglicemia e na elevação dos corpos cetônicos, tanto no sangue quanto no leite e na urina. O nível de ácidos graxos livres também se eleva e o fígado pode sofrer alterações lipídicas. Uma informação importante para avaliar a evolução da doença são os níveis das enzimas hepato-específicas bem como o nível de albumina que decai com a diminuição da função hepática. Por outra parte, antes dos sintomas aparecerem, o nível dos corpos cetônicos, entre eles o mais importante, o BHB, aumentam. Os sinais clínicos podem ser observados quando o BHB ultrapassa 1,0 mM. Outro corpo cetônico, o acetoacetato, também é considerado como bom indicador. Concentrações de até 0,35 mmoles/l se consideram normais, níveis entre 0,36 e 1,05 mmoles/l são compatíveis com cetose subclínica e acima de 1,05 mmoles/l indicam doença clínica. A cetose clínica pode ser então previsível combinando os valores de corpos cetônicos e glicose. É possível também acompanhar a evolução da doença através dos níveis de corpos cetônicos no leite ou na urina. Considera-se que os níveis de corpos cetônicos no leite correspondem a 35-50% dos valores no sangue.

No caso da febre do leite, sendo uma doença de apresentação aguda, não existe teste sanguíneo que possa prever. Entretanto, mediante o perfil metabólico podem ser detectados fatores predisponentes da doença e, uma vez sofrida a doença, pode ser avaliado o prognóstico. Entre os fatores predisponentes à febre do leite, os desequilíbrios minerais podem ser avaliados mediante o perfil metabólico, especificamente a situação do Mg e da relação Ca:P.

A deficiência de Mg é a mais importante causa predisponente para a febre do leite. A maioria das vezes a hipomagnesemia não se apresenta clinicamente mas de forma crônica subclínica atacando as vacas logo após o parto. A incidência de hipomagnesemia aumenta nas épocas em que o pasto é fertilizado com K, pois esse mineral inibe a disponibilidade de Mg no animal. Também em épocas de produção de pastagem ou forragem de má qualidade como no inverno, os níveis de Mg caem perigosamente. Mediante o perfil metabólico pode se acompanhar o estado magnésêmico do rebanho a fim de manter níveis de segurança de 0,85 mmoles/l e suplementar quando for o caso.

O desequilíbrio da relação Ca:P se refere ao aumento da relação seja por deficiência de P ou por excesso de Ca. Uma relação Ca:P maior de 3,8:1 pode provocar inibição da secreção de hormônio paratireoideiano (PTH) e aumento da secreção de calcitonina. Assim, o efeito sobre o metabolismo de uma relação Ca:P alta é a diminuição da mobilização das reservas de Ca e o aumento da predisposição a sofrer febre do leite. Conhecendo o estado mineral mediante o perfil metabólico, podem ser tomadas as providências do caso antes do parto.

Nas vacas acometidas pela febre do leite, o perfil metabólico pode ajudar no prognóstico. Sabendo que o dano muscular é o principal responsável da falta de recuperação do febre do leite e é o fator que causa o *síndrome da vaca caída*, podem ser analisados os níveis das enzimas do músculo, principalmente AST e CK. Altos níveis enzimáticos revelam extenso dano muscular com poucas probabilidades de recuperação. A proporção de recuperação das vacas com febre do leite mediante uma única injeção intravenosa de borogliconato de cálcio é da ordem de 65%. A recuperação das demais vai depender da resposta metabólica e, principalmente, do dano muscular.

Outros fatores predisponentes a febre do leite, como estase alimentar, alcalose, raça, peso, produção de leite, não podem ser avaliados mediante o perfil metabólico.

Outros transtornos minerais que podem ser detectados mediante o perfil metabólico incluem a urolitíase e doenças ósseas. A formação de cálculos na urina depende de uma combinação de circunstâncias que envolvem desequilíbrios minerais devido à dieta, observáveis com o perfil metabólico apropriado. Nos ruminantes, que possuem uma urina normalmente alcalina, devido à presença de grandes quantidades de bicarbonato de K, o aumento de P ou Mg por causa de dietas ricas em cereais, provoca queda do pH na urina com precipitação e formação de cálculos. Os machos são propensos a sofrer mais devido a ter a uretra mais longa, estreita e convoluta. O perfil metabólico aparece com hiperfosfatemia e hipermagnesemia, com ou sem hipocalcemia. O tratamento consiste na adição de carbonato de Ca no alimento para inibir a absorção de P no intestino.

Entre as doenças ósseas, a osteoporose tem bastante incidência principalmente em vacas de alta produção, devido à desmineralização do osso quando se combinam a saída de altas quantidades de Ca no leite com deficiência de Ca na alimentação por um período relativamente prolongado. O teste sanguíneo para diagnosticar o problema pode incluir Ca, P, Mg e fosfatase alcalina no plasma e prolina na urina. A prolina é um aminoácido abundante na matriz óssea, que pode estar se excretando em excesso quando ocorre osteoporose. Dietas com excesso de P (cereais) podem causar hiperfosfatemia e hipocalcemia e levar a osteoporose. Os animais mais suscetíveis a sofrer osteoporose, além das vacas de alta produção, são as ovelhas e os cavalos.

A osteopetrose, causada por excesso de consumo de Ca, especialmente em cachorros e touros, leva a excessiva mineralização dos ossos causando engrossamento do osso e exostose. No perfil sanguíneo não se observa aumento de Ca, mas devido à secreção de calcitonina em

resposta aos níveis elevados de Ca, o que pode ser detectado no sangue é hipocalcemia e hipofosfatemia com baixa concentração de fosfatase alcalina. Maiores aplicações do perfil bioquímico sanguíneo, urinário e ruminal são revisadas em González et al.(2000b).

## **Bibliografia**

- ADAMS, R.S, STOUT, D.C., KRADEL, S.B. et al. Use and limitations of profiles in assessing health or nutritional status of dairy herds. **J. Dairy Sci.** v.61, p.1671. 1978.
- BUSH, B.M. Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais. São Paulo: Roca, 2004. 376p.
- COLLINS, J.D. Metabolic profiles tests for Dairy Cattle. **Irish Vet. J.** v.79, p.26-31. 1979
- CONTRERAS, P.A., VALENZUELA, L. et al. Desbalances metabólicos más frecuentes en rebaños de pequeños productores de leche, Valdivia-Chile. **Arch. Med. Vet.** v.28, p.39-50. 1996.
- COTE, J.F., HOFF, B. Interpretation of blood profiles in problem Dairy Herds. **The Bovine Practitioner**, v.26, p.7-11. 1991.
- ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária. Doenças do cão e do gato.** 5.ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 2156p.
- FAJARDO, H., VIAMONTE, M.I. Algunas alteraciones metabólicas asociadas a la infertilidad de los rumiantes. **Rev. Cub. Cienc. Vet.** v.23, p.33-44. 1992.
- FEITOSA, F. L. F.; BIRGEL, E. H. Variação da concentração de imunoglobulinas G e M, de proteína total e suas frações eletroforéticas e da atividade da gamaglutamiltransferase no soro sanguíneo de vacas holandesas, antes e após o parto. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** v.52, n.2, p.11-116. 2000.
- GALIMBERTI, A., BERTONI, G., CAPPÀ, V. La determinazione del profilo metabolico quale mezzo per evidenziare le cause alimentari di ipofertilità bovina. **Zoot. Nutriz. Anim.** v.3, p.237-245. 1977.
- GONZÁLEZ, F.H.D., BARCELLOS, J.O., OSPINA, H., RIBEIRO, L.A.O. (Eds.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais.** Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000a.
- GONZÁLEZ, F.H.D., BORGES, J.B., CECIM, M. (Eds.) **Uso de provas de campo e laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos.** Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000b.
- GONZALEZ, F.H.D., HAIDA, K., ZANELLA, R., FIGUR, K. Influência da época do ano no perfil metabólico em gado leiteiro no sul do Brasil. **Arq. Fac. Vet. UFRGS** v.24, p.11-24. 1996.
- INGRAHAM, R.H., KAP1EL, L.C. Metabolic profile testing. **Vet. Clin. N. Amer.: Food Anim. Pract.** v.4, p.391-411. 1988.
- KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (eds.) **Clinical biochemistry of domestic animals.** (5<sup>th</sup> ed.), New York, Academic Press, 1997. 932p.
- KERR, M.G. **Exames laboratoriais em medicina veterinária. bioquímica clínica e hematologia.** 2 ed. São Paulo: Roca, 2003. 436p.
- KOLVER, E.S., MCMILLAN, K.L. Variation in selected plasma constituents during the post-partum and breeding periods in dairy cows. **N.Z. Vet. J.** v.42, p.161-166. 1994.
- LATIMER, K.S., MAHAFFEY, E.A., PRASSE, K.W. **Duncan & Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology.** 4 ed. Iowa: Iowa State Press, 2003. 450p.
- MCDOWELL, L.R. **Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais enfatizando o Brasil.** Gainesville, University of Florida. 1999.
- MÉNDEZ, M. C., RIET-CORREA, F. Plantas que causam necrose muscular. In: RIET-CORREA, F. et al. (Ed.) **Doenças de Ruminantes e Eqüinos.** São Paulo: Varela, 2001. p.250-252.
- MEYER, D.J., COLES, E.H., RICH, L.J. Medicina de laboratório veterinária. Interpretação e diagnóstico. São Paulo: Roca, 1995. 308p.



- PAYNE, J.M., PAYNE, S. **The Metabolic Profile Test**. Oxford, Oxford University Press. 1987.
- PELLETIER, G., TREMBLAY, A.V., HELIE, P. Facteurs influençant le profil métabolique des vaches laitières. **Can Vet. J.** v.26, p.306-311. 1985
- SMYTHE, P.J. Metabolic profile tests, their uses and limitations. **J. Dept. Agric. Fish-Ireland** v.73, p.60-68. 1976.
- SOMMER, H. Preventive Medicine in Dairy Cows. **Vet. Med. Rev.** v.1, p.42-63. 1975.
- SYAKALIMA, M. et al. Separation and quantification of corticosteroid-induced, bone, and liver alkaline phosphatase isoenzymes in canine serum. **Journal of Veterinary Medicine** v. 44, 603-610, 1997.
- TADICH, N., GALLO, C.; ALVARADO, M. Efectos de 36 horas de transporte terrestre con y sin descanso sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en bovinos. **Archivos de Medicina Veterinaria** v.32, p.171-183, 2000.
- THRALL, M.A., BAKER, D.C., CAMPBELL, T.W. et al. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. 518 p.
- WITTWER, F., BÖHMWALD, H., CONTRERAS, P.A., FILOZA, J. Análisis de los resultados de perfiles metabólicos en rebaños lecheros en Chile. **Arch. Med. Vet.** v.19, p.35-45. 1987.
- WITTWER, F., HEUER, G., CONTRERAS, P.A., BÖHMWALD, T.M. Valores bioquímicos clínicos sanguíneos de vacas cursando con decúbito en el sur de Chile. **Arch. Med. Vet.** v.15, p.83-88. 1993a.
- WITTWER, F., REYES, J.M., OPITZ, H. et al. Determinación de úrea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. **Arch. Med. Vet.** v.25, p.165-172. 1993b.
- WYATT, K. M.; LABUC, R.; WYATT, G. L. Measurement of creatine kinase MB in canine cardiac patients. **Australian Veterinary Journal** v.76, n.12, 1998.

## 7. EQUILÍBRIO ÁCIDO-BÁSICO EM MEDICINA VETERINÁRIA

*Nádia Almosny*

### **Introdução**

A manutenção da vida animal requer uma série de reações químicas. Estas reações podem produzir substâncias acidificantes ou alcalinizantes. As reações enzimáticas mantêm o funcionamento do organismo e as enzimas são bastante sensíveis a variações de pH (assim como de temperatura). O sangue é usado como parâmetro para a avaliação do estado ácido-base dos animais, portanto, avaliamos o pH sanguíneo e extrapolamos este dado para os tecidos. Assim, se o pH do sangue é fisiológico, cada tecido também deverá estar em seu pH ideal.

O pH do sangue está próximo da neutralidade com leve tendência à alcalinidade (aproximadamente 7,4). As reações metabólicas, porém, tendem a desviar continuamente este pH para ácido ou básico. Para evitar que ocorram grandes variações séricas de pH, existem sistemas amortecedores plasmáticos, ou sistemas tamponantes. Os sistemas tamponantes são:

- proteínas plasmáticas
- hemoglobina
- sistema fosfato-ácido fosfórico
- sistema bicarbonato-ácido carbônico

### **Proteínas plasmáticas**

No meio intracelular é o tampão mais eficiente (o que não ocorre no plasma). O mecanismo de ação ocorre através dos aminoácidos, os quais podem associar ou dissociar  $H^+$  de acordo com a necessidade do sangue e assim, atuar na manutenção do pH fisiológico.

### **Hemoglobina**

Como proteína, ela mantém um grande número de grupos ácidos ou básicos. Podem existir também outros grupos tamponantes (grupo imidazol = histidina). Como transportadora de gases, ela aumenta ou diminui sua afinidade pelo gás carbônico, permitindo sua maior liberação (em caso de acidose) ou sua retenção (na alcalose). Grande parte do tamponamento na faixa fisiológica de pH ocorre devido às modificações dos grupos imidazol da histidina.

Os grupos tamponantes da hemoglobina estão associados com os átomos de ferro. Na oxihemoglobina, o oxigênio é transportado pelos átomos de ferro. Quando o oxigênio é removido, as modificações que ocorrem na estrutura eletrônica dos átomos de ferro influenciam o imidazol e os outros grupos tamponantes.

Modificações na dissociação do grupo imidazol relacionam a capacidade tampão da hemoglobina com a sua oxigenação e desoxigenação.

O aumento da acidez favorece a liberação de oxigênio, enquanto que sua redução facilita a fixação de oxigênio. Quando a hemoglobina é desoxigenada, forma compostos carbamínicos e

íons  $H^+$  são liberados.

A maior porção do gás carbônico que entra nos eritrócitos é hidratada para formar ácido carbônico por ação da anidrase carbônica. Em seguida o ácido carbônico ioniza-se, formando íons  $H^+$  e íons bicarbonato. Estas reações ocorrem porque os produtos de reação são removidos do eritrócito à medida que se formam, por intermédio de dois processos: a hemoglobina tampona a maioria dos íons  $H^+$  e boa parte do íon bicarbonato difunde para o plasma.

Quando o ácido carbônico ioniza-se, forma um número igual de cátions hidrogênio e ânions bicarbonato. Os íons  $H^+$  se combinam com a hemoglobina e a carga da hemoglobina se reduz. Os íons sódio e potássio são balanceados eletricamente com os bicarbonatos formados, mantendo a neutralidade elétrica da solução.

O dióxido de carbono total do plasma existe de três formas:

- dissolvido no plasma,
- como ácido carbônico, e
- como bicarbonato.

### **Sistema fosfato - ácido fosfórico**

Abundante nos líquidos tubulares, eficiente no sangue, porém em menor quantidade. Possui grande poder de tamponamento. Atua no transporte de  $H^+$  e de sódio, aumentando as trocas renais para a correção dos desequilíbrios ácido-básicos.

### **Sistema bicarbonato - ácido carbônico**

Com menor poder de tamponamento, porém mais abundante no plasma, mais facilmente controlado e mais fácil de medir. Assim, ele se torna o mais importante. O líquido céfalo-raquídeo é pobremente tamponado e um pequeno aumento na  $PCO_2$  representa redução significativa de pH.

### **Ação dos rins no tamponamento de pH**

A função do rim é manter a constância do meio interno. Para isto, ele excreta água, promove a troca de íons e mantém o organismo em equilíbrio. Os túbulos renais secretam íons  $H^+$  na urina tubular, e para cada mol de ácido secretado, um mol de bicarbonato (base) aparece no sangue. As células tubulares também secretam potássio na urina tubular e a secreção de íons potássio está inter-relacionada com a de  $H^+$ .

Na acidose respiratória, a taxa de secreção de ácido está elevada e a de potássio reduzida. Por outro lado, na deficiência de potássio, a secreção deste está reduzida e a de  $H^+$  aumentada. Como resultado, ocorre alcalose metabólica de origem renal. O pH mínimo da urina é em torno de 4,5, e isto acontece devido à capacidade tamponante dos rins. Um dos tampões mais importantes é o fosfato.

## DISTÚRBIOS ÁCIDO-BÁSICOS

Os distúrbios ácido base, poderão estar relacionados a parâmetros respiratórios (CO<sub>2</sub>) ou metabólicos (HCO<sub>3</sub>). Então, a acidose e a alcalose poderão ser metabólicas ou respiratórias.

### Acidose metabólica

#### *Causas*

- cetoacidose diabética
- inibidores da anidrase carbônica
- insuficiência renal com perda da capacidade de reabsorver o sódio
- acidose láctica – choque
- hipoxemia
- exercício
- toxinas exógenas – etileno-glicol
- ácido salicílico
- acidificantes urinários
- diarreia.

Na diarreia, ocorre aumento do cloreto porque os rins corrigem a acidose acompanhando sódio com cloreto.

#### *Tratamento*

Segundo Cornelli, deve-se corrigir a patologia de base, pois ela é, geralmente, a que mata o paciente. O animal somente deve ser tratado em condições extremas de pH (menor que 7,2 ou superior a 7,6) e acrescenta-se o tratamento da causa. Existem casos em que o próprio tratamento pode induzir a complicações. Devem se usar agentes alcalinizantes, como o bicarbonato (exemplo Carbicab: Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> + NaHCO<sub>3</sub>). No cálculo, considera-se o líquido extracelular (LEC: 20% do volume total). Por causa do intercâmbio entre LIC e LEC, toma-se como base um volume maior (30%). Não usar fórmulas com base na água corporal total (60%), porque o intercâmbio entre LIC e LEC é lento e isto acarretaria uma superdosagem. Lembrar também que os processos mórbidos não são estáticos e que os mecanismos de compensação também estão atuando. A quantidade de bicarbonato a administrar segue a seguinte equação:

$$\text{HCO}_3 \text{ meq/l} = 0,3 \times \text{peso corporal (kg)} \times \text{E.B.}^*$$

↓

espaço tratável (30%)

É mais seguro administrar a metade da dose e logo reavaliar o paciente e os valores de

---

\* EB= Excesso de Base: condição ocasionada pela adição de base ou remoção de ácido (pode ser negativo ou positivo).

gases e do pH do sangue. Se o tratamento da enfermidade primária é eficiente, não é necessário continuar a terapia com o bicarbonato. Neste caso, prefere-se que o próprio paciente normalize o desequilíbrio ácido-base em curso.

### ***Complicações***

1- Formação de mais ácido carbônico, com passagem de CO<sub>2</sub> para as células de L.C.R. (acidose paradoxal do L.C.R.).

2 - Aumento da osmolaridade do LEC com aumento do volume intravascular: problemas em pacientes com insuficiência cardíaca.

3 - A infusão rápida leva a hemorragia intracranial (neonatos).

4 - Sobregiro alcoólico (sobre-correção).

5 - Trocas nos eletrólitos séricos.

pH alcalino - aumenta ligação proteína + cálcio -diminui cálcio iônico = TETANIA

6 - Quando a acidose é corrigida, o potássio se movimenta para o interior da célula, podendo mascarar uma hipocalemia.

### **Acidose respiratória**

Elevação da pCO<sub>2</sub> = Hipercapnia

#### ***Causas***

#### • Depressão do centro respiratório, causada por:

1. drogas anestésicas gerais
2. opiáceos
3. traumas de SNC
4. lesão ocupante de espaço
5. tumor cerebral
6. abscesso cerebral

#### • Afecções respiratórias, tais como:

1. pneumotórax
2. obstrução de vias aéreas
3. pneumonia
4. edema pulmonar
5. debilidade de músculos respiratórios
6. polimiopatia
7. polineuropatia

#### • Movimento do toráx reduzido devido a:

1. obesidade
2. dor

- 3 bandagem torácica ajustada
- 4 hipertermia maligna

Os sistemas amortecedores respondem imediatamente, porém a resposta não é completa e duradoura. A causa original precisa ser corrigida, senão a acidose persistirá. O aumento da  $p\text{CO}_2$  causa vaso-dilatação, aumentando o fluxo sanguíneo cerebral e agravando os sinais neurológicos. Valores superiores a 70 mmHg de  $\text{CO}_2$  causam narcose. Observar e considerar este fato quando a recuperação anestésica for retardada.

**$p\text{CO}_2$  = estimula o simpático causando:**

- taquicardia
- sudorese
- aumento da temperatura corporal
- vaso dilatação periférica
- arritmia (maior no cão): considerar quando se administram outros agentes arritmogênicos, como Halotano e Xilazina

***Tratamento***

O tratamento dependerá da causa primária. A acidose respiratória crônica é um desafio, pois muitas etiologias são irreversíveis. Em pneumonias ou obstruções, usar bronco-dilatadores e antibióticos. Convulsões e arritmias cardíacas são complicações das modificações rápidas da  $p\text{CO}_2$ . Hiperventilar somente em casos extremos (casos agudos), para não inibir o estímulo da hipóxia. Nunca usar bicarbonato em tratamento de acidose metabólica. A utilização do bicarbonato eleva a  $p\text{CO}_2$  causando narcose.

**Alcalose metabólica**

***Causas***

- vômito gástrico puro
- overdose de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ )
- diminuição do LEC
- diminuição do potássio (atualmente esta hipótese está sendo contestada)
- desidratação
- intoxicação pela uréia (em bovinos).

***Compensação***

- A redução da ventilação alveolar é uma forma de compensação praticamente impossível porque ocorre o estímulo hipóxico, o que impede a compensação por esta via (o animal não fica sem respirar).
- A verdadeira compensação é renal, mediante excreção de  $\text{HCO}_3$ .

- Níveis de potássio e cloreto séricos influem na excreção de  $\text{HCO}_3$  (por causa das trocas) e os rins se tornam culpados pela manutenção da alcalose.
- Sinais clínicos da alcalose metabólica podem ser confundidos com os da hipocalcemia.
- Quando o volume do LEC está reduzido (assim como os níveis de cloro e potássio) não pode ocorrer bicarbonatúria (papel poupador de sódio e água) e a alcalose mantém-se.

### ***Tratamento***

A etiologia deve ser tratada, caso contrário a alcalose se manterá descompensada. O cloreto de sódio 0,9% promoverá a expansão do LEC e reduzirá o pH. Em casos de hipocalcemia, acrescentar cloreto de potássio nas soluções intravenosas.

## **Alcalose respiratória**

### ***Hiperventilação - causas***

- calor
- ansiedade
- medo
- dor
- lesões do SNC
- anemia pronunciada (ver acidose metabólica paralela)
- ventilação mecânica aumentada.

Em cães: grave somente quando a  $\text{pCO}_2$  está abaixo de 25 mmHg.

Alcalose intensa: hiperexcitabilidade do S.N. Periférico = tetania ( $\downarrow$  cálcio)

### ***Tratamento***

Deve-se tratar a causa do distúrbio, conforme a seguir:

- calor: reduzir a temperatura corporal
- lesões do SNC: oxigenioterapia
- dor: analgésicos
- ansiedade: tranquilizantes.

Em casos de anemia e de hiperventilação em geral, é interessante observar o grande aumento da formação de ácido láctico.

## **Desordens combinadas**

Quando duas ou mais patologias causam distúrbios diferentes. O distúrbio primário sempre tem o pH tendendo para si.

Exemplos:

- 1 - insuficiência renal e vômito: acidose e alcalose, porém o pH está baixo
- 2 - calor intenso: alcalose respiratória e formação de ácido lático
- 3 - pneumonia e anorexia
- 4 - vômito e hiperventilação
- 5 - nefrite e pneumonia
- 6 - diarreia e vômito.

## **Gasometria**

Para coletar amostras para gasometria deve-se usar seringa heparinizada. Em humanos usa-se sangue arterial sempre (artéria femoral). Em veterinária, preferencialmente deve-se tentar coletar sangue arterial (também artéria femoral após garrotear a coxa do animal por algum tempo). Levar em conta que anestésicar o animal vai alterar o estado ácido-básico do sangue. Pode-se utilizar sangue venoso e, neste caso, não devem ser considerados os dados da  $pO_2$ . A diferença de pH entre sangue arterial e venoso é pequena. Existem pequenas variações entre níveis de eletrólitos, porém os valores de  $pCO_2$  e  $O_2$  variarão. Deve-se lembrar que a  $pCO_2$  é maior no sangue venoso e a  $pO_2$ , maior no arterial. Entretanto, a literatura cita vários trabalhos que consideram somente sangue venoso.

A punção deverá ser cuidadosa e não poderá haver ar na seringa (este deverá ser totalmente retirado). Ao final da punção, após certificar-se da não existência de ar na seringa, vedar totalmente a agulha (por dobramento desta, com tampas apropriadas ou usar uma rolha na ponta da agulha).

O material deverá ser acondicionado em isopor com gelo e enviado imediatamente ao laboratório. Existem seringas importadas especiais para gasometria, nas quais o sangue poderá aguardar até duas horas para ser analisado. Quando usamos seringas comuns, o tempo máximo deverá ser de meia hora.

Os aparelhos são computadorizados e a análise é feita após injetar-se (com a mesma seringa em que foi coletado) uma pequena quantidade de sangue em orifício apropriado. O resultado é dado em um minuto com as seguintes informações:

- pH
- $pO_2$
- $pCO_2$
- $HCO_3$
- proporção respiratória/metabólica
- excesso de base (E.B.)
- hemoglobina
- “anion gap” (normalmente calculado)



- potássio, cloreto
- outros (de acordo com o equipamento).

Para a avaliação da gasometria, consideramos como dados indispensáveis:

pH: varia em torno de 7,4, que é o pH fisiológico do sangue;

pCO<sub>2</sub>: é igual a 40mmHg, aproximadamente, e é mantida pelos pulmões. É o parâmetro respiratório;

bicarbonato (HCO<sub>3</sub>): seu nível fisiológico médio é de 24mEq/l. É o parâmetro metabólico;

a proporção entre os parâmetros metabólicos (HCO<sub>3</sub>) e respiratório (pCO<sub>2</sub>) é de 20:1, ou seja, temos que ter 20 partes de HCO<sub>3</sub> para 1 parte de PCO<sub>2</sub>.

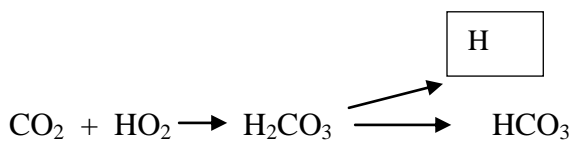
### Por que?

Porque, segundo a equação de Henderson-Hasselbalch, o pH é a relação entre ácidos e bases, ou seja:  $\text{pH} = \text{pK} + \log [\text{base}/\text{ácido}]$

E como fica a equação no final?

$$\text{pH} = 3,7 + \log [20/1]$$

Ou seja, vinte partes de bicarbonato para uma de ácido carbônico. Observamos aí, que a pCO<sub>2</sub> foi substituída na fórmula pelo ácido carbônico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), porque já sabemos que:



Se a pCO<sub>2</sub> é dada em mmHg e o HCO<sub>3</sub> em mEq/l, como saber se a proporção é realmente 20:1?

- O aparelho já faz as correções, transformando em mEq/l, multiplicando o valor por 0,03.

Portanto, a pCO<sub>2</sub> é dada em mmHg (40) e em mEq/l (1,2).

Se a proporção é de 20:1, o pH é 7,4!!!!

O excesso de base (EB) avalia o parâmetro metabólico:

E.B. negativo = acidose

E.B. positivo = alcalose

Valores normais de EB: 1 a -3 para cães, 1 a -5 para gatos.

## Gasometria (interpretação)

1. Ao avaliarmos a gasometria, primeiro verificamos o pH, que indicará acidose ou alcalose.
2. Após verificarmos o estado ácido-base, observamos o parâmetro que está alterado (se metabólico ou respiratório).
3. A redução no nível de HCO<sub>3</sub> acarretará em acidose metabólica.
4. Níveis aumentados de HCO<sub>3</sub> causarão alcalose metabólica.
5. Valores reduzidos na pCO<sub>2</sub> causarão alcalose respiratória.

6. Aumento na  $p\text{CO}_2$  causará acidose respiratória.
7. Em caso de desordens combinadas, devemos observar o pH, pois o processo predominante desviará o pH.

### **Bibliografia**

- BURTIS C.A., ASHWOOD E.R., TIETZ N.W. 1999. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 1917p.
- CASTRO A.L., HUEHARA M., VIERA C.C. 1994. *Propedêutica do Equilíbrio Hidroelectrolítico e Ácido-Básico*. Rio de Janeiro: Atheneu Editora. 138p.
- DAVENPORT H.W. 1984. *ABC of Acid Base Chemistry*. 6. ed. Chicago: The University of Chicago Press. 280p.
- DiBARTOLA P.S. 2000. *Fluid Therapy in Small Practice*. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 611p.
- MEYER D.J., COLES E.H., RICH L.S. 1992. *Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and Diagnosis*. Philadelphia: W.B. Saunders. 848p.
- MICHELL A.R. 1991. *Fluidoterapia Veterinaria*. Zaragoza: Editorial Acribia. 273p.
- MURRAY R.K., GRANNER D.K., MAYES P.A, RODWELL V.W. 1996. *Harper's Biochemistry*. 24. ed. Stanford: Longe Medical Publications. 868p.
- ROOTH G. 1978. *Introdução no Equilíbrio Ácido-Base e Electrolítico: Texto para Clínicos e Pediatras*. Rio de Janeiro: Atheneu Editora. 119p.
- SHERDING, R.G. 1994. *The Cat Diseases and Clinical Management*. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 2046p.
- STRYER, L. 1995. *Biochemistry*. 4. ed. New York: W.H Freeman and Company. 1064p.

# 8. TOXICOLOGIA CLÍNICA: ASPECTOS TEÓRICO-PRÁTICOS

*Eliane Dallegrave  
Viviane Cristina Sebben*

## 1 Introdução

A **toxicologia clínica veterinária** estuda a identificação do agente tóxico, a ação deste no organismo animal e os fatores que influenciam na toxicidade, permitindo estabelecer um diagnóstico e escolher a melhor conduta terapêutica.

Aspectos toxicocinéticos como absorção, distribuição, biotransformação e excreção dos toxicantes e toxicodinâmicos como mecanismos de ação e/ou produção de lesões, são fundamentais para compreensão dos casos de intoxicação.

Para que se possa estabelecer um diagnóstico preciso em toxicologia veterinária é importante considerar aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais. Estando estes, diretamente relacionados à escolha da terapêutica mais adequada, que pode ser composta por medidas de descontaminação e tratamento sintomático, ou mesmo pela utilização de antídotos específicos.

Vários agentes como animais peçonhentos e venenosos, plantas ornamentais e de interesse pecuário, micotoxinas, medicamentos e produtos de uso veterinário, metais pesados, pesticidas, produtos químicos industriais e de uso doméstico, drogas de abuso, podem induzir intoxicações em animais.

Manifestações clínicas semelhantes podem ter origens diferentes, sendo assim, para que se possa diferenciar as causas das intoxicações, muitas vezes são necessários exames toxicológicos ou bioquímicos para auxílio diagnóstico. As análises laboratoriais utilizadas na toxicologia clínica podem ser realizadas em diferentes fluidos biológicos como sangue, urina, leite, líquido ruminal, conteúdo estomacal, buscando substâncias definidas, seus metabólitos ou mesmo alterações bioquímicas induzidas pelos agentes tóxicos.

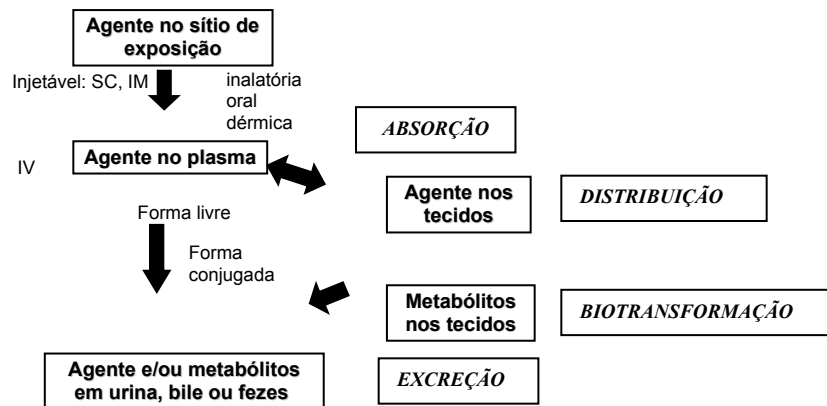
Os **objetivos** do estudo da toxicologia clínica veterinária são:

- desenvolver uma linha de raciocínio toxicológico-clínica para auxiliar no diagnóstico dos processos patológicos ligados a intoxicações;
- capacitar os médicos veterinários para a escolha, realização e interpretação de análises toxicológicas e de bioquímica clínica como ferramenta de suporte no diagnóstico e evolução das intoxicações mais freqüentes em medicina veterinária.

## 2 Toxicocinética

Define-se toxicocinética como o “movimento dos princípios ativos” dentro do organismo. Esta envolve as fases de absorção, distribuição, biotransformação e excreção (Figura 1).

Os agentes tóxicos podem ser os próprios princípios ativos, no caso de substâncias químicas, medicamentos, como também, podem ser toxinas liberadas por animais, plantas ou outros organismos.



*Nem sempre todos estes processos estão presentes.*

Figura 1. Processos toxicocinéticos.

Relacionado a estes processos temos determinados **parâmetros farmacocinéticos** como:

- **biodisponibilidade**: quantidade de fármaco que alcança a corrente circulatória;
- **volume de distribuição**: constante que relaciona a quantidade de fármaco no organismo com a concentração deste no sangue;
- **meia vida plasmática**: tempo necessário para que a quantidade total de fármaco no organismo decresça a 50%;
- **deuração corpórea**: volume de sangue do qual um fármaco foi eliminado por unidade de tempo; relacionando a taxa de eliminação pelos diferentes tecidos (fígado, rins, pulmões) e a concentração sérica do fármaco.

## 2.1 Absorção

Corresponde ao transporte da substância até a circulação. Vários fatores interferem na velocidade e na extensão da absorção:

- estrutura da pele
- características físico-químicas do agente
- tipo de exposição
  - quantidade do agente: dose, concentração
- período
  - curto
  - prolongado
- via de exposição
  - oral
  - inalatória
  - dérmica.

Tabela 1. Influência dos fatores na absorção de princípios ativos.

| <b>Fator</b>           | <b>Aumenta absorção</b>            | <b>Diminui absorção</b> |
|------------------------|------------------------------------|-------------------------|
| Concentração           | maior                              | menor                   |
| Peso molecular         | baixo                              | alto                    |
| Solubilidade           | lipossolúvel                       | hidrossolúvel           |
| Ionização              | forma não ionizada                 | forma ionizada          |
| Forma farmacêutica     | líquida                            | sólida                  |
| Dissolução dos sólidos | maior                              | menor                   |
| pH do local ácido      | ácidos fracos                      | bases fracas            |
| pH do local básico     | bases fracas                       | ácidos fracos           |
| Área absorviva         | maior                              | menor                   |
| Espessura da membrana  | menor                              | maior                   |
| Circulação local       | maior                              | menor                   |
| Condições fisiológicas | cio, puerpério                     |                         |
| Condições patológicas  | inflamação, úlceras,<br>queimadura | edema, choque           |

## 2.2 Distribuição

Define-se distribuição como sendo o processo de transporte entre os diferentes compartimentos orgânicos (intra e extra celular) após a chegada na corrente circulatória. Vários fatores interferem na distribuição das substâncias, como o fluxo sanguíneo tecidual, as características das membranas de transporte e das barreiras biológicas, as propriedades físico-químicas das substâncias, o tipo e a quantidade de proteínas plasmáticas e, a capacidade de ligação das substâncias a tecidos de depósito.

Órgãos com alto fluxo sanguíneo como os pulmões, favorecem a distribuição, já os músculos em repouso têm sua distribuição reduzida devido ao baixo fluxo sanguíneo local.

As características das membranas de transporte são fundamentais na compreensão da distribuição, pois estas vão determinar o tipo de transporte entre os compartimentos (difusão, transporte ativo), incluindo as barreiras celulares como a mucosa gastrointestinal e o epitélio tubular renal, e as barreiras biológicas.

As barreiras biológicas que interferem na distribuição dos agentes tóxicos são:

- hematoencefálica: que bloqueia a entrada de substâncias no SNC;
- placentária: que protege o feto, evitando a transferência de substâncias exógenas para o feto;
- hemato-testicular: que bloqueia a entrada de anticorpos circulantes e/ou de substâncias nos testículos, evitando efeitos sobre os espermatozóides.

Estas barreiras de uma forma geral bloqueiam a entrada de substâncias hidrossolúveis e de alto peso molecular, além de contar com sistemas de efluxo mediados pela glicoproteína P.

Os principais depósitos incluem:

- tecido adiposo: onde se depositam as substâncias hidrossolúveis;
- tecido conjuntivo: onde se depositam as substâncias lipossolúveis.

Estes depósitos apenas fixam o agente e liberam quando o gradiente favorecer. Sendo por esta razão denominados de silenciosos ou indiferentes.

As proteínas plasmáticas têm um papel fundamental na distribuição das substâncias exógenas no organismo. As principais são a albumina que se recebe preferencialmente ácidos e, a  $\beta$ -globulina e a glicoproteína ácida que acceptam bases. Outras proteínas incluem as lipoproteínas circulantes e as proteínas de membranas dos eritrócitos, leucócitos e plaquetas. Ligando-se reversivelmente a estas, são capazes de liberar quantidades na corrente circulatória conforme a redução de substância livre (capaz de ligar-se aos receptores e efetuar sua ação) ou competição por outra substância que tenha afinidade pelo mesmo tipo de proteína. Hipoproteinemia pode ser uma das causas de aumento de toxicidade de

agentes tóxicos que tem alta taxa de ligação a proteínas plasmáticas. As substâncias podem ligar-se também a proteínas teciduais como as de membrana, ácidos nucleicos, polipeptídeos ou polissacarídeos, ampliando seus locais de depósito para outros tipos de tecidos. Neste caso, tecidos como pulmões, ossos, fígado entre outros, podem ser suscetíveis às ações das substâncias.

Tanto as substâncias lipossolúveis quanto as hidrossolúveis podem distribuir-se no leite, tornando-se passíveis de transferência para os filhotes e/ou para os consumidores deste produto e de seus derivados.

### 2.3 Biotransformação

A biotransformação converte a substância em composto diferente do administrado.

Os principais **tecidos** responsáveis pela biotransformação de substâncias exógenas, denominados de **ativos**, são:

- fígado;
- pulmões;
- mucosa intestinal;
- pele;
- placenta.

O principal objetivo da biotransformação é tornar a substância polar (hidrossolúvel) e, portanto, passível de excreção renal.

A biotransformação pode gerar:

- metabólitos inativos;
- metabólitos ativos:
  - substâncias originalmente ativas – prolongando sua ação;
  - pró-toxicantes – tornando-as ativas.

Uma substância pode necessitar de mais de uma transformação para poder ser eliminada.

Fases da biotransformação:

**Fase I** – gera metabólitos ativos ou inativos através de reações de:

- oxidação
- redução
- hidrólise

O Citocromo P-450 é o componente chave dos processos de biotransformação. Especialmente no **fígado**, principal órgão de biotransformação, o retículo endoplasmático liso é o local mais importante de atividade das enzimas oxidases de função mista (OFM). Frequentemente se observa um aumento significativo na atividade destas enzimas depois de alguns dias de exposição a toxicantes. O sistema de OFM atua primariamente em substâncias lipofílicas (apolares), acrescentando a estas, grupos funcionais polares (hidrofílicos).

**Fase II (sintéticas)** – gera preferencialmente metabólitos inativos através de **conjugações** com:

- ácido glicurônico
- aminoácidos
- acetatos
- sulfatos
- glutatona

Esta fase inclui uma série de reações de conjugação, envolvendo substâncias exógenas previamente modificadas na fase I, para torná-las hidrossolúveis e passíveis de excreção renal.

Vários fatores reduzem a capacidade de biotransformação das substâncias. São estes:

- idade: período neonatal e senil;
- espécie, raça ou linhagem: sistemas enzimáticos pouco eficientes;
- sexo: machos possuem 40% a mais de Citocromo P-450 do que fêmeas;
- estado fisiológico: gestação;
- condições clínicas: insuficiência hepática, desnutrição, hipotermia...

A capacidade de biotransformação pode ainda ser influenciada por outras substâncias:

- indutoras enzimáticas: que aceleram a biotransformação, reduzindo a intensidade e duração do efeito;
- inibidoras enzimáticas: que aumentam a meia vida e a duração do efeito, potencializando a toxicidade.

Exceção se dá para os pró-toxicantes onde:

- indutores reduzem a latência e intensificam o efeito;
- inibidores aumentam a latência e reduzem o efeito.

Importante salientar que substância com ligação forte a lipídios, ossos e tecidos cerebrais, ficam inacessíveis a biotransformação. Porém, nem sempre o acúmulo de uma substância em um órgão ou tecido, está relacionado com sua toxicidade, pois estes podem ser indiferentes a ação do agente.

## 2.4 Excreção

A excreção é a fase da toxicocinética responsável pela eliminação da substância do organismo e os **órgãos** responsáveis por este processo são denominados **emunctórios**.

Os principais tecidos responsáveis pela excreção de substâncias exógenas são:

- rins: via urina;
- fígado: via bile;

A excreção pode se dar ainda via:

- pulmões: via expirado;
- intestinos: via fezes;
- glândulas salivares e lacrimais: via saliva e lágrima;
- pele: via suor;
- glândula mamária: via leite.

Os rins têm um papel depurador crucial, excretando substâncias polares e hidrossolúveis. Após a filtração, partículas hidrossolúveis são excretadas na urina e as lipossolúveis são reabsorvidas e vão à circulação sistêmica novamente. Os glomérulos filtram substâncias até o peso molecular da albumina (69000), mas somente aquelas não ligadas a proteínas plasmáticas.

Ácidos orgânicos fracos, não se dissociam em pH ácido, permanecendo lipossolúveis e passíveis de reabsorção. Neste caso, a alcalinização urinária permite ionizá-los, tornando-os hidrossolúveis e passíveis de excreção urinária. O oposto, ou seja, acidificar a urina para favorecer a excreção de bases fracas também é possível. Estes processos são denominados de **armadilha iônica** e de alta relevância terapêutica em toxicologia.

A excreção biliar é muito importante na prevenção da intoxicação, pois facilita a excreção de substâncias de alto peso molecular e muito polares, englobadas em micelas. Entretanto, algumas substâncias são passíveis de reabsorção no intestino, sofrendo o ciclo entero-hepático, possibilitando assim, o aumento de sua meia vida.

Vários fatores podem reduzir a excreção, como:

- baixa perfusão renal;
- baixa taxa de filtração glomerular;
- saturação de carreadores;
- idade: neonatos e idosos;
- insuficiência renal.

### 3 Toxicodinâmica

#### 3.1 Bases celulares da lesão tóxica

A lesão celular é a base para a maioria das lesões tóxicas, sendo o efeito caracterizado por disfunção de processos biológicos. Diferenças quantitativas nas funções celulares, teciduais e de órgãos podem deprimir ou mesmo interromper processos fisiológicos, como também aumentá-los, sendo capazes de afetar outros sistemas que não os diretamente envolvidos na lesão celular.

A resposta celular a agentes toxicantes ocorre através de mecanismos estruturais e metabólicos celulares, tais como:

- integridade da membrana: relacionada ao fluxo de líquidos e eletrólitos;
- regulação do volume celular: relacionada ao metabolismo energético responsável por fornecer energia para sistemas ativos de transporte transmembrana, síntese de macromoléculas ou manutenção do balanço osmótico;
- regulação metabólica: relacionada ao controle do acúmulo de lipídios e pigmentos;
- regulação da síntese protéica: relacionada ao controle da formação de ácidos nucléicos, enzimas e proteínas estruturais;
- regulação do crescimento: relacionada a alterações no DNA (hiperplasia, carcinogênese).

Substâncias estranhas ao organismo são biotransformadas a intermediários eletrofilicos pelas oxidases de função mista (OFM) microssomais. Provavelmente, estes compostos intermediários eletrofilicos ligam-se covalentemente a macromoléculas celulares que podem ser desnaturadas por esta ligação. Este tipo de ligação tem uma forte correlação com as lesões celulares e/ou carcinogênese. Os compostos eletrofilicos podem ligar-se a glutatona reduzida, sendo esta ligação, considerada fator de proteção celular.

Macromoléculas podem ser lesadas por radicais livres, resultantes da adição de elétrons a um carbono, catalizada por enzima, e com subsequente clivagem.

O oxigênio ativo (superóxido) formado pela oxidação induzida pelas OFM em substâncias exógenas, reage com lipídios não saturados, iniciando uma reação autocatalítica em cadeia que conduz a formação de radicais livres lipídicos e daí, a peroxidação lipídica. Esta peroxidação lesa as organelas e membranas celulares reduzindo sua integridade estrutural. Isto favorece a perda da homeostasia do cálcio, aumentado no citossol, ativando com isto as fosfolipases, autodigestão das membranas com perda funcional, turgidez celular e eventual lesão celular irreversível progredindo até a necrose. As Figuras 2 e 3 descrevem, respectivamente, as vias e a progressão das lesões que conduzem a morte celular.

As células podem produzir antioxidantes como a superóxido dismutase, a catalase, a glutatona peroxidase e a Vitamina E, capazes de evitar a formação de radicais livres.



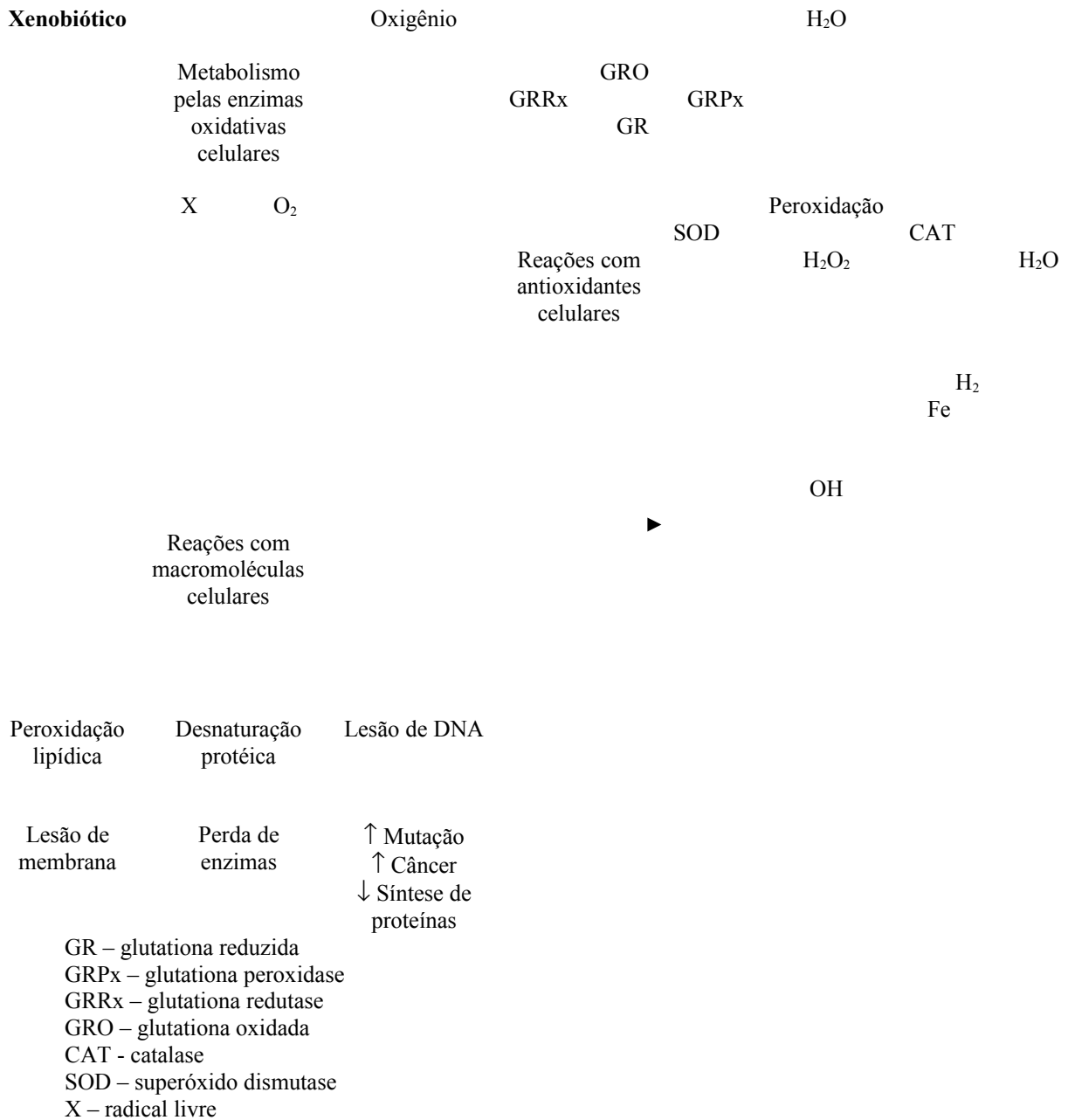


Figura 2. Vias de lesão tóxica induzida por radicais livres produzidos por agentes toxicantes e superóxidos. (Osweiler, 1998).

### **Progressão da lesão química levando à morte celular**

Substância química ou metabólito tóxico

Inibição do metabolismo energético com depleção de ATP

Diminuição da  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase

Diminuição da  $\text{Ca}^{+2}/\text{Mg}^{+2}$  ATPase

Acúmulo de sódio e cálcio no citosol

Influxo de água

Ativação de fosfolipases pelo cálcio

Tumefação celular com formação de vacúolos

Lesão de membranas e organelas

Liberação de hidroxilases ácidas pelos lisossomos

Perda do controle do Ca

Morte celular

Figura 3. Progressão da lesão tóxica conduzindo à morte celular. (Osweiler, 1998).

### **3.2 Mecanismos específicos da intoxicação**

Dentre os vários mecanismos de indução da intoxicação, pode-se referir:

- lesão química: membranas lesadas por corrosivos, cáusticos, coagulantes de proteínas ou mesmo agentes que afetam os lipídios de membrana;
- necrose: déficit energético ou isquemia;
- inibição ou competição por enzimas: inativando ou desnaturando;
- interferência na síntese ou metabolismo: desacoplamento ou inibição da fosforilação oxidativa, inibição da síntese de proteínas e de ácidos nucleicos, interferência com a mobilização de gordura no interior das células;
- efeitos funcionais: bloqueio ou estímulo à neurotransmissão, imunossupressão;
- mimetismo de substâncias endógenas: hormônios, nutrientes (vitaminas ou minerais);
- efeitos sobre o desenvolvimento: reabsorção embrionária, teratogênese, retardo do crescimento;
- carcinogênese.

### **4 Fatores que influenciam na toxicidade**

Diversos fatores podem modificar a resposta aos agentes toxicantes. Estes podem estar relacionados ao agente, ao animal e ao ambiente. A compreensão destes fatores e suas inter-relações permitem uma melhor interpretação dos dados e conseqüentemente, diagnóstico e prognóstico mais apurados.

Variações no efeito esperado após a exposição a agente toxicante podem desencadear reações adversas, entretanto somente são consideradas tóxicas aquelas decorrentes de exposições a dosagens

superiores às terapêuticas (toxicidade absoluta) ou quando fatores farmacocinéticos propiciam concentrações séricas superiores às esperadas (toxicidade relativa).

#### **4.1 Fatores do agente tóxico**

- Composição do produto:
  - presença de impurezas tóxicas ou capazes de potencializar a toxicidade dos princípios ativos;
  - mudanças na molécula ativa alterando propriedades químicas e a resposta dos receptores;
  - instabilidade da substância sob condições de uso, conduzindo a decomposição dos princípios ativos no ambiente;
  - presença de veículos, muitas vezes, igualmente ou mais tóxicos do que os princípios ativos;
  - apresentação (pós molháveis, suspensões, emulsões) capaz de interferir na taxa de retenção ou velocidade de absorção;
  - homogeneização, capaz de modificar a concentração do princípio ativo na formulação.
- Solubilidade: substâncias lipossolúveis têm maior capacidade de atravessar as membranas celulares.
- Polaridade: substâncias não polares têm maior capacidade de atravessar as membranas celulares.
- Peso molecular: substâncias com baixo peso molecular têm maior capacidade de atravessar as membranas celulares.
- Grau de ionização: substâncias não ionizáveis em pH fisiológico são mais lipossolúveis e, portanto, com maior capacidade de absorção.
- Ligação a proteínas plasmáticas: restringe a disponibilidade da substância e retarda a excreção (por filtração glomerular).
- Interações químicas: formação de precipitados insolúveis, trocas de ânions em sais,...

#### **4.2 Fatores do animal**

Fisiologicamente, espécie, raça, idade, sexo, estado gestacional ou lactacional são fatores que influenciam na resposta a determinados agentes tóxicos. Além disso, algumas condições patológicas são responsáveis pelo aumento da resposta aos tóxicos.

Tabela 2. Características específicas em relação ao animal que influenciam na toxicidade.

| <b>Fator</b>                | <b>Característica</b>   |
|-----------------------------|---|
| Espécie                     | <b>Gatos</b> são maus conjugadores com ácido glicurônico, <b>suínos</b> com sulfato, <b>porquinhos-da-Índia</b> são maus desmetiladores e <b>cães</b> acetiladores, características que reduzem a biotransformação de toxicantes que utilizam estes sistemas.<br><b>Ruminantes</b> podem ter a absorção retardada pela ampla capacidade de armazenar grandes volumes de ingesta e a microbiota ruminal pode biotransformar substâncias em toxicantes ou mesmo inativá-las.<br><b>Cavalos, ratos e coelhos</b> são incapazes de vomitar, aumentando a toxicidade de venenos eméticos por natureza e dificultando o procedimento de descontaminação oro-gástrica. |
| Raça                        | <b>Collies</b> têm a barreira hematoencefálica menos desenvolvida, permitindo a passagem de substâncias como a ivermectina, provocando toxicidade.  |
| Idade                       | <b>Neonatos</b> têm menor capacidade de biotransformação e maior permeabilidade nas barreiras ainda imaturas (hematoencefálica), permitindo aumento da toxicidade.<br><b>Idosos</b> têm sistemas de biotransformação deficientes.   |
| Sexo                        | <b>Machos</b> com níveis elevados de testosterona têm maior capacidade de biotransformação do que as fêmeas.<br>Toxicantes que mimetizam efeitos hormonais afetam mais intensamente animais do sexo dependente daquele hormônio.  |
| Gestação                    | Pode aumentar a capacidade de biotransformação de alguns toxicantes.  |
| Lactação                    | Pode aumentar a excreção de toxicantes lipossolúveis.   |
| Insuficiência hepática      | Reduz a biotransformação dos toxicantes, retardando o processo de eliminação.   |
| Insuficiência renal         | Reduz a excreção dos toxicantes.  |
| Irritantes gastrintestinais | Reduzem o trânsito intestinal e conseqüentemente a absorção de toxicantes orais.  |
| Gastroenterite/úlceras      | Aumenta a absorção de toxicantes.   |

### 4.3 Fatores ambientais

Vários fatores externos podem influenciar na resposta aos agentes toxicantes. Estes incluem:

- Volume/concentração do toxicante: a exposição aguda a grandes volumes ou concentrações de toxicantes produz respostas maiores do que a exposição prolongada das mesmas quantidades. Entretanto, alguns agentes podem manifestar efeitos mais pronunciados por exposição crônica de pequenas doses do que aguda de doses elevadas.
- Via e local de exposição: têm relação direta com a absorção (tecidos vascularizados aumentam, enquanto que os menos vascularizados ou mesmo queratinizados reduzem) e a biotransformação (oral passa pelo fígado antes de atingir a circulação e a inalatória não).
- Temperatura ambiental: se baixa pode propiciar aumento de biotransformação pelos animais que aumentam seu metabolismo para manterem-se aquecidos; se alta pode favorecer o consumo hídrico e a ingestão de toxicantes presentes na água, além de aumentar a suscetibilidade a toxicantes que aumentam o metabolismo ou a temperatura corporal (desacopladores oxidativos), também a absorção dérmica pode ser aumentada quando a temperatura ambiente está elevada, devido ao desvio sangüíneo para a periferia.
- Pressão atmosférica: a reduzida tensão de oxigênio ambiental pode estar associada com aumento de toxicidade de determinados agentes, assim como o seu oposto, exposição ao oxigênio hiperbárico, é capaz de tratar certos tipos de intoxicações.
- Fatores nutricionais e dietéticos: inativação de toxicantes por componentes da dieta; boa palatabilidade pode aumentar a ingesta; deficiências nutricionais reduzem a síntese de enzimas microsossomais ou a atividade antioxidante e deficiências energéticas reduzem a atividade enzimática.

## 5 Diagnóstico em toxicologia veterinária

O diagnóstico clínico pode ser utilizado para determinar os sistemas orgânicos afetados e as alterações que necessitam ser controladas imediatamente para manter a vida do animal. A etapa fundamental é a que estabelece o diagnóstico etiológico, pois este, permite a identificação do agente e a aplicação imediata de terapia específica.

A linha de raciocínio diante de uma suspeita de intoxicação deve respeitar uma seqüência de dados a serem investigados:

*Quais as principais manifestações clínicas?*

- choque
- parada respiratória
- convulsões
- depressão
- ataxia
- hemorragias

*Existe alguma lesão aparente?*

- picada
- queimadura
- bolha
- necrose

*Há presença de agente tóxico no ambiente?*

- planta tóxica
- alimento contaminado
- animal peçonhento ou venenoso
- produto químico
- pesticida
- medicamento

*O que pode ter ocorrido?*

- exposição a algum agente conhecido ou suspeito
- mudança de ambiente
- mudança de alimentação
- aplicação de alguma substância química no animal e/ou ambiente

*Que sinais clínicos o animal manifesta?*

- ataxia
- salivação
- cegueira
- depressão
- excitação
- convulsões
- vômito
- diarreia
- melena
- polifagia
- polidipsia
- poliúria
- dispnéia
- icterícia
- hemorragia
- hematúria
- febre
- fraqueza
- necrose

*Que sistemas ou processos metabólicos estão envolvidos?*

- sistema respiratório
- sistema cardiovascular
- sistema nervoso central
- sistema digestivo
- sistema locomotor
- sistema reprodutor
- olhos, pele e anexos
- coagulação/hematopoese

*Com que velocidade surgiram os sinais clínicos?*

- imediatamente
- algumas horas
- um dia
- vários dias

*Com que velocidade evoluíram os sinais clínicos?*

- rapidamente (horas)
- lentamente (dias)

*Outros animais manifestam sinais clínicos?*

*Ocorreram mortes?*

*Existiu alguma situação de estresse?*

*O animal possuía lesão orgânica prévia?*

*Fez ou fazia uso de medicamentos? Quais?*

*Que exames complementares podem auxiliar no diagnóstico?*

- perfil bioquímico hepático e renal;
- testes de coagulação;
- urinálise
- hemograma completo
- análise de eletrólitos (Ca, Mg, K, Na,...) e pH.

*Que análises toxicológicas podem contribuir no diagnóstico toxicológico?*

- pesquisa de agentes tóxicos e/ou metabólitos (sangue, vômito, urina, fezes, pêlos dos animais ou *post mortem* conteúdo gástrico ou ruminal, fígado, rins, gordura, líquidos oculares e cérebro);
- pesquisa de plantas tóxicas, alimentos contaminados, substâncias químicas como pesticidas ou domissanitários no ambiente, água, solo.

*Caso o animal venha a óbito, o que investigar na necropsia?*

- análise macroscópica, análise histopatológica ou pesquisa de agentes e/ou metabólitos conteúdo gástrico ou ruminal, ou em tecidos.

Tabela 3. Alterações em sistemas orgânicos decorrentes da exposição a agentes tóxicos em potencial.

| Sistema        | Alteração                         | Agente tóxico  |
|----------------|-----------------------------------|--|
| Nervoso        | Convulsões                        | Chumbo, organoclorados, metaldeído, piretrinas e piretróides, uréia, sódio, anfetaminas, cafeína, chocolate, cocaína, estricnina, fluoracetato, ...  |
|                | Depressão                         | Anticolinérgicos, barbitúricos, fenotiazínicos, opióides, ivermectina, álcoois, <i>Datura</i> spp., <i>Cannabis sativa</i> , <i>Micrurus</i> sp., organofosforado, chumbo, monóxido de carbono   |
|                | Tremores musculares               | Micotoxinas, organofosforados e carbamatos   |
|                | Ataxia e nistagmo                 | Aminoglicosídeos, <i>Cannabis sativa</i> ,...  |
| Respiratório   | Asfixia                           | Dióxido de carbono, monóxido de carbono, metano, nitrogênio  |
|                | Irritação                         | Cloro, formaldeído, fumaça   |
|                | Edema pulmonar                    | Endotoxina, paraquat   |
|                | Enfisema                          | Cetonas  |
|                | Fibrose                           | Paraquat   |
| Cardiovascular | Inotropismo                       | <i>Digitalis</i> sp., digoxina, bufotoxina   |
|                | Taquicardia                       | anfêtasminas, cafeína, chocolate, cocaína, metaldeído, organofosforados, teofilina   |
|                | Bradycardia                       | Xilazina, bufotoxina, bloqueadores dos canais de cálcio, carbamatos, organofosforados, <i>Digitalis</i> sp., betabloqueadores  |
| Hematopóético  | Anemia aplásica                   | Antineoplásicos, arsenicais, estrógenos, fenilbutazona, cloranfenicol, benzeno, clorpromazina, tolueno   |
|                | Porfíria                          | Chumbo   |
|                | Carboxiemoglobinemia              | Monóxido de carbono  |
|                | Metemoglobinemia                  | Nitratos e nitritos, cobre, organoclorados e paracetamol   |
| Digestório     | Salivação                         | Carbamatos, organofosforados, oxalatos de cálcio, piretróides, bufotoxina, corrosivos  |
|                | Irritação, queimadura             | Ácidos, álcalis, fenóis, formaldeído, solventes, hipoclorito, plantas com oxalatos   |
|                | Gastrite, gastroenterite          | Ácido acetilsalicílico, ibuprofeno, Naproxen, glicosídeos cardiotônicos, arsênico, chumbo, ferro, cobre, fertilizantes, herbicidas fenoxi, organofosforados e carbamatos, <i>Amanita</i> sp., micotoxinas, enterotoxinas ( <i>Clostridium</i> sp.), Euforbiáceas, <i>Solanum</i> sp. |
|                | Emese<br>Insuficiência hepática   | Apomorfina, ipeca, xilazina<br>Paracetamol, cobre, ferro dextrano, mebendazole, tiacetarsamida, tolueno, vitamina A, alcatrão, fenóis, nitrosaminas, tetracloroeto de carbono, micotoxinas, <i>Senecio</i> sp., <i>Lantana camara</i> , <i>Amanita</i> sp.                           |
| Excretor       | Insuficiência renal               | metais pesados, aminoglicosídeos, sulfonamidas, barbitúricos, AINES, carbamatos, herbicidas fenoxi, micotoxinas, oxalatos, solventes, Vitamina D <sub>3</sub> e plantas calcinogênicas, <i>Crotalus</i> sp., <i>Bothrops</i> sp.   |
| Reprodutor     | Alteração na fertilidade do macho | Antineoplásicos, naftalenos, organoclorados, estrógenos  |
|                | Alteração na fertilidade da fêmea | Andrógenos, estrógenos, DDT, progesterona, fitoestrógenos ( <i>Trifolium subterraneum</i> , <i>Medicago sativa</i> , <i>Ateleia glazioviana</i> )  |
|                | Aborto                            | Chumbo, corticosteróides, dicumarínicos, monóxido de carbono, nitratos e nitritos, selênio, <i>Trifolium subterraneum</i> , <i>Medicago sativa</i>   |
|                | Teratogenicidade                  | Benzimidazóis, aminoglicosídeos, griseofulvina, imidazotiazóis, hormônios esteróides, vitaminas A e D, AAS, arsênico, chumbo   |
| Locomotor      | Necrose muscular                  | Corticosteróides, ferro dextran, halotano, ionóforos, selênio, <i>Crotalus</i> sp., <i>Cassia</i> sp., <i>Senna occidentalis</i>   |
|                | Calcificações de tecidos moles    | Vitamina D <sub>3</sub> , plantas calcinogênicas ( <i>Solanum malacoxylon</i> , <i>Nierembergia veitchii</i> )   |

*Saber selecionar as melhores evidências é fundamental no diagnóstico etiológico, mas mesmo assim, o principal é tratar o paciente e não o veneno!*

Sendo assim, uma investigação toxicológica baseia-se em critérios indiretos tais como:

- análises biológicas
  - determinação dos sistemas envolvidos e/ou das alterações metabólicas
  - gravidade da intoxicação
  - perfil bioquímico
- agente tóxico suspeito
- análise toxicológica

As tabelas 3 e 4 referem os principais sistemas envolvidos e as alterações metabólicas correlacionadas aos agentes tóxicos.

Tabela 4. Alterações metabólicas relacionadas com os agentes tóxicos em potencial.

| <b>Alterações metabólicas</b> | <b>Agentes tóxicos</b>  |
|-------------------------------|---|
| Acidose                       | Ácido acetil-salicílico, metanol, metaldeído,...                                  |
| Kalemia                       | Digitálicos, tetraciclina, fenotiazínicos e antidepressivos tricíclicos,...       |
| Hipocalcemia                  | Ácido fluorídrico, ácido oxálico,...  |
| Hemorragias                   | Cumarínicos, <i>Bothrops</i> sp,...   |
| Perturbações enzimáticas      | Paracetamol, organofosforados,...   |
| Hemólise                      | Sais de cobre, arsênico, mercúrio, <i>Crotalus</i> sp., <i>Loxosceles</i> sp,.... |

Análises laboratoriais podem confirmar e quantificar os resultados de uma exposição à agente tóxico. Hematologia, bioquímica, urinálise podem ser de grande valia, assim como o conteúdo gástrico ou ruminal (vômito, coleta por sondagem ou mesmo *post mortem*), fezes ou mesmo pêlos. Outras análises incluem avaliação *post mortem*, incluindo a utilização de tecidos como fígado, rins, gordura e cérebro para pesquisa do agente, metabólitos ou mesmo possíveis lesões causadas por estes. Amostras ambientais como alimento, ração, forragem, água, solo, plantas tóxicas, iscas, medicamentos, objetos contaminados com produtos químicos, ou outros, não confirmam, mas sugerem um provável diagnóstico. É de extrema relevância a coleta e o envio adequados das amostras para que o laboratório possa realizar as análises de forma precisa. Na Tabela 5, encontram-se indicadas as quantidades e a forma de conservação necessárias para o envio das amostras.

*“Os critérios biológicos, principalmente a determinação dos sistemas envolvidos e das alterações metabólicas, são de suma importância na investigação, refletindo a tolerância do paciente frente ao toxicante, pois nem sempre as concentrações sanguíneas se relacionam diretamente com o efeito clínico”.*

Estas alterações, juntamente com a anamnese específica, o exame das evidências ambientais, o perfil bioquímico e as análises toxicológicas, quando pertinentes, fundamentam o diagnóstico toxicológico e conseqüentemente, o tratamento específico.



Tabela 5. Aspectos práticos para o envio de amostras para diagnóstico laboratorial em toxicologia.

| <b>Amostra</b>                                | <b>Quantidade</b> | <b>Agentes</b>  |
|---|-------------------|---|
| Sangue total (refrigerado)                    | 5-10 mL           | Metais, minerais, colinesterase, pesticidas e hemograma   |
| Soro (refrigerado)                            | 5-10 mL           | Eletrólitos, uréia, metais, drogas, antibióticos e vitaminas                                    |
| Urina (refrigerada)                           | 50 mL             | Alcalóides, metais, eletrólitos, drogas, antibióticos, sulfonamidas e oxalatos                  |
| Fezes (refrigeradas)                          | 250 g             | Exposição oral recente de substâncias excretadas pela bile                                      |
| Vômito (refrigerado)                          | 250 g             | Vários agentes (principalmente aqueles não detectados em tecidos), organofosforados e ionóforos |
| Pêlos   | 5-10 g            | Pesticidas e metais (exposição crônica)   |
| Fígado (congelado e formalina tamponada 10%)  | 100 g             | Metais, pesticidas, alcalóides e micotoxinas  |
| Rins (congelado e formalina tamponada 10%)    | 100 g             | Antibióticos, outros fármacos, alcalóides, herbicidas, metais, compostos fenólicos e oxalatos   |
| Conteúdo gástrico (refrigerado)               | 500 g             | Semelhante ao vômito  |
| Conteúdo ruminal (congelado)                  | 500 g             | Rumen pode degradar nitratos e micotoxinas (melhor congelar)                                    |
| Gordura                                       | 250 g             | Organoclorados, dioxinas (lipossolúveis)  |
| Cérebro (congelado e formalina tamponada 10%) | inteiro           | Organoclorados, piretrinas, sódio e mercúrio (neurotóxicos)                                     |
| Alimentos (múltiplas amostras)                | 2 kg              | Micotoxinas, aditivos alimentares,...   |
| Forragens (múltiplas amostras, congeladas)    | 5 kg              | Micotoxinas,...   |
| Isocas  | todas             | Rodenticidas, inseticidas,...   |
| Água (refrigerada)                            | 0,5-1 L           | Nitratos, sulfatos, sólidos totais, metais, pesticidas  |
| Solo (múltiplas amostras)                     | 1 kg              | Minerais, pesticidas  |

## 6 Manejo das intoxicações

O principal enfoque que deve ser dado nos casos de intoxicação é “tratar o paciente, e não o agente tóxico”! Uma seqüência lógica de medidas deve estar sempre em mente para que se possa adequar os primeiros socorros à terapêutica específica ou mesmo de suporte.

Dentre as principais medidas, a descontaminação é essencial para que se evite a continuidade da exposição ao agente tóxico. Igualmente importante, são as medidas de suporte que favorecem a manutenção da vida, até que se possa terminar a investigação ou mesmo estabelecer terapia específica, através de antídotos, quando houver.

### 6.1 Descontaminação

O primeiro passo inclui a remoção do ambiente tóxico, principalmente em exposições por via inalatória e/ou dérmica ambiental (banheiro, tanque, chão,...). Instruções aos cuidadores quanto à necessidade de material de proteção como luvas, roupas com pernas e mangas longas para efetuar o manejo e/ou descontaminação.

Orientações quanto à remoção de resquícios do agente toxicante da boca, ou mesmo indução de emese com peróxido de hidrogênio (água oxigenada) ou detergente líquido de louça, atentando para a posição do animal de forma a evitar aspiração do vômito.

Informar sobre a necessidade ou não de atendimento clínico de emergência e os procedimentos para o transporte além da necessidade de trazer a embalagem do produto, planta ou mesmo animal venenoso ou peçonhento, quando for seguro e possível.

Descontaminação dérmica:

- lavar continuamente o animal com água morna e sabão ou detergente suave, até que o produto tenha sido removido;
- animais de pêlos longos podem necessitar de corte ou tosa para remover os resíduos tóxicos.

Descontaminação ocular:

- lavar com água, várias vezes ou irrigar com soro fisiológico por cerca de 20 min.

Descontaminação gástrica/enteral:

- emese:
  - contra-indicada: roedores, coelhos, eqüinos ou ruminantes; animais inconscientes, muito deprimidos, convulsivos; em ingestão de corrosivos, cáusticos, derivados do petróleo ou outras substâncias voláteis;
  - quando indicada: peróxido de hidrogênio 3% (2-5 mg/kg – não excedendo 50 mL); solução de detergente líquido de louça “**não** de máquina ou de roupa” (3 colheres de sopa em 250 mL de água – 10 mL/kg); xilazina (1,1 mg/kg);
  - lavagem gástrica: quando emese foi ineficaz ou contra-indicada; animal entubado endotraquealmente para evitar aspiração, sonda gástrica calibrosa, administrar água ou salina (10 mL/kg) por gravidade e aspirar após alguns minutos, repetir até que o líquido esteja claro, evitar pressão excessiva pelo risco de dano a mucosa enfraquecida.
- lavagem enterogástrica: concomitante com lavagem gástrica é efetuado enema retrógrado alto (líquido via retal);
- adsorção com carvão ativado: administrado para adsorver o toxicante, mais eficaz para moléculas grandes, não polareas, agentes ionizados são menos adsorvidos do que os neutros; em suspensão aquosa de 1g em 5 mL de água e administrado na dose de 1-5 g/kg; fármacos administrados na presença de carvão são adsorvidos e têm sua eficácia reduzida;
- gastrotomia ou rumenotomia: necessárias em situações refratárias à emese, lavagem gástrica ou carvão ativado; indicada para remoção de corpos estranho constituídos por metais pesados; materiais persistentes como alcatrão, óleos tóxicos, podem necessitar evacuação cirúrgica.

## 6.2 Medidas gerais de suporte

Freqüentemente, na intervenção de emergência de casos de intoxicação, as medidas de suporte são prioritárias, mesmo quando existe o diagnóstico etiológico e antídoto apropriado. Estas incluem:

- Vias aéreas permeáveis e com adequada oxigenação: por sonda endotraqueal (evita aspiração do vômito em animais inconscientes), ventilação mecânica, oxigenioterapia, estimulante respiratório como doxapram.
- Disfunções neurológicas:
  - convulsões devem ser controladas com benzodiazepínicos e/ou barbitúricos, jamais com tranqüilizantes fenotiazínicos (diminuem o limiar convulsivo);
  - depressão pode ser reduzida por estimulante central como o doxapram.
- Choque: hipovolêmico controlar com Ringer lactato ou expansores plasmáticos; hemorrágico, considerar transfusão.
- Arritmias cardíacas: bradicardia sinusal controlar com atropina; bloqueio átrio-ventricular tratar com atropina, dopamina ou isoproterenol; parada atrial utilizar bicarbonato de sódio em salina e insulina com glicose; taquicardia ventricular em cães controlar com lidocaína, mas não em gatos (neurotóxica).
- Vômitos e/ou diarreia: hiperreatividade gastrointestinal pode reduzir a absorção ou auxiliar na eliminação de toxicantes, entretanto desequilíbrios hidreletrolíticos devem ser controlados; irritação local do estômago pode ser controlada com anti-histamínicos H<sub>2</sub>.

- Desequilíbrios hidreletrolíticos: acidose metabólica corrigir com lactato de sódio ou bicarbonato de sódio.
- Hipo ou hipertermia: aquecimento ambiental nos casos de hipotermia; banhos frios e/ou administração intravenosa de líquidos frios que também controlam a desidratação produzida pela hipertermia.

Monitorar a condição clínica, pois os produtos da biotransformação de toxicantes podem ser mais tóxicos que os de origem. Além disso, mudanças secundárias ou seqüelas da lesão original podem produzir danos que necessitam tratamento.

### 6.3 Antídotos

Antídotos são agentes com ação específica contra a atividade ou efeitos de um toxicante. A aplicação de um antídoto deve ser considerada quando o diagnóstico etiológico foi estabelecido. Deve-se administrar dosagens relativas à avaliação do quadro clínico que é proporcional a exposição. Diferenças na duração do efeito do antídoto em relação ao do agente deve ser considerada no esquema terapêutico. Alguns antídotos podem ser tóxicos, principalmente se administrados na ausência ou mesmo na presença de concentrações muito baixas dos toxicantes. Antídotos podem ser considerados ineficazes se a descontaminação geral do animal não for realizada.

Os antídotos podem atuar via mecanismos específicos como:

Antídotos químicos:

- formação de complexos inativos e estáveis até a excreção;
- conversão metabólica, aumentando a biotransformação.

Antídotos farmacológicos:

- prevenção da ativação de toxicantes (formação de metabólitos tóxicos);
- aumento da excreção ;
- antagonismo competitivo pelos receptores farmacológicos;
- bloqueio de receptores responsáveis pelo efeito tóxico;
- restabelecimento da função normal.

Na Tabela 7 encontram-se referidos os antídotos mais comuns utilizados no tratamento das intoxicações em veterinária.

Tabela 6. Principais antídotos utilizados em veterinária.

| <b>Agente toxicante</b>                        | <b>Antídoto</b>  |
|--|--|
| Paracetamol                                    | Acetilcisteína   |
| Carbamatos                                     | Atropina   |
| Organofosforados                               | Pralidoxima* (ou atropina)                                   |
| Arsênico                                       | Dimercaprol (BAL)*   |
| Cianeto  | Nitrito ou tiosulfato de sódio                               |
| Chumbo   | EDTA cálcio-dissódico*                                       |
| Cobre em cães                                  | Ácido ascórbico ou D-penicilamina*                           |
| Cobre em ovinos                                | Molibdato de amônio* ou tetratiomolibdato de amônio* (aguda) |
| Anticoagulantes cumarínicos ou indanediônicos  | Vitamina K -fitomenandiona                                   |
| Metemoglobinemia em gatos                      | Ácido ascórbico  |
| Nitrato, nitrito ou cloreto em grandes animais | Azul de metileno   |
| Peçonha de serpentes                           | Soro antiofídico específico                                  |
| Zinco  | EDTA cálcio-dissódico*                                       |

\* Não aprovado pelo FDA para uso em animais.

## 7 Epidemiologia das intoxicações em veterinária no Rio Grande do Sul

O Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul registrou em 2006, 830 casos de intoxicação em várias espécies animais, envolvendo diferentes classes de agentes toxicantes. Conforme os dados apresentados nas Tabelas 7, 8, 9, 10, 11, 12 e 13, pode-se verificar uma maior incidência de acidentes tóxicos em pequenos animais, com pesticidas agrícolas e domésticos, medicamentos e produtos de uso veterinário.

Dos 830 casos de intoxicação animal registrados no CIT/RS em 2006, 328 foram por pesticidas, 205 por medicamentos e produtos veterinários, 77 por animais, 73 por plantas, 62 por domissanitários, 65 por químicos industriais e 21 por outros agentes incluindo metais, drogas, cosméticos, aditivos alimentares entre outros. Dentre as diferentes espécies, os cães foram envolvidos em 653 casos e os gatos em 111.

Estes dados fundamentam um maior conhecimento sobre os agentes tóxicos mais envolvidos nos acidentes em nosso meio, facilitando o diagnóstico, tornando o atendimento mais rápido e também, possibilitando ações preventivas no que se refere à educação dos proprietários para a questão do risco tóxico.

Tabela 7. Casos de intoxicação animal por pesticidas agrícolas e domésticos registrados em 2006 no CIT/RS.

| <b>Classe Pesticidas</b>        | <b>Aves</b> | <b>Bovinos</b> | <b>Caninos</b> | <b>Felinos</b> | <b>Outros</b> | <b>Sem<br/>definição</b> | <b>Total</b> |
|---------------------------------|-------------|----------------|----------------|----------------|---------------|--------------------------|--------------|
| <b>Pesticidas Agrícolas</b>     |             |                |                |                |               |                          |              |
| Fungicida                       |             |                | 5              |                |               |                          | <b>5</b>     |
| Herbicidas                      |             | 1              | 8              | 1              |               |                          | <b>10</b>    |
| Mistura de pesticidas           |             |                |                |                |               |                          |              |
| Carbamatos                      |             |                | 3              | 2              |               |                          | <b>5</b>     |
| Organoclorados                  |             |                | 1              |                | 2             |                          | <b>3</b>     |
| Organofosforados                |             | 2              | 9              | 1              | 1             | 1                        | <b>14</b>    |
| Piretróides                     |             |                | 4              | 1              |               | 2                        | <b>7</b>     |
| Preservativos de madeira        |             |                |                |                |               |                          |              |
| Ignorados                       |             |                |                |                |               |                          |              |
| Outros pesticidas               |             | 1              | 21             |                |               |                          | <b>22</b>    |
| Pesticidas mais outros produtos |             |                |                |                |               |                          |              |
| <b>Total agrícola</b>           |             | <b>4</b>       | <b>51</b>      | <b>5</b>       | <b>3</b>      | <b>3</b>                 | <b>66</b>    |
| <b>Pesticidas Domésticos</b>    |             |                |                |                |               |                          |              |
| Repelente de inseto             |             |                | 2              |                |               |                          | <b>2</b>     |
| Organoclorados                  |             |                |                |                |               |                          |              |
| Organofosforados/ Carbamatos    |             |                | 16             | 5              | 1             | 1                        | <b>23</b>    |
| Piretróides                     |             |                | 49             | 21             | 1             | 2                        | <b>73</b>    |
| Ignorados                       |             |                |                |                |               |                          |              |
| Outros pesticidas               |             |                | 56             | 1              | 1             | 1                        | <b>59</b>    |
| Mistura de pesticidas           |             |                |                |                |               |                          |              |
| Pesticidas mais outros produtos |             |                |                |                |               |                          |              |
| <b>Total doméstico</b>          |             |                | <b>123</b>     | <b>27</b>      | <b>3</b>      | <b>4</b>                 | <b>157</b>   |
| <b>Total raticidas</b>          | <b>6</b>    | <b>1</b>       | <b>89</b>      | <b>5</b>       | <b>2</b>      | <b>2</b>                 | <b>105</b>   |
| <b>Total de pesticidas</b>      | <b>6</b>    | <b>5</b>       | <b>263</b>     | <b>37</b>      | <b>8</b>      | <b>9</b>                 | <b>328</b>   |

Tabela 8. Casos de intoxicação animal por medicamentos e produtos de uso veterinário registrados em 2006 no CIT/RS.

| <b>Classe</b>                                  | <b>Aves</b>    | <b>Bovinos</b> | <b>Caninos</b> | <b>Felinos</b> | <b>Suínos</b>            | <b>Sem<br/>definição</b> | <b>Total</b> |
|--|----------------|----------------|----------------|----------------|--------------------------|--------------------------|--------------|
| <b>Medicamentos</b>                            |                |                |                |                |                          |                          |              |
| Analgésico                                     |                |                | 7              | 1              |                          |                          | 8            |
| Anestésico local                               |                |                | 1              |                |                          |                          | 1            |
| Antiandrogênico                                |                |                | 1              |                |                          |                          | 1            |
| Antiasmático                                   |                |                |                | 1              |                          |                          | 1            |
| Antibiótico                                    |                |                | 3              |                | 2                        |                          | 5            |
| Anticonvulsivante                              |                |                | 3              | 1              |                          |                          | 4            |
| Antidepressivo                                 |                |                | 2              |                |                          |                          | 2            |
| Antidiarréico                                  |                |                | 1              |                |                          |                          | 1            |
| Antiemético                                    |                |                | 5              | 1              |                          |                          | 6            |
| Antifúngico                                    |                |                | 2              |                |                          |                          | 2            |
| Antiinfeciosos                                 |                |                |                | 1              |                          |                          | 1            |
| Antiinfeciosos do trato<br>gastrointestinal    |                | 1              | 7              | 6              |                          |                          | 14           |
| Antiinflamatório não esteróide                 |                |                | 3              |                |                          |                          | 3            |
| Antilipêmicos                                  |                |                | 2              |                |                          |                          | 2            |
| Antiobesidade                                  |                |                | 1              | 1              |                          | 1                        | 3            |
| Antiprotozoário sistêmico                      |                |                | 1              | 1              |                          |                          | 2            |
| Anti-séptico tópico                            |                |                | 5              |                |                          |                          | 5            |
| Antivertiginoso                                |                |                | 1              |                |                          |                          | 1            |
| Benzodiazepínico                               |                |                | 12             |                |                          |                          | 12           |
| Catárticos                                     |                |                | 3              |                |                          |                          | 3            |
| Corticosteróides de uso sistêmico              |                |                | 1              |                |                          |                          | 1            |
| Diuréticos                                     |                |                | 1              |                |                          |                          | 1            |
| Estimulantes do SNC                            |                |                | 2              |                |                          |                          | 2            |
| Fármacos antiemexaueca                         |                |                | 2              |                |                          |                          | 2            |
| Fármacos para hipotireoidismo                  |                |                | 1              |                |                          |                          | 1            |
| Fármacos para resfriado                        |                |                | 1              |                |                          |                          | 1            |
| Fármacos para pele, mucosas e<br>fâneros       |                |                | 9              | 2              |                          |                          | 11           |
| Fármacos que afetam a calcificação             |                |                | 2              |                |                          |                          | 2            |
| Hormônios sexuais e análogos                   |                |                |                | 1              |                          |                          | 1            |
| Neurolépticos                                  |                |                | 4              |                |                          |                          | 4            |
| Sedativo-hipnótico                             |                |                | 1              |                |                          |                          | 1            |
| Vasodilatador                                  |                |                | 1              |                |                          |                          | 1            |
| Vitaminas                                      |                |                | 4              |                |                          |                          | 4            |
| <b>Total medicamentos</b>                      |                | <b>1</b>       | <b>89</b>      | <b>16</b>      | <b>2</b>                 | <b>1</b>                 | <b>109</b>   |
| <b>Produtos veterinários</b>                   |                |                |                |                |                          |                          |              |
|  | <b>Bovinos</b> | <b>Caninos</b> | <b>Felinos</b> | <b>Outros</b>  | <b>Sem<br/>definição</b> | <b>Total</b>             |              |
| Medicamentos veterinários                      | 1              | 13             | 2              | 2              |                          | 18                       |              |
| Pesticida veterinário                          |                | 53             | 5              | 6              | 3                        | 67                       |              |
| Produtos veterinários - outros                 |                | 6              | 4              | 1              |                          | 11                       |              |
| <b>Total de produtos veterinários</b>          | <b>1</b>       | <b>72</b>      | <b>11</b>      | <b>9</b>       | <b>3</b>                 | <b>96</b>                |              |
| <b>Total de medic. e produtos veterinários</b> | <b>2</b>       | <b>161</b>     | <b>27</b>      | <b>11</b>      | <b>4</b>                 | <b>205</b>               |              |

Tabela 9. Casos de intoxicação animal por animais venenosos, peçonhentos e outros animais registrados em 2006 no CIT/RS.

| <b>Classe</b>   | <b>Aves</b> | <b>Bovinos</b> | <b>Caninos</b> | <b>Felinos</b> | <b>Outros</b> | <b>Total</b> |
|---|-------------|----------------|----------------|----------------|---------------|--------------|
| Insetos/peçonhentos/venenosos                           |             |                | 6              | 1              |               | 7            |
| Lagarta peçonhenta/venenosa                             |             |                |                | 1              |               | 1            |
| <b>Total de insetos e outros animais</b>                |             |                | <b>6</b>       | <b>2</b>       |               | <b>8</b>     |
| <i>Loxosceles</i>                                       |             |                |                | 1              |               | 1            |
| <i>Phoneutria</i>                                       |             |                | 3              |                | 1             | 4            |
| Aranha ignorada   |             |                | 6              |                |               | 6            |
| <i>Bothriurus</i> sp                                    |             |                | 4              |                | 1             | 5            |
| <i>Tityus</i> sp  |             |                | 1              |                |               | 1            |
| Escorpião outro   |             |                | 1              |                |               | 1            |
| <b>Total de aracnídeos</b>                              |             |                | <b>15</b>      | <b>1</b>       | <b>2</b>      | <b>18</b>    |
| <i>Bothrops</i>   |             | 1              | 26             |                | 4             | 31           |
| <i>Crotalus</i>   |             |                | 1              |                |               | 1            |
| <i>Micrurus</i>   |             |                |                | 1              | 1             | 2            |
| <b>Total de ofídios</b>                                 |             | <b>1</b>       | <b>27</b>      | <b>1</b>       | <b>5</b>      | <b>34</b>    |
| Animais peçonhentos/venenosos ignorado                  |             |                | 7              |                | 1             | 8            |
| Animais peçonhentos/venenosos outros                    |             |                | 9              |                |               | 9            |
| <b>Total de animais venenosos, peçonhentos e outros</b> |             | <b>1</b>       | <b>64</b>      | <b>4</b>       | <b>8</b>      | <b>77</b>    |

Tabela 10. Casos de intoxicação animal por plantas tóxicas registrados em 2006 no CIT/RS.

| <b>Classe</b>            | <b>Aves</b> | <b>Bovinos</b> | <b>Caninos</b> | <b>Felinos</b> | <b>Outros</b> | <b>Sem identificação</b> | <b>Total</b> |
|--------------------------|-------------|----------------|----------------|----------------|---------------|--------------------------|--------------|
| Cogumelos/Fungos tóxicos |             |                | 2              |                |               |                          | 2            |
| Plantas outras           |             |                | 3              | 2              |               |                          | 5            |
| Plantas medicinais       |             |                |                | 1              |               |                          | 1            |
| Plantas tóxicas          | 1           | 2              | 52             | 7              | 2             | 1                        | 65           |
| <b>Total de plantas</b>  | <b>1</b>    | <b>2</b>       | <b>57</b>      | <b>10</b>      | <b>2</b>      | <b>1</b>                 | <b>73</b>    |

Tabela 11. Casos de intoxicação animal por domissanitários registrados em 2006 no CIT/RS.

| <b>Classe</b>                                   | <b>Caninos</b> | <b>Felinos</b> | <b>Outros</b> | <b>Sem identificação</b> | <b>Total</b> |
|---|----------------|----------------|---------------|--------------------------|--------------|
| Alvejantes / desinfetantes liberadores de cloro | 15             | 2              | 1             | 1                        | 19           |
| Desentupidor                                    | 5              | 1              |               |                          | 6            |
| Desinfetantes - antimicrobianos / aldeídos      | 4              |                |               |                          | 4            |
| Desinfetantes - antimicrobianos / fenólicos     | 5              | 7              |               |                          | 12           |
| Desinfetantes - antimicrobianos / quaternários  | 3              | 1              |               |                          | 4            |
| Detergentes, limpadores e congêneres            | 1              |                |               |                          | 1            |
| Óleos saneantes domissanitários                 |                | 2              |               |                          | 2            |
| Propelentes - uso doméstico                     | 1              | 1              |               |                          | 2            |
| Removedores de mancha / ferrugem                | 1              |                |               |                          | 1            |
| Sapóleos / saponáceos                           | 1              |                | 1             |                          | 2            |
| Tensoativo aniônico                             | 6              | 1              | 1             |                          | 8            |
| Tensoativo catiônico                            | 1              |                |               |                          | 1            |
| <b>Total de domissanitários</b>                 | <b>43</b>      | <b>15</b>      | <b>3</b>      | <b>1</b>                 | <b>62</b>    |

Tabela 12. Casos de intoxicação animal por produtos químicos industriais registrados em 2006 no CIT/RS.

| <b>Classe</b>                        | <b>Aves</b> | <b>Caninos</b> | <b>Felinos</b> | <b>Outros</b> | <b>Sem definição</b> | <b>Total</b> |
|--------------------------------------|-------------|----------------|----------------|---------------|----------------------|--------------|
| Alcalis                              | 1           | 3              | 1              |               | 1                    | 6            |
| Colas e adesivos                     |             | 3              | 1              |               |                      | 4            |
| Combustíveis                         |             |                | 2              |               |                      | 2            |
| Gases                                |             | 5              | 12             |               |                      | 17           |
| Hidrocarbonetos                      |             | 17             |                |               | 1                    | 18           |
| Óleos                                |             | 1              |                |               |                      | 1            |
| Poeiras                              |             | 3              |                |               |                      | 3            |
| Polímeros                            |             | 4              |                |               |                      | 4            |
| Produtos químicos - Outros           |             | 2              | 1              |               |                      | 3            |
| Tintas/ Vernizes                     |             | 7              |                |               |                      | 7            |
| <b>Total de químicos industriais</b> | <b>1</b>    | <b>45</b>      | <b>17</b>      | <b>1</b>      | <b>1</b>             | <b>65</b>    |

Tabela 13. Casos de intoxicação animal por outros agentes toxicantes registrados em 2006 no CIT/RS.

| <b>Classe</b>                  | <b>Caninos</b> | <b>Felinos</b> | <b>Total</b> |
|--------------------------------|----------------|----------------|--------------|
| Metais/chumbo                  | 1              |                | 1            |
| Drogas de abuso                | 7              |                | 7            |
| Cosméticos/toalete             | 2              |                | 2            |
| Diversão/ recreação            | 1              |                | 1            |
| Miscelânea                     | 4              | 1              | 5            |
| Outros                         | 5              |                | 5            |
| <b>Total de outros agentes</b> | <b>20</b>      | <b>1</b>       | <b>21</b>    |

## 8. Aspectos clínicos das intoxicações

### 8.1 Animais peçonhentos e venenosos

Animais venenosos são aqueles capazes de produzir substâncias ativas ou tóxicas em quantidade suficiente para causar efeitos nocivos no homem e/ou nos animais, quando expostos. Animais peçonhentos, assim como os venenosos, produzem substâncias tóxicas, além disso, possuem estruturas capazes de inocular as toxinas.

Dentre os animais peçonhentos e/ou venenosos de interesse toxicológico em veterinária pode-se citar: serpentes, aranhas, escorpiões, lagartas, abelhas e sapos. Para o estabelecimento do diagnóstico correto são necessários conhecimentos sobre habitats, hábitos alimentares, comportamento destes agentes tóxicos em potencial, bem como os sinais deixados pelo contato e os sinais clínicos decorrentes dos efeitos da ação do veneno.

#### 8.1.1 Artrópodos

##### 8.1.1.1 Aracnídeos

Apesar de raros os acidentes com aracnídeos em animais, exceto os causados pela aranha armadeira, devido a sua agressividade natural e tamanho razoável atrai pequenos animais bravos ou curiosos, o conhecimento das espécies potencialmente nocivas existentes em nosso meio pode ser útil.

#### Aranhas

Dentre as espécies peçonhentas comuns no Rio Grande do Sul, pode-se citar:

- aranha caranguejeira, *Gramostola* sp (Figura 4): de grande porte, com o corpo coberto por pêlos capazes de provocar dermatite urticante, se em contato com a pele, ou mesmo dor no local da picada pelas enormes quelíceras que a mesma apresenta;



Figura 4. Aranha *Gramostola* sp. (caranguejeira).

- aranha-de-jardim, *Lycosa* sp (Figura 5): caracterizada por apresentar um desenho em forma de seta no abdômen, e um veneno de baixa toxicidade;





Figura 5. Aranha *Lycosa* sp. (aranha-de jardim).

- aranha marrom, *Loxosceles* sp. (Figura 6): de pequeno porte, não agressiva, mas com veneno de alta toxicidade, entretanto, só pica quando comprimida, o que limita o número de acidentes com animais; a toxina é potente causando uma necrose intensa no local da picada, que se inicia cerca de 12 horas após o acidente, podendo evoluir clinicamente para um quadro de insuficiência renal.



Figura 6. Aranha *Loxosceles* sp. (aranha marron).

- Aranha armadeira, *Phoneutria* sp. (Figura 7): extremamente agressiva, podendo saltar cerca de 30cm, veneno bastante tóxico, podendo causar acidente fatal em pequenos animais;
  - **Sinais clínicos:** dor intensa no local da picada (frequentemente boca ou focinho), lacrimejamento, midríase, sialorréia, tremores musculares, ataxia, prostração, vômitos e priapismo (ereção do pênis por várias horas), ejaculação, dispnéia, fezes sanguinolentas e ocasionalmente, morte;
  - **Tratamento:** não há soro específico disponível para utilização em animais no Brasil, a terapia de suporte inclui: analgesia potente, antiinflamatório (não esteróide ou corticosteróide), suporte respiratório e hidreletrolítico.



Figura 7. Aranha *Phoneutria* sp (armadeira).

## Escorpiões

Dentre as espécies peçonhentas de escorpiões, pode-se citar:

*Bothriurus bonariensis* (Figura 8), *Tityus costatus* (F 9A), *Tityus serrulatus* (Figura 9B). Apesar dos acidentes com escorpiões em animais serem extremamente raros, é relevante conhecer as espécies e seu potencial de toxicidade. O escorpião preto, *Bothriurus* sp. é caracterizado por apresentar pinças robustas e unhas curtas, já as espécies de *Tityus*, apresentam pinças finas e unhas longas, sendo que no *T. costatus* o corpo amarelo é coberto por manchas marrons. Nos casos de acidentes com os escorpiões nativos do Rio Grande do Sul como *Bothriurus* sp ou *Tityus costatus*, devido à baixa toxicidade do veneno, o principal sintoma é a dor local; esta pode ser tratada com analgésicos ou mesmo anestésicos locais. No caso de acidentes com *Tityus serrulatus* (não nativo do RGS), que pode ocorrer quando estes animais entram no Rio Grande do Sul através de carregamento de frutas, lenha,... pode ocorrer quadro clínico severo de neurotoxicidade periférica e morte; não há soro específico disponível para administração em animais no Brasil, em caso de acidente o tratamento deve ser sintomático e incluir: analgésicos potentes para o controle da dor, evitando o choque neurogênico.



Figura 8. Escorpião *Bothriurus bonariensis* (escorpião preto).



A



B

Figura 9. A - *Tityus costatus*; B - *Tityus serrulatus* (escorpião amarelo).

### 8.1.1.2 Insetos

#### Ordem Hymenoptera

Acidentes com abelhas, marimbondos e vespas de modo geral são benignos, entretanto, se estes envolverem um número elevado de picadas como no caso de abelhas africanas, quase sempre são fatais. Usualmente estes animais ficam em locais afastados e sua presença pode ser identificada pela presença de ninhos de barro ou colméias (incluindo as caixas de criação comercial). Os acidentes ocorrem freqüentemente quando os animais perturbam os ninho, ou mesmo quando fuçam nas flores ou em resíduos de alimentos doces. As substâncias não estão bem identificadas, mas podem conter ácido fórmico. Todas as espécies animais são suscetíveis.

**Sinais clínicos:** edema e calor local, dor leve à intensa, se múltiplas picadas, anafilaxia e morte.

**Diagnóstico:** pela presença dos ferrões ou sinais clínicos característicos, associados a possível presença destes animais no ambiente. As lesões persistem por 24 à 48h.

**Tratamento:** suporte de emergência em caso de choque anafilático com respiração assistida, epinefrina, corticosteróides e analgésicos; em casos leves a moderados, a terapia inclui anti-histamínicos, corticosteróides, analgésicos e em alguns casos, anestésicos locais.

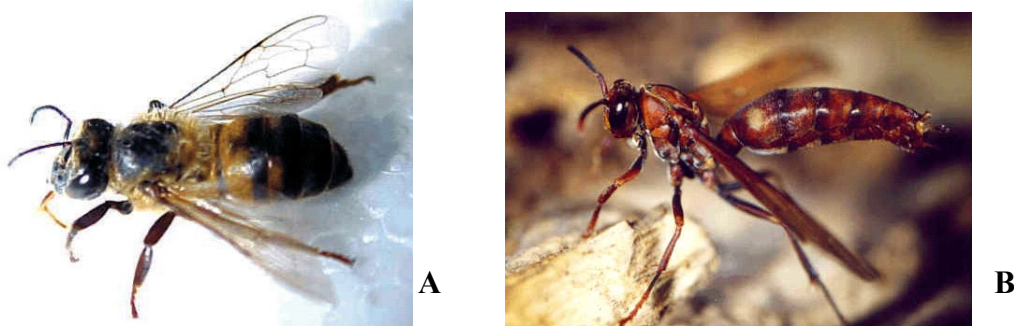


Figura 10. A – *Apis mellifera* (Abelha); B - vespa.

### 8.1.2 Sapos

A exposição ocorre principalmente quando cães atacam e mordem os sapos. As substâncias tóxicas com ação glicosídica cardioativa e ocitócica são as bufotoxinas e bufoteninas. As toxinas produzidas pelas glândulas de veneno distribuídas ao longo da superfície dorsal do sapo são liberadas ao serem comprimidas durante a mordida, e o veneno que é rapidamente absorvido pela mucosa oral, provocando alterações digestivas, cardíacas e neurológicas.

**Sinais clínicos:** salivação, vômitos, midríase, hipertensão, fibrilação ventricular, agitação da cabeça, incoordenação motora, desorientação e convulsões, a fibrilação ventricular precede a morte por insuficiência cardíaca.

**Diagnóstico:** histórico de exposição ao animal e sinais clínicos característicos.

- **Laboratorial:** aumento de hematócrito, hiperpotassemia, hipercalcemia, hiperglicemia e redução dos leucócitos.

**Tratamento:** descontaminar enxaguando abundantemente a boca e administrando carvão ativado; administrar propranolol (2 mg/kg) para controlar a arritmia cardíaca e atropina para controlar a broncoconstrição e sialorréia; diazepam no controle das convulsões.



Figura 11. Sapo da espécie *Chaunus ictericus*.

### 8.1.3 Ofídios

As principais serpentes peçonhentas do Rio Grande do Sul são: *Bothrops jararaca*, *B. alternatus*, *B. cotiara*, *B. neuwied*, *Crotalus durissus terrificus*, *Micrurus altirostris* e *M. frontalis*. Na Figura 12 pode-se observar as características principais das serpentes peçonhentas como a presença de fosseta loreal (orifício sensorial térmico), localizada entre as narinas e os olhos e as presas inoculadoras de veneno anteriores e flexíveis (proteróglifas). Exceto as serpentes do gênero *Micrurus* que não apresentam a fosseta loreal e têm suas presas inoculadoras pequenas, fixas e mais laterais (opistóglifas). Estas últimas são identificadas pelos anéis completos brancos, vermelhos e pretos, alternadamente dispostos ao redor de seu corpo (Figura 13). Na Figura 14, encontram-se as serpentes do gênero *Bothrops*, sendo a Figura 14A, representativa da *B. alternatus* que possui seus desenhos em forma de gancho de telefone e a *B. jararaca* (Figura 14B), em forma de “V”.

A Figura 15 apresenta a serpente *Crotalus durissus terrificus* com a sua característica distintiva, o chocalho na ponta da cauda.

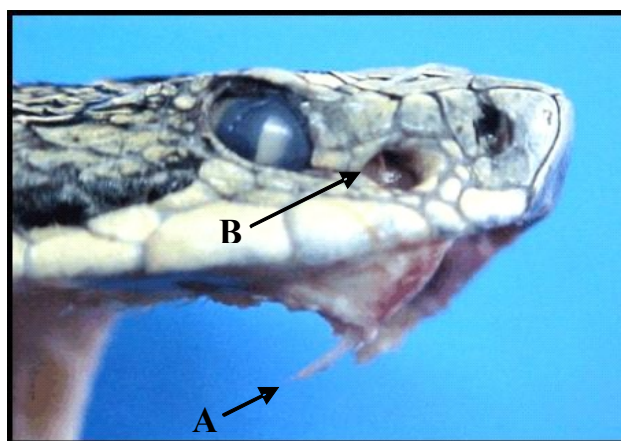


Figura 12. Características de ofídio peçonhento: presas inoculadoras<sup>(A)</sup> e fosseta loreal<sup>(B)</sup>.

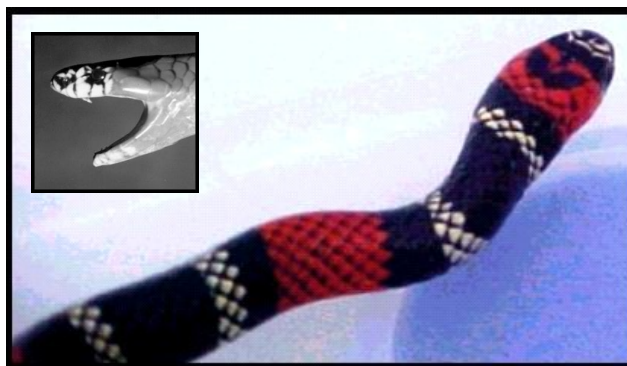


Figura 13. Características das serpentes do gênero *Micrurus*: presas inoculadoras e anéis completos ao redor do corpo.



A



B

Figura 14. Serpentes do gênero *Bothrops*: “A” *B. alternatus* e “B” *B. jararaca*.



Figura 15. Características da serpente *Crotalus durissus terrificus*.

O habitat e os hábitos destas serpentes influenciam na casuística. As serpentes do gênero *Bothrops* são as responsáveis pela maioria dos acidentes ofídicos, por serem agressivas e de habitats diversos, incluindo as margens de rios, periferia de cidades, locais ricos em roedores (alimento). Já as serpentes do gênero *Crotalus*, apesar de agressivas, habitam campos abertos, áreas secas, arenosas e ao sentirem-se ameaçadas emitem um ruído característico com o chocalho, sendo assim, o índice de acidentes com estas é menor do que as anteriores. Mas sem dúvida nenhuma os menos frequentes, são os acidentes por serpentes do gênero *Micrurus*, devido a sua docilidade, sua preferência por ambientes florestais, buracos, tocas, ou mesmo pela característica de suas presas e tamanho da sua boca, que dificulta a picada na maioria das regiões do corpo e frente a muitas espécies.

Os acidentes com serpentes em veterinária podem sofrer variações relativas à espécie animal exposta. A sensibilidade dos animais domésticos foi avaliada experimentalmente por Araújo e Belluomini (1960), frente ao veneno de serpentes: *Bothrops jararaca*, *B. alternatus*, *B. cotiara*, *B. neuwied*, *Crotalus durissus terrificus*, entre outras. Equinos, ovinos e bovinos foram os mais sensíveis e revelam altas taxas de mortalidade, seguidos pelos caprinos, caninos, coelhos e suínos, sendo os gatos, os mais resistentes. O edema do envenenamento botrópico foi característico e acentuado no

local da picada na maioria das espécies, exceto nos gatos. No envenenamento crotálico, o edema foi mais discreto em eqüinos e caninos. A necrose foi observada no envenenamento botrópico em bovinos, caninos e coelhos. O risco de vida para bovinos foi maior nos acidentes por *Crotalus durissus terrificus*, *Bothrops cotiara* e *B. alternatus*, pela capacidade de inoculação de grandes volumes de veneno.

Segundo Bicudo (1994), os fatores mais relevantes destes acidentes incluem: a espécie de serpente e o tamanho da mesma (quantidade de veneno inoculado), a espécie animal envolvida (incluindo o porte do animal), o local da picada, a intensidade dos sintomas e o tempo decorrido entre o acidente e o atendimento.

O mecanismo de ação é complexo e nas *Bothrops*, inclui respostas a frações proteolíticas (proteases, hialuronidases e fosfolipases), responsáveis pelo edema intenso e pela necrose, frações pró-coagulantes (que ativam o fator X e a protrombina, além de promover a conversão do fibrinogênio em fibrina) e frações hemorrágicas (hemorraginas). Nos acidentes crotálicos, há um importante componente miotóxico (que provoca rabdomiólise com liberação de mioglobina para o soro e posteriormente, para a urina) além de um neurotóxico (crotoxina que inibe a liberação pré-sináptica da acetilcolina gerando um bloqueio neuromuscular), e um componente coagulante (que promove a conversão do fibrinogênio em fibrina e secundariamente, esgota este fator de coagulação, conduzindo a hemorragias). Nos acidentes elapidicos, os principais componentes são neurotóxicos: neurotoxinas de ação pré-sinápticas (semelhante a crotoxina, que inibe a liberação pré-sináptica da acetilcolina gerando um bloqueio neuromuscular) e pós-sinápticas (bloqueadores neuromusculares de ação curarizante).

#### **Acidente botrópico**

**Sinais clínicos:** há edema intenso no local da picada, sendo este diretamente proporcional ao tempo transcorrido desde a inoculação, hemorragia no local da picada, e em casos mais graves, gengivorragia, epistaxe, hemoptise, hemorragias subcutâneas, intracavitárias e intracraniana; nestes casos a anemia é evidente; a dor no local da picada é intensa fazendo com que animais picados nos membros fiquem imóveis ou claudiquem; picadas no focinho podem gerar dificuldade respiratória em função do edema; as marcas da picada podem não ser observadas em função da pelagem ou do edema, outras vezes esta se torna evidente quando a hemorragia se inicia; a necrose é um sinal tardio. Acidente por *Bothrops* filhote pode cursar com edema leve e sem sinal característico da picada, mas com hemorragia.

**Diagnóstico:** inclui os sinais clínicos característicos (edema, hemorragia,...) associados aos detalhes referentes à epidemiologia, habitat e hábitos deste gênero e as alterações hematológicas.

- **Laboratorial:** o tempo de coagulação está aumentado e as plaquetas reduzidas; importante avaliar a creatinina como forma de monitorar a função renal.

**Tratamento:** soro antiofídico (Bio-Vet ou Vencofarma) polivalente (antibotrópico e anticrotálico), administrado por via IV, em doses suficientes para neutralizar a ação da peçonha inoculada (em média: *Bothrops jararaca*: 65mg; *B. alternatus*: 130mg e *Crotalus*: 50mg - Bio-Vet/50 mL: poder neutralizante de 50mg de veneno botrópico e 50mg de crotálico; Vencofarma/10 mL: poder neutralizante de 20mg de veneno botrópico e 10mg de crotálico) e portanto, não se relacionando com a massa corporal do animal; as medidas de suporte incluem auxílio respiratório, anti-histamínicos, analgésicos, antimicrobianos, terapia hidreletrolítica e transfusão sanguínea (se necessária, somente após soroterapia específica).

#### **Acidente crotálico**

**Sinais clínicos:** prostração, parestesias, um sinal característico é a oftalmoplegia (paralisia dos músculos do globo ocular), facilmente evidenciada rotando-se a cabeça dos bovinos, circunstância na qual se espera que o globo ocular gire em sentido oposto, mas este gira no mesmo sentido, não revelando nitidamente a esclerótica; urina cor de café devido a mioglobulinúria em decorrência da rabdomiólise; os sinais locais são pouco evidentes e a dor é de difícil interpretação uma vez que a resposta muscular encontra-se prejudicada.

**Diagnóstico:** inclui os sinais clínicos característicos (prostração, parestesia, oftalmoplegia,...) associados aos detalhes referentes à epidemiologia, habitat e hábitos deste gênero e as alterações hematológicas e urinárias.

- **Laboratorial:** creatininaquinase aumentada; a creatinina pode aumentar em decorrência de uma possível insuficiência renal.

**Tratamento:** soroterapia antiofídica como citada para acidente botrópico e medidas de suporte que incluem: lubrificação ocular e bucal, alternar decúbito, terapia hidreletrolítica, alcalinizar o pH urinário (7 ou mais) para evitar precipitação da mioglobina nos túbulos renais.

#### **Acidente elapídico**

**Sinais clínicos:** prostração, fraqueza muscular, oftalmoplegia, paralisia flácida do diafragma, com dispnéia seguida de morte por parada respiratória.

**Diagnóstico:** inclui os sinais clínicos característicos (prostração, fraqueza muscular, oftalmoplegia, dispnéia,...) associados aos detalhes referentes à epidemiologia, habitat e hábitos deste gênero.

**Tratamento:** não há soroterapia específica disponível; especial atenção deve ser dada ao sistema respiratório.

### **8.2 Plantas tóxicas ornamentais e de interesse pecuário**

Plantas tóxicas são aquelas que contém produtos fisiologicamente ativos ou substâncias tóxicas em quantidade suficiente para causar efeitos nocivos no homem e/ou nos animais. Estas podem ser nativas ou cultivadas, ornamentais, medicinais ou invasoras. Tanto as ornamentais quanto às de interesse pecuário são influenciadas por determinados fatores capazes de interferir na toxicidade:

- tipo de solo;
- nutrientes;
- fase evolutiva;
- clima;
- parte da planta.

Dentre os aspectos que caracterizam as plantas tóxicas, pode-se citar:

- algumas plantas necessitam de grandes quantidades ou exposição prolongada para manifestar efeitos tóxicos;
- os efeitos nem sempre são precoces;
- nem sempre as plantas causam alterações digestivas como timpanismo / diarreia;

No estudo das plantas tóxicas é relevante atentar para os seguintes critérios de classificação:

- regional;
- conforme o quadro clínico-patológico;
- conforme as famílias botânicas;
- conforme os princípios ativos tóxicos.

Para o estabelecimento do diagnóstico correto são importantes:

- cuidados com os nomes populares;
- quadros clínicos vagos;
- inspeção da pastagem;
- exames laboratoriais como exame de conteúdo gástrico, histopatológico;
- ensaios biológicos em animais modelo;
- identificação botânica.

#### **Oxalato de cálcio**

##### **Família: Araceae**

*Diefenbachia picta* - Comigo-ninguém-pode

*Anturium andraeanum* – Antúrio vermelho

*Anturium ornatum* – Antúrio branco

*Zantedeschia aethiopica* - Copo-de-leite

**Princípio ativo:** ráfides de oxalato de cálcio.

**Quadro clínico:** dor em queimação, edema de mucosas, sialorréia, disfagia, náuseas e vômitos. dermatite de contato. contato com olhos: lacrimejamento, fotofobia.

**Tratamento:** demulcentes, analgésicos, corticosteróides.

**Família Liliaceae**

*Sansevieria trifasciata* – Espada-de-São Jorge

**Características:** folhas grandes, eretas, verde-escuras, com faixas transversais ou manchas brancas; flores verde-claras.

**Princípio ativo:** ráfides de oxalato de cálcio.

**Quadro clínico:** dor em queimação, edema de mucosas, sialorréia, disfagia, náuseas e vômitos. dermatite de contato; contato com olhos: lacrimejamento, fotofobia.

**Tratamento:** demulcentes, analgésicos, corticosteróides.



Figura 16. A - *Dieffenbachia* sp. (Comigo-ninguém-pode); B – *Zantedeschia aethiopica* (Copo-de-leite).

**Glicosídeos cardiotóxicos**

**Família:** Scrophulariaceae

*Digitalis purpurea* - Dedaleira

**Princípio ativo:** digitoxina

**Quadro clínico:** náuseas, vômitos, cólicas abdominais, diarreia muco-sanguinolenta; alterações visuais, tontura, perda do equilíbrio, midríase, sonolência e coma; alterações de ritmo cardíaco, taquicardia, fibrilação atrial ou ventricular e hipotensão.

**Tratamento:** sintomático: antiespasmódicos, antieméticos e antiarrítmico; protetor de mucosas. Monitoramento cardíaco.

**Família:** Apocynaceae

*Nerium oleander* - Espirradeira

**Princípios ativos:** oleandrina, nerioside e folineurina.

*Thevetia nerifolia* – Chapéu-de-napoleão

**Quadro clínico:** semelhante à intoxicação digitalica; distúrbios neurológicos e cardiovasculares.

**Tratamento:** sintomático: antiespasmódicos, antieméticos e antiarrítmico; protetor de mucosas. Monitoramento cardíaco.





A



B

Figura 17. A – *Nerium oleander* (Espirradeira); B – *Digitalis purpurea* (Dedaleira).

#### Látex irritante

##### Família Euphorbiaceae

*Euphorbia pulcherrima* - Bico-de-papagaio

*Euphorbia cotinifolia* - Leiteiro-vermelho

*Euphorbia milii* - Coroa-de-Cristo

**Características da Coroa-de-Cristo:** arbusto com numerosos espinhos rígidos e pontiagudos, flores pequenas e avermelhadas, dispostas na ponta dos ramos.

**Princípio ativo:** latex irritante.

**Quadro clínico:** eritema, vesículas e pústulas, edema de lábios e língua, dor, sialorréia, lesões de mucosas faringiana, esofágica e gástrica; disfagia, náuseas e vômitos; conjuntivite.

**Tratamento:** demulcentes, analgésicos, corticosteróides.



A



B

Figura 18. A – *Euphorbia milii* (Coroa-de-cristo); B – *Euphorbia pulcherrima* (Bico-de-papagaio).

## Glicosídeos saponínicos

### Família Meliaceae

*Melia azedarach* - Cinamomo

**Características:** flores pequenas, de coloração lilás; fruto ovóide, pequeno, mole, esbranquiçado e de cheiro desagradável.

**Princípio ativo:** glicosídeos saponínicos.

**Quadro clínico:** distúrbios gastrintestinais, distúrbios hidroeletrólíticos; confusão mental, ataxia, torpor e coma.

**Tratamento:** esvaziamento gástrico; demulcentes, hidratação, benzodiazepínicos, se convulsões.



Figura 19. *Melia azedarach* (Cinamomo)

## Glicosídeos cianogênicos

### Família Euphorbiaceae

*Manihot esculenta* - Mandioca-brava

**Princípio ativo:** linamarina e lotaustralina.

**Quadro clínico:** distúrbios gastrintestinais, neurológicos e respiratórios.

**Tratamento:** nitrito de amila (inalação); nitrito de sódio 3%; hipossulfito de sódio 25%; azul de metileno: 1 -2 mg IV; corrigir distúrbios hidroeletrólíticos.

*Hydrangea macrophylla* - Hortências

**Quadro clínico:** distúrbios gastrintestinais; neurológicos; respiratórios.

**Tratamento:** nitrito de amila (inalação); nitrito de sódio 3% ; azul de metileno: 1 -2 mg IV; hipossulfito de sódio 25%; corrigir distúrbios hidroeletrólíticos.



Figura 20. *Manihot esculenta* (Mandioca-brava).

## Toxalbumina

### Família Euphorbiaceae

*Ricinus communis* - mamona

**Características:** arbusto com até 2m de altura, folhas palmatiformes, com bordas serradas, verdes ou vermelho-escuras, frutos arredondados e espinhosos.

**Princípios ativos:** toxalbumina ricina, alcalóide ricinina.

**Quadro clínico:** náuseas, queimação na garganta, vômitos, diarreia mucossanguinolenta e cólicas abdominais; **reações alérgicas:** conjuntivite, coriza, dermatites, eczemas, asma brônquica.

**Tratamento:** esvaziamento gástrico, carvão ativado, fluidoterapia e tratamento das reações alérgicas.



Figura 21. *Ricinus communis* (Mamona).

## Uroshiois

### Família: Anacardiaceae

*Lithraea brasiliensis* – aroeira-brava

**Princípio ativo:** uroshiois - substâncias hipersensibilizantes.

**Quadro clínico:** dermatite, eritema, pápulas, vesículas e prurido intenso.

**Tratamento:** para reação alérgica anti-histamínicos, corticosteróides, antissépticos e analgésicos. No caso de ingesta, usar demulcentes.

### Família Euphorbiaceae

*Jathropa curcas* - Pinhão-de-purga

**Características:** arbusto, com flores esverdeadas e fruto esférico de cor amarelo-esverdeada.

**Princípio ativo:** cursina.

**Quadro clínico:** náuseas, queimação na garganta, vômitos, diarreia mucossanguinolenta e cólicas abdominais; **reações alérgicas:** conjuntivite, coriza, dermatites, eczemas, asma brônquica.

**Tratamento:** esvaziamento gástrico e hidratação para evitar distúrbios hidroeletrólitos e diminuir os riscos de complicações cardiovasculares, neurológicas e renais; usar antiespasmódicos, antieméticos e

antidiarréicos; lesões na pele e mucosas - descontaminação local e usar soluções antissépticas suaves, analgésicos, anti-histamínicos ou corticóides.

**Família: Solanaceae**

*Atropa belladonna* – Dama da noite

*Datura stramonium* – Figueira-do-inferno

*Brugmansia suaveolens* - Cartucheira

**Princípios ativos:** daturina (hioscina, atropina)

**Quadro clínico:** anticolinérgico - diminuição das secreções, pele e mucosas secas, midríase, com visão alterada; vômitos e alteração de conduta.

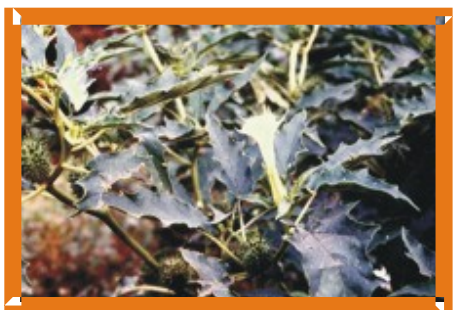
**Tratamento:** esvaziamento gástrico, carvão ativado; sintomático com parassimpaticomiméticos (fisostigmina), sedativos e compressas frias.



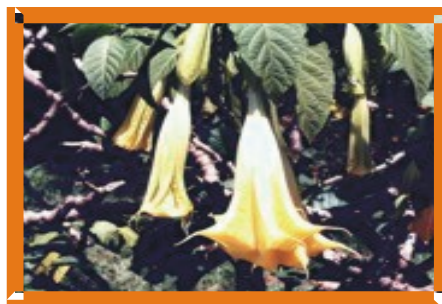
A



B



C



D

Figura 22. A - *Lithraea brasiliensis* (Aroeira-brava); B - *Jatropha curcas* (Pinhão-de-purga); C - *Datura stramonium* (Figueira-do-inferno); D - *Brugmansia suaveolens* (Cartucheira).

**Alcalóides pirrolizidínicos**

**Família Compositae**

*Senecio brasiliensis* - Maria-mole

Princípio ativo: alcalóides pirrolizidínicos.

**Quadro clínico:** anorexia, náuseas, vômitos, dor e distensão abdominal, flatulência, edema de membros inferiores, diarreia, ascite, hepatoesplenomegalia, cirrose hepática, icterícia, hemorragia gastrointestinal e encefalopatia; emagrecimento, agressividade, incordenação motora, tenesmo e fotossensibilização; alterações centrais são mais evidentes nos equinos que nos bovinos.

**Análise laboratorial:** elevação de bilirrubinas e transaminases: gama-glutamil transferase pode ser eficiente para estabelecimento de prognóstico nos animais assintomáticos. Os alcalóides pirrolizidínicos podem ser detectados por cromatografia de camada delgada. Elevação da enzima glutamato desidrogenase, da fosfatase alcalina e da gama-glutamil transferase.

**Patologia:** oclusão dos pequenos ramos da veia hepática por colágeno e formação de canaliculos pelos sinusóides dilatados; congestão maciça centrolobular e necrose; lesões primárias no fígado que

consistem em fibrose portal, megalocitose, necrose hepatocelular, hiperplasia do ducto biliar, estase biliar e hiperplasia nodular; cirrose hepática e edema pulmonar.

**Tratamento:** não fazer esvaziamento gástrico; corticóides.

#### **Família Boraginaceae**

*Symphytum officinale* - Confrei

**Características:** erva perene de 50 cm de altura; folhas grandes, alternadas, ovaladas, grossas e pilosas.

**Quadro clínico:** distúrbios gastrintestinais; hepatite tóxica (cirrose, icterícia e encefalopatia); fotossensibilização.

**Análise laboratorial:** elevação das aminotransferases, hipoglicemia, hiperbilirrubinemia e coagulopatias.

**Tratamento:** esvaziamento gástrico; correção da hipoglicemia; controlar a ascite; necrose hepática severa é sinal de mau prognóstico e o manejo é o mesmo dispensado para a insuficiência hepática fulminante.



A



B

Figura 23. A - *Senecio brasiliensis* (Maria-mole); B - *Symphytum officinale* (Confrei).

#### **Plantas calcinogênicas**

##### **Família Solanaceae**

*Solanum malacoxylon*

**Características:** intoxica bovinos, ovinos, eqüinos e suínos.

**Princípio ativo:** glicosídeo esteroidal, que após hidrólise, torna-se um metabólito ativo da Vitamina D.

**Quadro clínico:** início dos sintomas em poucas semanas após o começo da ingestão, hipercalcemia e hiperfosfatemia ocorrem rapidamente (horas). A morte pode ocorrer em um mês (0,8g/kg/semana) ou até anos (0,16g/kg/semana). Alguns animais podem mostrar apenas perda de massa corporal progressiva e dificuldades de locomoção, que se prolongada o animal acaba morrendo.

**Diagnóstico diferencial:** *Nierembergia veitchii* e Vitamina D.

**Patologia:** calcificação da aorta abdominal e artéria renal, calcificação da mitral e válvula aórtica, calcificação pulmonar.

**Tratamento:** não há tratamento específico; retirar da exposição (recuperação parcial).

*Nierembergia veitchii*

**Características:** rasteira e por isso intoxica ovinos.

**Princípio ativo:** com atividade de Vitamina D.

**Quadro clínico:** início tardio (30 – 60d), hiperexcitabilidade, depravação do apetite, diarréia ocasional, rigidez e dificuldade locomotora; dispnéia, pulso arterial palpável evolução crônica (morte em 4 meses). A morte ocorre geralmente após 2-3 meses de curso clínico, no entanto alguns animais

podem morrer subitamente se exercitados vigorosamente. Alguns rebanhos podem mostrar apenas perda de peso e falha em ganhar peso de outubro a fevereiro e se recuperam após o desaparecimento da planta.

**Diagnóstico diferencial:** *Solanum malacoxylon*, Vitamina D

**Patologia:** calcificação da aorta abdominal e artéria renal, calcificação da mitral e válvula aórtica, calcificação pulmonar.

**Tratamento:** não há tratamento específico; retirar da exposição (recuperação parcial).

## Tricotecenos

### Família Compositae

*Baccharis coridifolia* - Mio-mio

**Princípio ativo:** tricotecenos (roridinas A e E) absorvidos do solo.

**Quadro clínico:** efeito cáustico em mucosas do tubo digestivo de bovinos e ovinos; maior toxicidade na floração; anorexia, timpanismo, ausência de movimentos ruminais; tremores musculares, gemidos (dor). Morbi-mortalidade altas.

**Patologia:** congestão, hemorragia e edema das paredes do intestino, dos pré-estômagos; degeneração e necrose de epitélios.

**Tratamento:** carvão ativado, remoção da pastagem contaminada, tratar o timpanismo.

## Saponinas

### Família Leguminosae

*Enterolobium spp* - Timbaúva, Orelha-de-macaco

**Princípio ativo:** saponina esteroideal.

**Quadro clínico:** anorexia, fezes escuras e fétidas; icterícia – mucosa ocular; lesão de pele; bovinos são sensíveis em condições naturais e experimentais (favas maduras tem boa palatabilidade).

**Patologia:** degeneração hepática e de túbulos renais; hiperemia medular renal.

**Análise:** bilirrubinúria alta e filoeitritina sérica alta.

**Tratamento/ controle/profilaxia:** sombra, cicatrizantes, antidiarréicos.

## Tiaminase

*Pteridium aquilinum* -Samambaia, Samambaia-do-campo

**Características:** planta rizomatosa, bipinada, com folhas de aspecto coriáceo; folíolos lobados e em sua parte ventral mostra coleções de esporos marrons arranjados linearmente; a largura da planta é de 60-120cm e a altura de 60-180cm; habitat: cosmopolita, principalmente em solos arenosos e ácidos.

**Princípios ativos:** toxinas, agudamente suprimem a medula óssea (10 g/kg/dia por 3-4 semanas da planta verde); cronicamente, causam hematúria enzoótica (bovinos ingerindo <10 g/kg/dia, por cerca de dois anos).

**Quadro clínico da forma aguda:** aplasia de medula, anemia, hemorragias; bovinos afetados desenvolvem febre (41-42°C), palidez e petéquias nas mucosas. O curso clínico é agudo e muitos bovinos podem ser encontrados mortos; aqueles que vivem mais tempo acabam sucumbindo aos efeitos da hemorragia ou de anemia aplástica.

**Diagnóstico diferencial:** ingestão crônica de polpa cítrica, intoxicação por trevo doce, pasteurelose.

**Quadro clínico da forma crônica - hematúria enzoótica:** neoplasia de bexiga, hematúria intermitente ou contínua e acabam morrendo, devido à anemia; carcinoma de células escamosas do trato digestivo, a morte devido à extrema caquexia é o desenlace invariável nessa forma de intoxicação.

**Diagnóstico diferencial (hematúria):** leptospirose e intoxicação por *Brachiaria radicans*.

**Patologia:** massas teciduais de crescimento invasivo, nodulares, amareladas ou amarelo-acinzentadas e ulcerações são encontradas na base da língua, cárdia, esôfago e rúmen; carcinoma de células

escamosas: massa nodular invasiva na base da língua, massa nodular invasiva e ulcerada na entrada do rúmen.

*Pteridim aquilinum* em eqüinos:

**Princípio ativo:** tiaminase tipo I - provoca a inativação da tiamina.

**Quadro clínico:** incoordenação motora, tremores musculares, convulsões e sonolência.

**Tratamento:** Vitamina B1 (100mg/dia, durante uma semana).

## Cogumelos

*Amanita phalloides*

**Características:** chapéu ovóide e convexo, de 5 à 10cm de diâmetro, cor verde-amarelado ou esbranquiçado.

**Princípio ativo:** falotoxina, amatoxinas

**Quadro clínico:** distúrbios digestivos, câimbras, prostração, posteriormente hepatite, nefrite tubular.

**Tratamento:** sintomático com dieta hiperproteica, hipercalórica, hipogordurosa; correção dos distúrbios hidroeletrólíticos.

*Psilocibe sp*

**Características:** fungo conhecido como cogumelo mágico devido aos efeitos alucinógenos que provoca; cresce preferencialmente sobre estrume bovino.

**Princípio ativo:** derivados triptamínicos, responsáveis pela sua neurotoxicidade.

**Quadro clínico:** em eqüinos observou-se dor, cólicas, comportamento agressivo e excitabilidade; em cães, além dos sintomas observados nos eqüinos, temos afetado o sistema de regulação da temperatura corporal.

**Tratamento:** não se deve efetuar lavagem gástrica durante as alucinações; descanso, observação contínua do paciente para prevenir comportamento agitado ou perigoso durante as alucinações e sedação com benzodiazepínicos.

## Fitoestrógenos

*Trifolium subterraneum* – Trevo subterrâneo

**Princípio ativo:** isoflavonas.

*Medicago sativa* - Alfafa

**Princípio ativo:** cumestanos.

**Quadro clínico:** infertilidade, ginecomastia em machos castrados.

**Patologia:** hiperplasia glandular cística do cérvix e útero, piometra, cio permanente, aborto.

**Tratamento:** evitar alimentação única ou em altas quantidades de fitoestrógenos; possíveis cistos ovarianos devem ser tratados como de rotina.

## 8.3 Micotoxinas

Micotoxinas são metabólitos secundários de certos fungos que contaminam alimentos e são reconhecidamente tóxicos para várias espécies animais. As micotoxicoses são intoxicações alimentares causadas pelas micotoxinas produzidas pelos fungos. Dentre estas, pode-se citar: aflatoxicose, zealarenona, intoxicação tremorgênica, leucoencefalomalácia, ergotismo e festucose, como sendo as mais comuns que afetam ruminantes e eqüinos no Sul do Brasil.

### Aflatoxicose

**Toxicidade:** causada pelos fungos *Aspergillus flavus* ou *A. parasiticus*, que contaminam grãos como milho, sorgo, amendoim e rações, onde produzem as aflatoxinas fluorescentes B1 (mais abundante), B2, G1 e G2, sob condições ideais de umidade (mais de 14% de umidade em cereais e 9% em

oleaginosas). Além da produção de um metabólito (M1) da aflatoxina B1, encontrado na urina, leite ou tecidos de animais intoxicados. Ruminantes são menos sensíveis do que herbívoros monogástricos ou aves. Jovens ou animais caquéticos são mais suscetíveis.

**Mecanismo de ação:** inibição da síntese protéica e conseqüentemente do metabolismo energético, sendo o fígado o órgão mais afetado.

**Quadro clínico:** os animais manifestam depressão, anorexia, anemia, icterícia, diarreia, tenesmo, diminuição da produção e fotossensibilização. Fibrose hepática, lipidose hepática, icterícia, ascite, dilatação da vesícula biliar e edema são as principais lesões macroscópicas encontradas. Dentre as microscópicas pode-se citar: degeneração e necrose de hepatócitos, alterações gordurosas e proliferação do epitélio do ducto biliar e fibroplasia interlobular hepática.

**Diagnóstico laboratorial:** inclui hematologia: anemia leve, aumento de enzimas hepáticas (AST, ALT, AP) e ácidos biliares, redução da albumina e da relação albumina:globulina, redução da protrombina (síntese dos fatores de coagulação); análise do metabólito M1 na urina, leite ou fígado e rins ou por quantificação das aflatoxinas nos alimentos (teste da luz negra – fluorescência verde-amarela brilhante, cromatografia em camada delgada, líquida-gasosa ou por espectrometria de massa).

**Tratamento:** inclui a desintoxicação com aluminossilicato de cálcio e sódio hidratado (adsorção) e medidas de apoio com Vitamina E e Selênio. Para prevenir a aflatoxicose indica-se inibidores de mofo (evita o agente produtor).

### **Zealarenona**

**Toxicidade:** causada pelos fungos *Fusarium moniliforme* e *F. roseum*, que produzem a zealarenona no milho, sorgo, trigo, cevada, ... sob ótimas condições de umidade 22-25%, alternância de temperatura 7-21°C, armazenamento em espiga. Suínos são particularmente sensíveis, principalmente fêmeas pré-púberes.

**Mecanismo de ação:** de estrutura semelhante ao anabolizante zearalenol, prontamente absorvida pelo TGI, biotransformada em  $\alpha$  e  $\beta$  zearalenol, realiza o ciclo entero-hepático (retenção prolongada) e é eliminada pela bile, fezes, urina e leite (pouco) após ligação aos receptores nucleares do 17 $\beta$ -estradiol, portando-se como um estrógeno fraco (potência 2 a 4 vezes menor que o estradiol), mas capaz de inibir a secreção de FSH e a maturação do folículo.

**Quadro clínico:** variam conforme a espécie, idade e fase reprodutiva. Síndrome hiperestrogênica em leitões pré-púberes, anestro e pseudoprenhez em porcas adultas, ou ainda ninfomania; cachos imaturos demonstram redução de libido e retardo no desenvolvimento testicular e nos castrados, ocorre um aumento no prepúcio e mamilos; em novilhas pode ocorrer aumento das glândulas mamárias ou mesmo vaginite.

**Diagnóstico laboratorial:** a análise da zearalenona ou metabólitos em tecidos ou na urina é preterida a análise nos alimentos, pois a intoxicação pode manifestar os sintomas muito tempo após a exposição.

**Tratamento:** desintoxicação com carvão ativado previne o ciclo entero-hepático; prostaglandina F2 $\alpha$  para lisar o corpo lúteo e corrigir o anestro em porcas.

### **Ergotismo**

**Toxicidade:** causada pelo fungo *Claviceps purpurea*, que produz ergoalcalóides nas sementes de gramíneas ou em grãos de centeio, cevada, trigo e aveia,... sob condições ideais de calor e umidade.

**Mecanismo de ação:** os alcalóides do ergot são potentes indutores da contração dos músculos lisos, tais como útero e a camada medial das pequenas artérias.

**Quadro clínico:** constrição prolongada das artérias, levando à isquemia e necrose das extremidades (cascos, pés, orelhas ou cauda), agalactia (inibição da prolactina), hipertermia, hiperexcitabilidade, hipermetria, taquipnéia, taquicardia e anorexia.

**Diagnóstico laboratorial:** análise da presença dos alcalóides do ergot por cromatografia de camada delgada, gasosa ou espectrometria de massa dos alimentos.

**Tratamento:** substituir os alimentos por outros livres da contaminação, tratar as infecções secundárias à gangrena com antimicrobianos.

### **Festucose**

Causada pelo fungo *Acremonium coenophialum*, que produz a toxina sobre a pastagem de festuca. Esta toxina provoca sinais semelhantes ao ergotismo como agalactia, transtornos reprodutivos



e gangrena seca de extremidades. O diagnóstico é clínico e através da análise da presença do fungo e/ou da toxina na pastagem.

#### **Intoxicação tremorgênica**

Causada pelo fungo *Claviceps paspali*, que produz sua toxina principalmente no outono, durante a semeadura; ou pelos fungos *Penicillium* spp e *Aspergillus* spp, que produzem toxinas em cereais, rações,... sob ótimas condições de umidade. Todas provocando tremores e ataxia nos animais. O diagnóstico pode ser firmado pela presença dos fungos e/ou de suas toxinas nos alimentos, associado ao quadro clínico.

#### **Leucoencefalomalácia**

Causada pelo fungo *Fusarium moniliforme*, que produz a toxina fumonisina B1 no milho e alimentos contendo este, sob condições ótimas de umidade. Esta toxina provoca incoordenação, cegueira e morte em 6-12h por induzir uma necrose liquefativa da substância branca do cérebro. O diagnóstico é clínico-epidemiológico.

### **8.4 Medicamentos e produtos veterinários**

Vários medicamentos destinados a humanos são freqüentemente utilizados em animais, entretanto a maioria das intoxicações por estes fármacos refere-se à disponibilidade destes em decorrência do uso humano. Evidentemente, fármacos com baixa margem de segurança tendem a ter maior número de efeitos tóxicos, ou mesmo pelo uso abusivo. Quanto aos produtos de uso veterinário como os antiparasitários (endo e ectoparasiticidas), pode-se dizer que os acidentes são muito freqüentes. Outrossim, são os fármacos muito utilizados e que algumas espécies animais apresentam relativa sensibilidade, como os antiinflamatórios utilizados em cães, gatos ou cavalos.

#### **Antiinflamatórios não esteróides**

**Exposição:** acidental, uso abusivo, extraprescrição ou iatrogenia.

**Toxicidade:** sensibilidade ao ácido acetilsalicílico em carnívoros, especialmente gatos; toxicidade relacionada ao grau de inibição da ciclooxigenase 1 em relação a 2: flunixin meglumine, cetoprofeno, ibuprofeno, fenilbutazona, ... possuem maior risco do que carprofeno (inibidor seletivo COX 2).

**Mecanismo de ação:** inibição das ciclooxigenases (COX 1 e 2), resultando em redução da proteção da mucosa gástrica induzida por prostaglandinas e da agregação plaquetária, interferindo na coagulação sanguínea (COX 1).

#### **Toxicocinética:**

- absorção: rápida e completa por via oral;
- distribuição: possuem alta taxa de ligação à proteínas plasmáticas e agentes que competem pelas proteínas como as sulfonamidas podem potencializar aumentar a absorção;
- biotransformação:
  - AAS: conjugação com glicina e ácido glicurônico (gatos são maus conjugadores - > toxicidade);
  - Ibuprofeno: hepática em metabólito inativo;
  - Fenilbutazona: metabólito ativo (oxifembutazona – excretada após 48h);
- excreção: urinária; alcalinização, aumenta a excreção.

#### **Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** anorexia, vômitos, diarreia, melena, hematemese, anorexia, letargia, dor abdominal, azotemia e insuficiência renal;
- **laboratorial:** hemograma (anemia, trombocitopenia, presença de corpúsculos de Heinz), tempo de coagulação (aumento), pH sanguíneo (acidose); níveis séricos de salicilatos ou outros AINES ou ainda, pesquisa dos metabólitos na urina; RX ou endoscopia;
- **lesões:** úlceras e ou perfuração gastrointestinal, equimoses, sufusões, necrose renal;

#### **Tratamento:**

- descontaminação (ingesta a menos de 4 horas): induzir emese, lavagem gástrica se os sinais já estiveram presentes, administrar carvão ativado;

- prover ventilação adequada; administrar cristalóides (velocidade mínima); medir fluxo urinário (2-3 mL/kg/h para cães e 1-2 mL/kg/h para gatos); monitorar função renal (urinálise); se pH < 7,1: administrar bicarbonato (não em cristalóides que contenham Ca); se necessário administrar furosemida, dopamina ou manitol para manter o fluxo urinário; administrar protetores do trato digestório: sucralfato, omeprazol (cimetidina, ranitidina não têm apresentado benefício na profilaxia das úlceras induzidas por AINES), se há suspeita de perfuração: abdominocentese (com lavagem se necessário) para diagnóstico se perfurado: laparotomia, lavagem peritoneal com NaCl 0,9%; administrar antimicrobianos de amplo espectro exceto aminoglicosídeos ou outros nefrotóxicos.

### **Paracetamol**

**Exposição:** comumente acidental ou extraprescrição de medicamentos destinados aos humanos.

**Toxicidade:** maior sensibilidade dos felinos por serem maus conjugadores (dose tóxica 50-100 mg/kg); cães menor sensibilidade (dose tóxica 600 mg/kg).

**Mecanismo de ação:** relacionado a sua toxicocinética - quando a capacidade de biotransformação por conjugação é excedida, o mesmo sofre N-hidroxilação, seguida da formação espontânea de N-acetilbenzoquinona (metabólito de fase I) que se liga covalentemente a macromoléculas celulares, levando à necrose hepática; também o acúmulo de metabólitos oxidantes, produz metemoglobinemia, reduzindo a oxigenação tecidual.

### **Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** cianose (4 a 12h), hematuria e hemoglobinúria, edema de face (acompanhado de lacrimejamento e prurido) e patas, anorexia, depressão, entre 2 e 7 dias, hemólise e icterícia;
- **laboratorial:** metemoglobinemia, redução da glutathione reduzida eritrocitária, presença de corpúsculos de Heinz, redução do hematócrito, aumento dos níveis de ALT, AST, FA, bilirrubinemia direta e indireta;
- **lesões:** fígado mosqueado, sangue escuro; degeneração hepática centrolobular, necrose, conjuntivite, edema e necrose linfóide focal.

**Tratamento:** descontaminação oral com indução de vômito, seguida de carvão ativado; antídoto: acetilcisteína (restabelece estoques de glutathione), administrado 2 horas após o carvão, inicialmente 140 mg/kg, seguida por 70 mg/kg a cada 4-6h por 3 dias; oxigenioterapia, sulfato de Na, ácido ascórbico ou azul de metileno para tratar a metemoglobinemia.

### **Tranquilizantes**

**Exposição:** acidental por ingestão de tranquilizantes utilizados pelos proprietários, medicação extraprescrição ou mesmo iatrogenia; fenotiazínicos estão comumente envolvidos nas intoxicações.

**Toxicidade:** acepromazina em cães gigantes deve ter a dose diminuída em 50; cautela no uso em pacientes fracos, debilitados, idosos, cardiopatas ou hepatopatas; injeção IV rápida pode causar hipotensão e colapso cardiovascular; não utilizar adrenalina para tratar hipotensão, pois pode reduzir muito a pressão sanguínea. noradrenalina pode ser usada; pelo risco de paralisia do músculo retrator do pênis em eqüinos, o uso deve ser feito com cautela ou totalmente evitado em garanhões; uso contra-indicado em cães da raça Boxer, uso concomitante com vermífugos ou ectoparasiticidas organofosforados (incluindo colar para pulgas); com procaína; evitar em pacientes com histórico de convulsões.

**Mecanismo de ação:** exerce bloqueio em receptores da dopamina e reduz ação da serotonina; como um fenotiazínico, possui efeito depressor do SNC, e por isto causa sedação, relaxamento muscular, e redução da atividade espontânea.

### **Toxicocinética:**

- absorção: é bem absorvida pelas vias oral, SC, IM e IV;
- distribuição: é amplamente distribuída pelos tecidos, principalmente fígado, pulmões e encéfalo;
- biotransformação: hepática;
- excreção: urinária e fecal, por vários dias.

### **Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** pode causar prolongada depressão e impossibilidade de locomoção; depressão respiratória, hipotensão, miose, hipotermia, hipertermia e edema pulmonar; convulsões e morte;

**Tratamento:** descontaminação oral por lavagem gástrica e carvão ativado em múltiplas doses (até 4 horas da ingesta); assistência respiratória, controle hemodinâmico; monitorização cardiovascular, tratamento da hipotensão com fluidoterapia (ringer lactato) e vasopressores como noradrenalina.

#### **Diminazeno**

**Exposição:** uso abusivo, medicação extraprescrição ou mesmo iatrogenia no tratamento da babesiose, tripanossomíase ou mesmo na papilomatose.

**Toxicidade:** em cães o índice terapêutico é muito baixo (20 a 60 mg/kg, IM, causaram óbito em 36-54 horas com hemorragia e degeneração / malácia cerebral); 2 mg/kg IV pode causar hipotensão e possibilidade de colapso; em gatos a dose de 21 mg/kg (6 vezes terapêutica recomendada) não ocorreram efeitos agudos.

**Mecanismo de ação:** altera a síntese do DNA (bloqueio seletivo da replicação) no parasita, resultando na dilatação da membrana de organelas, dissolução do plasma e destruição do núcleo; também interfere na glicólise aeróbica, causando hipoglicemia tanto no parasita como no animal hospedeiro.

#### **Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** ataxia, incoordenação de membros posteriores, paralisia espástica, dor, nistagmo, convulsões, cegueira e coma;
- **laboratorial:**
- **lesão:** em cães, doses terapêuticas múltiplas causaram graves e importantes lesões hemorrágicas e degenerativas no cerebelo, mesencéfalo e tálamo; alterações degenerativas em fígado, rins, músculos e miocárdio; em bovinos, degeneração gordurosa e lesões neurológicas têm maior gravidade.

**Tratamento:** essencialmente medidas sintomáticas e de suporte.

#### **Benzimidazóis**

**Exposição:** sobredosagem do anti-helmínticos de ação sistêmica, acidental, por extraprescrição ou iatrogenica.

**Toxicidade:** a DL<sub>50</sub> oral do Mebendazole em ovelhas é 80 mg/kg, em ratos e galinhas é de 40 mg/kg e em cães, 640 mg/kg; são teratogênicos.

**Mecanismo de ação:** produz degeneração dos microtúbulos citoplasmáticos nas células tegumentares e intestinais do parasito; as substâncias secretoras acumulam-se nas áreas de Golgi, havendo prejuízo na secreção de acetilcolinesterase e bloqueando de forma seletiva e irreversível a captação de glicose nos helmintos adultos sensíveis e suas larvas.

#### **Toxicocinética:**

- absorção: pouco absorvido pelo trato gastrointestinal (5-10%); pico de concentração em 1 hora;
- distribuição: se distribui no soro, líquido cístico, fígado, omento e cistos pélvicos, pulmonares e hepáticos; as concentrações mais elevadas se encontram no fígado; ligação a proteínas plasmáticas é elevada (95%); passa por barreira placentária;
- biotransformação: hepática, extenso metabolismo de 1º passagem;
- excreção: fecal (95%).

#### **Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** dor abdominal, diarreia, náuseas; efeitos sistêmicos são raros;
- **laboratorial:** determinação de concentração sérica de mebendazol ou o metabólito principal (derivado 2-amino);

**Tratamento:** descontaminação oral por esvaziamento gástrico e carvão ativado; sintomático e de manutenção.

#### **Avermectinas**

**Exposição:** a maioria dos casos de intoxicação ocorre em cães Collie (ou cruzamentos da raça) após uso injetável, por extraprescrição ou iatrogenismo.

#### **Toxicidade:**

**Mecanismo de ação:** atua sobre neurotransmissão gabaérgica., age no parasita estimulando liberação de GABA nas terminações nervosas, favorecendo sua ligação aos receptores pós sinápticos; assim aumenta a permeabilidade da membrana ao íon Cl<sup>-</sup>, interrompendo impulsos nervosos, paralisando e matando o parasita; interage também com receptores GABA no cérebro de vertebrados (mamíferos) mas com afinidade 100 vezes menor por receptores que nos invertebrados, entretanto, em determinadas raças de cães (ex.: Collie e Australian Sheepdogs) o produto atravessa a barreira hemato-encefálica, alterando a neurotransmissão mediada por GABA.

**Toxicocinética:**

- absorção: os dados farmacocinéticos variam com a espécie, em geral, rapidamente absorvido por via SC, IV, oral e intrarruminal; baixa absorção percutânea;
- distribuição: maiores concentrações teciduais em fígado e tecido adiposo; níveis muito baixos são encontrados no cérebro, apesar da solubilidade; pequena quantidade (2%) aparece no leite materno; mínima deposição em músculo; o volume de distribuição em cães: é de 2,4 L/kg, bovinos, 1,9 L/kg, ovinos, 4,6 L/kg; a T1/2 em cães é de 2 a 3 dias; bovinos e ovinos: 65 horas e, em suínos de 12 horas; preparações injetáveis, não aquosas, podem ter T1/2 de até 8,3 dias pela lenta absorção que sofrem; alta ligação a proteínas (93%).
- excreção: 95% da dose administrada é excretada via fecal em 5 a 6 dias; 0,5 a 2% são eliminados na urina.

**Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** em várias espécies animais: ataxia, paralisia, coma, morte; em cães: midríase dose-dependente, cegueira, alterações comportamentais, depressão, vômitos, ptialismo e sialorréia ataxia, tremores, convulsões, depressão, coma e morte; outros sinais: desorientação, olhar fixo, hiperatividade, inquietação, flacidez, agressividade, bradicardia, convulsões, hipertermia, dificuldade respiratória e cianose; intoxicações severas levam a choque, edema pulmonar, dispnéia, taquicardia, tremor muscular, coma e morte; em gatos, ataxia, vocalização, desorientação, tremores, midríase, perda de reflexo pupilar, bradicardia, hipotermia, coma e morte;

**Tratamento:** a maioria das intoxicações ocorre em cães no uso da forma injetável, nestes casos, o tratamento é sintomático e de apoio por longo período e inclui respiração assistida, controle de convulsões com barbitúricos, se necessário; nas grandes ingestas de apresentações para uso oral, a descontaminação deve ser realizada mediante esvaziamento gástrico e carvão ativado.

**Fipronil**

**Exposição:** utilização de altas concentrações ou mesmo formulações não adequadas à espécie (produtos formulados para bovinos utilizados em cães ou gatos) por extraprescrição ou iatrogenismo.

**Mecanismo de ação:** é um inibidor reversível dos receptores do GABA.

**Toxicidade:** nos vertebrados o Fipronil não se fixa de maneira estável, o que explica sua boa margem de segurança, entretanto, durante a intoxicação, há indução de estimulação neurológica; a DL<sub>50</sub> oral em cães é de 640 mg/kg; ratos, 97 mg/kg; a DL<sub>50</sub> cutânea em cães é 2000 mg/kg; a apresentação em spray comercializada no Brasil que contém o Fipronil o interesse toxicológico é fundamentalmente o veículo: álcool isopropílico.

**Toxicocinética:**

- absorção: devido a pequena absorção intestinal, sintomas podem ser retardados por várias horas à 1 dia;
- excreção: fecal.

**Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** farmacodermia no local de aplicação (erupção bolhosa); em intoxicações experimentais agudas foram observados: vômitos, transtornos gastrintestinais e convulsões; nas crônicas ocorreu alterações de tireóide, fígado e sistema nervoso; em teste cutâneos, há relato de irritação cutânea (dermatite alérgica) e ocular;
- **laboratorial:** o Fipronil e seu principal metabólito podem ser detectados no sangue ou lavado gástrico.

**Tratamento:** em pequenas ingestas, a descontaminação deve ser realizada com carvão ativado; na superdosagem, deve-se proceder a lavagem gástrica e carvão ativado em múltiplas doses; tratamento sintomático, incluindo anticonvulsivantes como fenobarbital e benzodiazepínicos.

#### **Imidacloprid**

**Exposição:** contato dérmico ou oral com o pesticida agrícola, para jardinagem amadora ou mesmo o ectoparasiticida para uso veterinário.

**Toxicidade:** moderadamente tóxico - DL<sub>50</sub> em ratos é 450 mg/kg; não irritante de olhos e pele de coelhos; alguns sintomas duraram mais de 5 dias após exposição (produto que contém apenas imidacloprid) ou no caso de produtos agrícolas, 12 dias;

**Mecanismo de ação:** análogo a molécula da nicotina; encaixa-se no receptor molecular no sistema nervoso, bloqueando irreversivelmente os receptores de acetilcolina; age interferindo na transmissão de estímulos no sistema nervoso do inseto; especificamente causa bloqueio nos receptores nicotínicos, que leva ao acúmulo de acetilcolina (importante neurotransmissor) resultando em paralisia do inseto com eventual morte.

#### **Toxicocinética:**

- absorção: cutânea e oral (estômago), rapidamente e quase completamente;
- excreção: via renal (70-80%) e fecal (20-38%).

#### **Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** sinais e sintomas nicotínicos, incluindo fadiga, contrações musculares, cólicas e fraqueza muscular, inclusive nos músculos necessários da respiração; para produtos agrícolas (imidacloprid mais outros ingredientes - sílica e Naftaleno), redução de atividade, incoordenação, tremores, diarreia e emaciação;

**Tratamento:** sintomático e de suporte.

#### **Amitraz**

**Exposição:** ingestão por lambedura ou concentração excessiva de ectoparasiticida para aspersão, imersão ou em coleiras.

**Toxicidade:** DL<sub>50</sub> oral: cães 100 mg/kg; ratos 515-938 mg/Kg; cães podem apresentar sinais clínicos transitórios de intoxicação com doses de 20 mg/Kg.

**Mecanismo de ação:** acredita-se que o amitraz atue como um agonista alfa 2-adrenérgico em receptores do SNC e periférico, e como inibidor fraco da monoamido oxidase (MAO).

#### **Toxicocinética:**

- absorção: bem absorvido por via oral e dérmica; a concentração sanguínea máxima ocorre 2 à horas após a exposição;
- distribuição: se concentra na pele, fígado, olhos, bile, rins, cerebelo, pulmões, baço e gônadas;
- biotransformação: hepática;
- excreção: renal.

#### **Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** vômitos, anorexia, diarreia, poliúria, bradicardia, hipotensão, depressão, desorientação, sedação, vocalização, ataxia, convulsões e coma; por contato, irritação e eritema nas áreas expostas;
- **laboratorial:** cromatografia de camada gasosa; análise de tecidos: fígado, rins, pele, cérebro, pulmões, tecido adiposo ou baço;
- **lesão:** hepatomegalia, se exposição crônica, hiperplasia periportal hepática e adelgaçamento das zonas fasciculada e reticular da adrenal.

**Tratamento:** descontaminação oral: lavagem gástrica ou indução de vômito (contra-indicado, se houver solvente na formulação), carvão ativado; dérmica: descontaminação cutânea e tosa se necessária; assistência respiratória/oxigênio, fluidoterapia; ioimbina.

#### **Organofosforados**

**Exposição:** inseticidas agrícolas, domiciliares, medicamentos de uso humano e veterinário sob várias apresentações: aerossóis, pós, soluções, sabonetes, xampus, ...; ingesta ou contato acidental (alimentos

ou diretamente com produtos), prescrição inadequada (alta concentração, dose ou inadequado para a espécie, idade,...) ou extraprescrição.

**Toxicidade:** dependente da concentração, via (bucal, oral, dérmica, inalatória,...) e do tempo de exposição ao produto; interessante atentar a classificação relativa de toxicidade dos princípios ativos mais comuns:

- extrema: metolol e paration;
- alta: carbofenotion, diclorvós (DDVP), fention, monocrotofós;
- moderada: Diazinon, clorpirifós, dimetoato, naled, fenitrotion, fenclorfós;
- baixa: Triclorfon, pirimifós-metilico, azametiofós, bromofós, biodofenfós;

pode ainda ser potencializada por fenotiazínicos, succinilcolina, levamisole, aminoglicosídeos, nicotina, curarizantes e indutores enzimáticos.

**Mecanismo de ação:** inibição irreversível da acetilcolinesterase (AChE), resultando em acúmulo de acetilcolina nos receptores muscarínicos, nicotínicos (junções neuromusculares esqueléticas) e no sistema nervoso central.

#### **Toxicocinética:**

- absorção: são bem absorvidos por via oral, inalatória e dérmica; presença de solvente orgânico intensifica absorção; através da pele absorção tende a ser lenta, mas dificuldade de remoção prolonga contato; temperatura elevada, presença de dermatites potencializam absorção;
- distribuição: ampla, mas não se acumulam por tempo prolongado; altamente lipofílicos, são armazenados no tecido adiposo, liberados gradualmente durante vários dias após exposição;
- biotransformação: biotransformados por enzimas oxidases, hidrolases e transferases, principalmente hepáticas; alguns metabólitos tem maior toxicidade que o composto original, por transformação do grupo "tion" em metabólito "oxon" (paration, malation, diazinon);
- excreção: principalmente urinária, menor quantidade nas fezes e ar expirado; excreção máxima em 2 dias, após diminui rapidamente.

#### **Diagnóstico**

##### **sinais clínicos:**

- **muscarínicos:** broncoconstrição, broncorréia, dispnéia, cianose, edema pulmonar; anorexia, náuseas, vômitos, cólicas abdominais, diarreia, incontinência fecal, tenesmo; sudorese, salivação, lacrimejamento; bradicardia, hipotensão, bloqueio av; miose, visão borrada; incontinência urinária;
- **nicotínicos:** fadiga, fraqueza, fasciculações, contrações, arreflexia, paralisia flácida, insuficiência respiratória ou parada devido fraqueza muscular; hipertensão, taquicardia, palidez, midríase (porém, predominam efeitos muscarínicos);
- **efeitos no SNC:** cefaléia, ansiedade, agitação, tremores, ataxia, sonolência, confusão, dificuldade de fala, labilidade emocional.fraqueza generalizada, coma, convulsões, depressão central respiratória e cardiovascular;
- **laboratorial:** determinação da atividade colinesterásica, plasmática ("pseudocolinesterase") ou eritrocitária (indicador mais preciso); ainda, conteúdo gástrico ou ruminal, pêlos e urina (pesquisa deorganofosforado e/ou metabólitos); Também, atividade colinesterásica em cérebro;
- **lesões:** edema pulmonar e líquidos no trato digestivo.

#### **Tratamento:**

- primeiros socorros: manter ventilação, aspirar secreções, oxigenação;
- descontaminação: oral por lavagem gástrica até 4 h (com solvente derivado de petróleo fazer intubação traqueal prévia pelo risco de aspiração), carvão ativado; \*\*contra-indicado induzir vômito (com solvente hidrocarboneto); exposição dérmica, ampla descontaminação cutânea, pode-se usar solução de bicarbonato (instável em meio alcalino), proteger pessoal de enfermagem com luvas, avental durante descontaminação do paciente; olhos: descontaminação ocular. pode ser usado gotas de anestésico previamente para facilitar procedimento;

- convulsões e ansiedade: diazepam;
- Antídotos: é essencial uso de ATROPINA (bloqueia efeitos da acetilcolina) e PRALIDOXIMA - Contrathion (reverte a colinesterase).

### **Carbamatos**

**Exposição:** semelhante aos organofosforados.

**Toxicidade:** tem inibição colinesterásica reversível e de curta duração, não penetram efetivamente no SNC, resultando em toxicidade limitada; usualmente severidade é leve a moderada, porém exposição a altas concentrações, especialmente aldicarb e carbaril pode conduzir a quadros severos, evoluindo ao óbito. Aldicarb tem ALTA TOXICIDADE considerado inseticida sistêmico, absorvido do solo pode concentrar níveis tóxicos em alimentos.

**Mecanismo de ação:** inibidores reversíveis da AChE, resultando em acúmulo de acetilcolina nos receptores muscarínicos, nicotínicos e no SNC; tem reversão espontânea e curta duração (minutos a poucas horas); e têm menor penetração no SNC.

#### **Toxicocinética:**

- absorção: rápida por todas as vias, oral, inalatória e dérmica; a dérmica é pequena em comparação aos organofosforados, com exceção do aldicarb que é elevada em todas as vias; temperatura alta, umidade, dermatites, aumentam absorção; aldicarb tem extensiva recirculação entero-hepática; carbaril também tem ciclo entero-hepático considerável, especialmente pela via oral.
- distribuição: rápida distribuição, com menor penetração no SNC que os organofosforados; não se acumulam no organismo.
- biotransformação: rápida, por hidrólise, oxidação ou conjugação; usualmente os metabólitos têm menor toxicidade, exceto o propoxur e o carbaril, em que os metabólitos têm maior atividade anticolinesterásica, elevando toxicidade.
- excreção: principalmente urinária, usualmente em 24h, menor percentual nas fezes e ar expirado.

#### **Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** efeitos são imediatos, cessando logo após término da exposição; manifestações usualmente em menor grau que os organofosforados incluindo as neurológicas (devido a menor penetração no SNC); predominam efeitos muscarínicos: broncoconstrição, broncorréia, dispnéia, cianose, edema pulmonar; anorexia, náuseas, vômitos, cólicas abdominais, diarreia, incontinência fecal, tenesmo; sudorese, salivação, lacrimejamento; bradicardia, hipotensão; miose, visão borrada; incontinência urinária;
- **laboratorial:** colinesterase plasmática ou eritrocitária tem valor diagnóstico reduzido devido a rápida reversão e normalização de níveis alterados (minutos a algumas horas); metabólitos podem ser pesquisados na urina (carbaril).

**Tratamento:** descontaminação oral com carvão ativado ou, para aldicarb e carbaril, esvaziamento gástrico seguido de carvão ativado; antídoto - atropina (antimuscarínica); monitorização respiratória, limpeza de secreções; edema pulmonar, broncoespasmo, respondem adequadamente a oxigenação; monitorização cardíaca; diazepam, melhora ansiedade e algumas manifestações do SNC.

### **Piretróides**

**Exposição:** inseticidas agrícolas, domiciliares, medicamentos de uso humano e veterinário sob várias apresentações: aerossóis, pós, soluções, sabonetes, xampus, ...; ingesta ou contato acidental (alimentos ou diretamente com produtos), prescrição inadequada (alta concentração, dose ou inadequado para a espécie, idade,...) ou extraprescrição.

**Toxicidade:** é baixa para mamíferos e aves, muito tóxico para peixes; felinos são mais sensíveis, assim como animais jovens (menores de 6 semanas - está contra-indicado o uso); em intoxicações mistas com organofosforados, a toxicidade dos piretróides fica exacerbada; interessante atentar a classificação relativa de toxicidade dos princípios ativos mais comuns:

- alta: bifentrin, fenpropatrin, lambidacialotrina;
- moderada/alta: alfacipermetrina, deltametrina;
- moderada: cipermetrina, cialotrina;

- baixa/moderada: Aletrina, bioaletrina, esbiotrin, esbiotrin, fenvalerato;
- baixa: D-aletrina, S-bioaletrina, resmetrina, bio-resmetrina, fenotrina, d-fenotrina, tetrametrina.

**Mecanismo de ação:** inibem a condutância ao Na nas membranas axonais, além da inibição da ATPase, reduzindo o potencial de ação e gerando impulsos nervosos repetitivos; piretróides do tipo II (cipermetrina, cialotrina, deltametrina,...) interferem na ligação do GABA aos seus sítios receptores.

**Toxicocinética:**

- absorção: rapidamente absorvido por vias oral, dérmica e inalatória;
- biotransformação: rápida por hidrólise pelas esterases plasmáticas e hepáticas; os metabólitos são conjugados com glicina, ácido glicurônico e sulfatos;
- excreção: renal.

**Diagnóstico:** é difícil, deve haver histórico compatível além de diferenciar de infecções que causem meningite (cinomose), intoxicações por organoclorados, fosforados, metaldeído, estricnina, nicotina ou aminopiridina;

- **sinais clínicos:** sialorréia, vômitos, ataxia, dispnéia, anorexia, hiper ou hipotermia, incoordenação motora tremores musculares, convulsões, conjuntivite, dificuldade respiratória, contraturas musculares superficiais, tremores nas extremidades das orelhas e membros; início de sintomas em 1 a 3 horas após contato.
- **laboratorial:** podem ser detectados em fígado e cérebro, mas os níveis das substâncias não se correlacionam bem com a gravidade e prognóstico dos casos;
- **lesão:** Geralmente não há lesões características associadas ao óbito.

**Tratamento:** descontaminação oral com carvão ativado; em ingestão de grandes quantidades, esvaziamento gástrico até 1 hora após; diluente que pode ser derivado de petróleo (não fazer esvaziamento gástrico neste caso, havendo risco de pneumonite); descontaminação cutânea com água morna (água quente aumenta a perfusão e absorção dos produtos) e xampu neutro, podendo ser necessária tosa em animais com pelos muitos longos; tratamento sintomático: diazepínicos ou barbitúricos para convulsões; se o animal apresentar sintomas de estimulação parassimpática como sialorréia, utilizar atropina em baixas doses (0,02 a 0,04 mg/kg).

Outra classe farmacológica comumente envolvida em acidentes tóxicos em veterinária, é a das metilxantinas. Neste grupo, a teofilina representa uma xantina utilizada como agente broncodilatador. Entretanto, não é a xantina de maior evidência tóxica, neste grupo encontram-se as metilxantinas que são alcalóides metilados das xantinas, capazes de produzir efeitos tóxicos semelhantes a teofilina. Dentre estes, o café e o chocolate.

**Metilxantinas**

**Exposição:** café ou principalmente, o chocolate; a intoxicação por chocolate é mais comum próximo a datas comemorativas (Páscoa, aniversários, Natal, etc).

**Toxicidade:** leves sinais de intoxicação ocorrem com ingesta de 20 mg/kg e severos com 40-50 mg/kg; em cães a DL<sub>50</sub> é de 60 mg/kg em gatos 80-150 mg/kg; a quantidade de teobromina (mg/100g) é cerca de 0,88 no chocolate branco, 204,7 no ao leite, 458,9 no preto doce, 487,1 no semi-doce, 1387,3 no amargo e 2118 nos grãos de cacau, 480,08 no cacau em pó instantâneo e 2601,6 no cacau em pó seco; metilxantinas podem atravessar a placenta e afetar os fetos ou ainda, podem passar para o leite.

**Mecanismo de ação:** inibem o seqüestro intracelular de cálcio, aumentando a atividade do músculo cardíaco e esquelético; antagonizam competitivamente os receptores celulares de adenosina, resultando em estimulação do SNC, vasoconstrição, taquicardia e acúmulo de nucleotídeos cíclicos (especialmente AMPc); também aumentam a irritabilidade do córtex sensorial, resultando em aumento do estado de alerta mental.

**Toxicocinética:**

- **absorção:** são rapidamente absorvidas por via oral;
- **distribuição:** amplamente distribuídas pelo corpo, principalmente nos tecidos muito vascularizados e ricos em líquidos;
- **biotransformação:** hepática pelas oxidases de função mista microsossomais, por N-desmetilação e conjugação;



- **excreção:** renal; são alcalinas, conseqüentemente, são mais rapidamente excretadas quando a urina é acidificada.

#### **Diagnóstico**

- **sinais clínicos:** vômitos, diarreia, agitação, hiperatividade, rigidez, contração muscular súbita, hiperreflexia, tremores e convulsões; incontinência urinária ou poliúria; taquipnéia, polipnéia, taquicardia (grandes ingestas) ou bradicardia (pequenas ingestas); as mortes podem ocorrer de 6-24 horas da ingesta, por arritmia ou falência respiratória; exposição crônica pode conduzir a insuficiência cardíaca;

**laboratorial:** as metilxantinas e seus metabólitos podem ser medidos pelo alto desempenho da cromatografia líquida em soro, plasma, tecidos, urina e conteúdo estomacal; permanecem estáveis no soro ou plasma, refrigerados por 14 dias, em temperatura ambiente por 7 dias e congelado por 4 meses.

**Tratamento:** descontaminação oral por indução de vômito (4 a 6 horas da ingesta), carvão ativado a cada 3 a 4 horas (1-5g/kg) pode reduzir a meia-vida das metilxantinas; aumento da eliminação por fluidoterapia e acidificação urinária; assistência respiratória; diazepam ou fenobarbital para as convulsões, tremores e ansiedade; tratar hipertermia; monitorar eletrólitos e ECG; evitar o uso de antibióticos da família dos macrolídeos, cimetidina, ranitidina e corticóides, já que interferem na excreção das metilxantinas; não utilizar lidocaína em felinos.

A Tabela 14 apresenta outros grupos e/ou fármacos com relativa incidência de acidentes tóxicos em animais, a sintomatologia característica e as condutas gerais.

## **8.5 Produtos químicos industriais e domésticos**

### **8.5.1 Produtos químicos industriais**

Vários produtos industriais têm uso restrito e, portanto, menor risco de acidente tóxico em animais. Entretanto, devido a riscos ambientais relacionados a estas substâncias, torna-se relevante seu estudo. Os principais produtos incluem:

- Produtos de petróleo: óleo bruto ou refinados: gasolina, querosene, nafta,...
- Dioxinas: em produtos como herbicidas fenoxiclorados (agente laranja), hexaclorofeno (sabões), pentaclorofenol (conservante de madeira),...
- Fluoretos: indústrias de alumínio, aço, fertilizantes, suplementos minerais,...
- Bifenilas polibromadas (BPBS): antichamas.
- Bifenilas policloradas (BPCS): em produtos como óleos não inflamáveis para transformadores, condensadores e isolantes elétricos, tintas e selantes para silos, antioxidantes,...
- Triaril fosfato e ésteres de fosfatos: antichamas, solventes, estabilizadores, antioxidantes, aditivos,...

#### **Produtos de petróleo**

##### **Hidrocarbonetos alifáticos:**

- cadeia curta: metano, etano, propano e butano;
- cadeia longa: óleo mineral, gasolina, querosene,...
- clorados: tetracloroeto de carbono, clorofórmio, tetracloroetileno;
- hidrocarbonetos aromáticos: benzeno, tolueno, xileno,...

**Exposição:** áreas industriais, campos de extração, contaminação ambiental, uso doméstico ou comercial

#### **Toxicocinética:**

- absorção: lipofílicos e voláteis;
- excreção:
  - aromáticos: biotransformados a fenóis, ácido carboxílico e conjugação c/ sulfatos ou glicuronídeos ou glicina;
  - alifáticos voláteis: pulmões.

**Toxicidade:** irritação dérmica, respiratória, gastrointestinal e depressão do SNC e de medula óssea (aromáticos).

**Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** anorexia, vômito, timpanismo, emagrecimento, ataxia, tremores, confusão mental, depressão, asfixia, pneumonia química, arritmia cardíaca;
- **laboratorial:** hipoglicemia, aumento do nitrogênio uréico, hemoconcentração, anemia, leucopenia, trombocitopenia;
- **lesões:** úlceras gastrintestinais e de traquéia, congestão pulmonar, pleurite fibrinosa, necrose hepática e renal.

**Tratamento:** não provocar vômito (voláteis); administrar carvão ativado até 4 horas pós-ingestão; banho com água quente e detergente leve; profilaxia com antimicrobiano; fluidoterapia; estimulantes (SNC e cardíacos); transfusão; salicilato de bismuto (protetor gastrointestinal).

Tabela 14. Medicamentos frequentemente envolvidos em acidentes tóxicos em animais.

| Medicamento/grupo           | Efeitos clínicos   | Conduta  |
|-----------------------------|--|--|
| Analgésicos opióides        | Depressão respiratória, náuseas, vômitos, bradicardia, hipotensão,...  | Descontaminação oral; ventilação assistida e Naloxona.   |
| Antidepressivos tricíclicos | Taquiarritmias ventriculares, complexos QRS prolongados, vômito, fraqueza, depressão, tremores e convulsões.                                 | Descontaminação oral, lavagem gástrica se necessário, seguida de carvão, lidocaína, bicarbonato de sódio e diazepam. |
| Digitálicos                 | Vômito, diarreia, arritmias, condução átrio-ventricular lenta e bloqueio cardíaco completo.  | Descontaminação oral, atropina e fenitoína.  |
| Antiarrítmicos              | Procainamida: assistolia e efeitos colinérgicos.<br>Propranolol: bradicardia, hipotensão e broncoconstrição.                                 | Isoproterenol e dopamina.<br>Descontaminação oral, atropina, epinefrina e aminofilina.                               |
| Glicocorticóides            | Agudo: retenção de Na e água, perda de K, alcalose e hipertensão.<br>Crônico: miopatia, lesão hepática.                                      | Se agudo descontaminação oral; ambos, tratamento sintomático.  |
| Estrógenos                  | Estro prolongado, aborto, pancitopenia, anemia aplásica.   | Transfusão, fluidos e corticosteróides para o choque.  |
| Difenidramina               | Efeitos anticolinérgicos (midríase, hipomotilidade do trato gastrointestinal, xerostomia, taquicardia), hipotensão depressão ou estimulação. | Descontaminação oral, vasopressina.  |
| Atropina                    | Efeitos anticolinérgicos (midríase, hipomotilidade do trato gastrointestinal, xerostomia, taquicardia), desorientação e ataxia.              | Descontaminação oral, ventilação assistida, neostigmina e norepinefrina.   |

## Dioxinas

O diclorofenol, herbicidas fenoxiclorados utilizado no preparo do agente laranja, forma tetra, hexa e octaclorodibenzodioxina, moléculas mais tóxicas e persistentes no ambiente; também, a combustão de dioxinas pode liberar tetraclorodibenzodioxina.

Exposição: óleo queimado, herbicida desfolhante

### Toxicocinética:

- absorção: vias oral ou dermal, inibida pela terra e carvão ativado;
  - distribuição: acumula no fígado e tecido adiposo;
  - excreção: maioria inalterada nas fezes, pequenas quantidades na bile e urina
- Toxicidade:** aguda e crônica (cumulativa); se liga a enzima citosólica e é transferida para o núcleo, afetando as células; induz oxidases de função mista e sintetase hepática, afetando a biotransformação de medicamentos; teratogênica, carcinogênica e imunodepressora.

### Diagnóstico:

- **sinais clínicos:** hiperqueratose, acne, edema palpebral, emagrecimento, porfiria e fotossensibilização; edema generalizado em aves;
- **laboratorial:** anemia e trombocitopenia, presença de dioxinas nos tecidos (adiposo, hepático e renal);
- **lesões:** necrose hepática, lesões renais e depressão de medula óssea.

## Fluoretos

Na natureza é encontrado como fluoreto. Também encontrado na indústria de aço, alumínio, suplementos minerais e fertilizantes. Materiais contendo fluor, aquecidos a altas temperaturas, expõem fluoretos, que reagindo com a água, se depositam nos vegetais.

**Exposição:** forragens contaminadas, água, suplementos minerais,...

### Toxicocinética:

- absorção: trato gastrointestinal;
- distribuição: 96-99% incorporado aos ossos;
- excreção: filtração glomerular.

**Toxicidade:** reduz a formação da matriz e do esmalte dos dentes; exostose ou osteoporose;

- aguda: incontinência urinária e intestinal, vômitos, insuficiência cardíaca, excitação do SNC, depressão severa e morte;
- crônica (meses a anos): defeitos nos dentes e ossos.

### Diagnóstico:

- **sinais clínicos:** dentes irregularmente desgastados e com manchas no esmalte; claudicação, caquexia;
- **laboratorial:** concentração de fluoreto nos dentes e/ou tecido ósseo, na urina, nos alimentos e/ou água consumidos; RX;
- **lesões:** hiperostose periosteal, mineralização irregular generalizada e dentes radiolúcidas.

**Tratamento:** sulfato ou cloreto de alumínio, carbonato de cálcio (reduzem a absorção).

## Bifenilas polibromadas (BPBS)

Antichamas altamente persistentes no meio ambiente e no tecido adiposo dos animais. Em 1973 foi acidentalmente adicionado a ração animal (aves e gado leiteiro) nos EUA e gerou grandes perdas.

**Mecanismo de ação:** ativam a síntese de RNA, induzindo as mono-oxigenases

### Diagnóstico:

- **sinais clínicos:** distúrbios neuroendócrinos com falha reprodutiva, imunossupressão, retardo no crescimento, alterações de casco, pele e pêlos;
- **laboratorial:** aumento do nitrogênio uréico, aumento de transferases (ALT e AST) e hipercolesterolemia; cromatografia líquida-gasosa de tecido adiposo, leite (T1/2 de 12 semanas) ou ovos.

- **lesões:** lipidose hepática, degeneração tubular renal, enfisema subcutâneo.

**Tratamento:** remover o paciente da exposição (não há tratamento ou antídoto).

### **Bifenilas policloradas (BPCS)**

Antichamas, óleos, tintas, plásticos: estrutura semelhante ao DDT (inseticida), persistentes no meio ambiente e na cadeia alimentar. Em 1968 houve uma contaminação do óleo de arroz que intoxicou aves e homens em Yusho (Japão), causando pigmentação da pele, edema de membros e neuropatia periférica.

**Mecanismo de ação:** indutoras de oxidases de função mista.

**Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** imunossupressão, embriofetotoxicidade, teratogenicidade, hiperestrogenismo em ratos, doença do edema em aves,...
- **laboratorial:** cromatografia de tecido adiposo;
- **lesões:** lipidose hepática, hemorragia intestinal, miocardite e endocardite.

**Tratamento:** remover o paciente da exposição (não há tratamento ou antídoto).

### **Triaril fosfato e ésteres de fosfatos**

Usados como antichamas, solventes, estabilizadores, antioxidantes em lubrificantes, borrachas, plásticos, aditivos para gasolina,... Em 1930, o consumo de extrato de gengibre ou óleo de cozinha contaminado provocou paralisia em 40.000 pessoas na Jamaica. Bovinos e ovinos, eventualmente são expostos a lubrificantes contendo tri-orto-cresil-fosfatos.

**Mecanismo de ação:**

- ésteres fosfato hidrofóbicos: penetram no SNC e fosforilam ou alquilam macromoléculas, provocando degeneração axonal seguida de desmielinização dos nervos periféricos;
- ésteres organofosforados: inibem a esterase neurotóxica e enzimas nos nervos periféricos e cérebro, associados com axonopatia periférica (neurotoxicidade retardada).

**Toxicidade:** quanto menor a cadeia alquila lateral, maior a atividade neurotóxica retardada. As aves são suscetíveis e os melhores modelos para a síndrome em humanos (pesquisa). Roedores de laboratório, cães e coelhos são resistentes (**inadequados para pesquisa**).

**Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** latência de 1 a 2 semanas; dormência e perda de sensibilidade da parte distal dos membros, paresia ascendente, hemiplegia e até quadriplegia;
- **laboratorial:** determinação dos níveis de esterase neurotóxica;
- **lesões:** degeneração nervosa distal/proximal com desmielinização.

**Tratamento:** remover o paciente da exposição (não há tratamento ou antídoto).

## **8.5.2 Produtos químicos domésticos**

### **Domissanitários**

São produtos utilizados na limpeza e desinfecção de casas, canis, pocilgas, ambientes domésticos e /ou coletivos. Estes incluem:

- detergentes;
- limpadores líquidos e abrasivos;
- alvejantes;
- desentupidores/desengraxantes;
- álcalis;
- ácidos;
- polidores.

### **Detergentes**

São produtos cujo princípio ativo são surfactantes; agentes tenso-ativos, que baixam a tensão superficial da água, desnaturam proteínas, alteram a permeabilidade das membranas celulares, permitindo a passagem de enzimas, metabólitos. São classificados conforme sua carga iônica:

- **Não iônicos:** pouca atividade germicida, levemente irritantes de mucosas; utilizados em formulações de medicamentos, aditivos alimentares.

**Toxicidade:** dificilmente causam alterações quando ingeridos ou em contato com a pele ou mucosas.

**Tratamento:** descontaminação com água.

- **Aniônicos:** possuem carga negativa; são derivados sulfonados alquil-benzênicos;; são biodegradáveis quando possuem cadeia alquil é linear e apresentam difícil degradação no meio ambiente quando esta é ramificada; atuam sobre germes Gram positivos.

**Toxicidade:** moderadamente tóxicos, quando ingeridos.

**Sinais clínicos:** irritantes do trato gastrointestinal.

**Tratamento:** diluir com água, demulcentes e sintomático.

- **Catiônicos:** possuem carga positiva; basicamente derivados quaternários da amônia; atuam como bactericidas e antissépticos; atuam sobre germes Gram positivos e negativos, fungos, bactérias e vírus; utilizados para desinfecção de material cirúrgico, amaciantes de roupas e condicionadores de cabelos (baixas concentrações).

**Toxicidade:** altamente tóxicos, dependendo da dose ingerida.

**Sinais clínicos:** distúrbios gastrointestinais como náuseas, vômitos; alterações neurológicas como agitação psicomotora, convulsões até parada respiratória e morte.

**Tratamento:** induzir emese com soluções fracas de detergente neutro; hidratação e benzodiazepínicos, se houver convulsões.

### Limpadores (líquidos e abrasivos)

São produtos que contém óleo ou essência de Pinho, amoníaco, formaldeído ou abrasivos.

- **Limpadores ou desinfetantes com óleo ou essência de Pinho/eucalipto:** algumas formulações podem conter surfactantes; contém substâncias derivadas do petróleo, o que lhes confere uma ação irritante de mucosas, além de risco de pneumonite química em caso de aspiração.

**Sinais clínicos:** irritação gastrointestinal (náuseas, vômitos, até gastrite hemorrágica) e urinária com hemoglobinúria devido à hemólise.

**Tratamento:** evitar emese (risco de aspiração); alimentos ou laxantes oleosos (aumentam a absorção); RX de tórax, 24 horas após ingesta pelo risco de pneumonite química; neste caso utilizar antimicrobianos.

- **Limpadores ou desinfetantes com amoníaco ou formaldeído:** substâncias cáusticas que causam lesões de pele e mucosas; **atentar** para seu uso em canis e pocilgas, adicionado ao hipoclorito de sódio, risco de potencializar os efeitos cáusticos e pela maior liberação de gases que levam a alterações respiratórias mais intensas.

**Sinais clínicos:** ingeridos - distúrbios gastrointestinal, com náuseas, vômitos, diarreia (risco de desidratação); distúrbio hidroeletrólítico; lesão renal que leva a oligúria, albuminúria; inalados - tosse, dispnéia, espasmos de glote e laringe.

**Tratamento:** descontaminação, evitar o vômito, diluir com leite ou água; assistência respiratória; corrigir desequilíbrio hidreletrólítico; controle de função renal.

- **Abrasivos:** produtos compostos por sílica, pedra pome; utilizados na limpeza de utensílios domésticos.

**Toxicidade:** baixa toxicidade.

**Sinais clínicos:** saponáceo pó - irritação das vias aéreas superiores; ingestão do pó ou do creme - irritação gastrointestinal.

**Tratamento:** descontaminação e sintomático.

### Alvejantes

Também utilizados como antissépticos. O princípio ativo é o hipoclorito de sódio, que em contato com o suco gástrico se transforma em ácido hipocloroso que aumenta seu potencial irritante de pele e mucosa; comercialmente apresenta-se com uma concentração de 3% de cloro ativo, existindo formulações com até 12 % de cloro ativo, o que torna o produto corrosivo.

**Diagnóstico:** odor característico; reações com nitrato de prata onde ocorre precipitação branca; reações com nitrato de chumbo onde ocorre precipitação branca que se torna alaranjada/marrom.

**Sinais clínicos:** ingeridos - náuseas, vômitos, irritação de oro-faringe; alteração hidreletrolítica importante; edema de glote com risco de asfixia e apresentação de cianose; raramente, perfuração de mucosa gástrica; inalados - irritação do trato respiratório (cianose e asfixia).

**Tratamento:** descontaminação, demulcentes, sintomático (analgésicos/hidratação).

### **Desentupidores/Desengraxantes**

São produtos cujo princípio ativo é o hidróxido de sódio; utilizados na indústria, em pocilgas, canis e residências com a finalidade de retirar matéria orgânica acumulada.

**Toxicidade:** **emergência** toxicológica; provoca queimaduras muito invasivas devido ao seu alto pH.

**Sinais clínicos:** dor intensa e imediata; vômitos que se tornam sanguinolentos; dificuldade respiratória; colapso circulatório por hipovolemia; choque hemorrágico por perfuração de esôfago e estômago; em contato com os olhos, causam úlceras de córnea; a morte geralmente ocorre por asfixia ou por infecção secundária entre o segundo e terceiro dia após a ingestão, podendo ocorrer ao final de uma semana (rigidez abdominal, choque por septicemia e morte).

**Tratamento:** demulcentes de forma fracionada, correção de desequilíbrio hidreletrolítico; corticóides (diminuir estenoses); antimicrobianoterapia; repouso gástrico (pelo menos por 4 horas).

### **Ácidos**

- **Ácido acético:** vinagre de cozinha, baixo risco toxicológico, podendo provocar leve desconforto abdominal.
- **Ácido bórico:** utilizado em medicamentos (colírios - baixas concentrações). Apresentações com outras finalidades (15g do produto, representa risco de vida).
- **Ácido clorídrico ou muriático:** utilizado na limpeza de utensílios domésticos, possui média toxicidade.
- **Ácido oxálico:** presente nos polidores de metais, combina-se com o cálcio do organismo formando oxalato de cálcio insolúvel, que causa hipocalcemia e lesão tubular renal.
- **Ácido sulfúrico:** ácido forte, utilizado em baterias de automóveis; em contato com pele e/ou mucosas causa necrose de coagulação.

**Toxicidade:** os ácidos fortes formam uma necrose por coagulação, isto é, formam um coágulo que impede um aprofundamento intenso da lesão inicial.

**Sinais clínicos:** dor local, náuseas, vômitos; edema de glote; tosse com aumento da secreção brônquica que pode levar a edema pulmonar; contato - queimadura de pele, mucosa e lesão de córnea; desidratação, hipotensão e choque; aumento da temperatura corporal.

**Tratamento:** demulcentes de forma fracionada; **evitar** provocar vômito ou lavagem gástrica, neutralização química (reação exotérmica) e oferecer alimentos sólidos; correção do desequilíbrio hidreletrolítico; descontaminação de pele, mucosas, olhos por lavagem copiosa com solução fisiológica.

### **Álcalis**

- **Óxido de cálcio:** produto alcalino de pouco poder invasivo e sem efeito corrosivo; quando em contato com a água produz calor.
- **Hidróxido de sódio (soda cáustica):** de pH em torno de 12; apresenta-se na forma líquida e em escamas.

**Toxicidade:** provocam uma necrose do tipo liquefação com aprofundamento da lesão inicial.

**Sinais clínicos:** dor local (pode ocorrer destruição das terminações nervosas, ficando prejudicada a relação dor/ lesão); vômitos escuros; desequilíbrio hidreletrolítico; contato - queimadura de pele, mucosa e lesão de córnea; desidratação; hipotensão e choque; aumento da temperatura corporal.

**Tratamento:** demulcentes de forma fracionada; **evitar** provocar vômito ou lavagem gástrica, neutralização química (reação exotérmica) e oferecer alimentos sólidos; correção do desequilíbrio hidreletrolítico; descontaminação de pele, mucosas, olhos por lavagem copiosa com solução fisiológica.

### **Polidores**

São produtos utilizados na limpeza e polimento de utensílios domésticos.

- **Polidor de móveis:** contém destilados do petróleo.

**Sinais clínicos:** irritação pulmonar, de mucosa gástrica, pele e mucosas; depressão do SNC.

- **Polidor de metais:** contém ácido oxálico, substância cáustica.

**Sinais clínicos:** irritação pulmonar, de mucosa gástrica, pele e mucosas.

- **Polidor de sapatos:** contém ceras e anilina (pigmento).

**Toxicidade:** ceras apresentam baixa toxicidade; a anilina é metahemoglobinizante, mas pela quantidade na formulação, representa pouco risco.

- **Removedor de ferrugem:** contém várias substâncias de interesse toxicológico: hipocloritos, ácido oxálico,...

**Sinais clínicos:** irritação pulmonar, de mucosa gástrica, pele e mucosas.

**Tratamento:** para polidores de móveis, metais e removedores de ferrugem, administrar demulcentes de forma fracionada; **evitar** provocar vômito ou lavagem gástrica, neutralização química e oferecer alimentos sólidos; correção do desequilíbrio hidreletrolítico; descontaminação de pele, mucosas, olhos por lavagem copiosa com solução fisiológica.

### **Produtos de Higiene e Cosméticos**

**Desodorantes:** produtos a base de agentes antibacterianos/antiperspirantes como alumínio/zircônio e álcool.

**Perfumes/Colônias/Loções de barba**

**Toxicidade:** devido a grande quantidade, o álcool, representa maior risco.

**Sinais clínicos:** irritação de mucosa, náuseas e vômitos; alterações neurológicas como euforia, seguida de depressão.

**Batom:** contém óleo de rícino e ceras.

**Toxicidade:** baixa.

**Sinais clínicos:** distúrbio gastrointestinal, se ingerido em grande quantidade.

**Loções Depilatórias:** produtos a base de tioglicolatos, que por seu pH 8-12, torna-se cáustico; contém sulfetos que conferem ao produto odor de “ovo podre”.

**Sinais clínicos:** irritação pulmonar, de mucosa gástrica, pele e mucosas.

**Loções para Permanente:** produtos a base de tioglicolatos, que por seu pH 8-12, torna-se cáustico; contém bromatos, substâncias metahemoglobinizantes.

**Sinais clínicos:** irritação pulmonar, de mucosa gástrica, pele e mucosas; metahemoglobinizantes - cianose e distúrbios neurológicos devido a hipóxia.

**Tratamento:** descontaminação; azul de metileno (1 mg/kg IV), associado com ácido ascórbico 1 a 2g/dia; transfusão de sangue se necessário.

**Tintura para Cabelos:** produto a base de pigmentos (metais pesados) e fenilenodiamina (reagente químico); agentes oxidantes.

**Sinais clínicos:** irritação de mucosa gástrica, pele e mucosas; reação de hipersensibilidade com edema de face, lábios e glote.

**Talco:** produto a base de carbonato de magnésio.

**Toxicidade:** praticamente atóxico, ocorrendo risco de asfixia por seu efeito mecânico, pois com a saliva pode formar “bolo”.

**Tratamento geral para todos os produtos de higiene e cosméticos, além do específico descrito:**

demulcentes; correção do desequilíbrio hidreletrolítico; descontaminação de pele, mucosas, olhos por lavagem copiosa com solução fisiológica.

**Colas e Adesivos:** amplamente utilizadas utilizadas, tanto em ambiente doméstico, escolar e em indústrias de calçados, aeromodelismo, etc; os acidentes ocorrem por confusão pela semelhança das embalagens com produtos como pasta de dentes, alimentos, que quando deixados no chão ou local inadequado, servem para bricadeiras e são mordidos pelos animais jovens.

**Colas Brancas:** colas plásticas, praticamente inócuas.

**Colas de sapateiro ou de aerodelismo:** contém tolueno. Recomendado ambiente arejado quando da sua utilização.

**Sinais clínicos:** euforia; irritabilidade; bronquite até asfixia; dermatites; ingerido (raro) - edema de lábios, edema de língua com dor e sialorréia; alterações hematológicas (uso ou exposição crônica), quando há contaminação por benzeno, pode levar à aplasia de medula.

**Colas do tipo Bonder:** adesivo instantâneo a base de cianoacrilato de metila/bucrilatos.

**Toxicidade:** baixa, o contato provoca adesão rápida de tecidos; ingestão improvável, solidifica rapidamente.

**Sinais clínicos:** queimadura em área de contato; ruptura de estruturas (pele e mucosas), na tentativa de separar.

**Tratamento:** descontaminação com água morna e emolientes (hidratantes) em movimentos circulares leves; compressas com água morna e sabão, não separar estruturas.

#### **Tintas:**

- Óleo: mamona, tungue mais solventes destilados do petróleo;
- Plástica: base de resinas;
- Caição:
  - cal extinta: pouco corrosiva;
  - cal virgem em água: queimadura;
- Escrever: pequeno risco pela apresentação atual;
- Carimbar tecidos: surtos em berçários;

\* **Solvente:** amina aromática usada como veículo de pigmento.

**Sinais clínicos:** distúrbios neurológicos, hipóxia, cianose.

**Tratamento:** azul de metileno (1 mg/kg IV e ácido ascórbico (1g/kg); transfusão.

**Pigmentos:** variam de acordo com a cor.

**Componentes:** branco - óxido de titânio, chumbo; amarelo - sulfeto de cádmio, cromato de bário; azul - sulfato de chumbo; marrom - óxido de ferro; verde - óxido de cromo e vermelho - óxido de ferro e sulfeto de mercúrio.

**Toxicidade:** risco ocupacional; utilização de cerâmicas (Pb em meio ácido - quadro de saturnismo).

## **8.6 Pesticidas**

### **8.6.1 Fungicidas**

Servem para evitar o crescimento fúngico em sementes de grãos, plantas (tubérculos, frutas, etc.), solo ou madeiras. Variam em toxicidade; veículos como solventes também podem ser tóxicos.

**Sinais clínicos:** inespecíficos; anorexia, depressão, fraqueza e diarreia.

**Tratamento:** descontaminação do animal; supressão da fonte de origem do envenenamento (pastagem ou alimento), tratamento sintomático.

**Ditiocarbamatos:** dissulfeto de thiuram; ditiocarbamatos metálicos e etileno-bis-ditiocarbamato.

**Características:** derivados do ácido ditiocarbâmico, degradação mais acentuada devido a maior umidade ou meio ácido; cristais sólidos, brancos ou incolores, solúveis em solventes orgânicos apolares (acetona, clorofórmio, benzeno, e xileno).

**Toxicocinética:** absorvidos por via oral, respiratória ou cutânea.

**Toxicidade:** variável; baixa a moderada; álcool favorece o aumento da toxicidade; etileno-etiluréia (ETU) como impureza de fabricação da formulação possui efeitos carcinogênico (adenocarcinoma de tireóide), teratogênico e mutagênico em animais de laboratório.



**Sinais clínicos:** depressão, anorexia e diarreia amarelada em herbívoros; em exposição intensa - dermatite, faringite, bronquite e conjuntivite (mamíferos); Thiram e Ziram em aves induz atraso do crescimento, inibição da postura, diminuição da ingestão de ração, aumento da mortalidade embrionária e deformações dos membros de aves jovens;

**Tratamento:** descontaminação, remoção do animal do local contaminado e suspensão da alimentação suspeita; sintomático.

**Fungicidas a base de cobre:** sulfato de cobre (princípio ativo da calda bordalesa); oxiclreto de cobre; óxido cuproso e hidróxido de cobre.

**Toxicidade:** intoxicação rara, cobre induz vômito, pouco palatável, necessário doses elevadas; aguda 1-2 dias e crônica 1-4 dias.

**Mecanismo de ação:** inibe enzimas vitais, induzindo alterações hepáticas, metemoglobinemia, crise hemolítica e necrose renal; sulfato de cobre tem propriedades cáusticas (lesões de pele e mucosas)

**Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** agudos - diarreia aguda profusa, hemorragias e ptialismo; sinais nervosos - fase convulsiva seguida de paralisia membros posteriores; sinais cardiovasculares - diminuição do pulso, taquicardia e morte por colapso; monogástricos - vômito azulado;
- **laboratorial:** alteração das enzimas hepáticas, amostras de fígado e rim para exame toxicológico;
- **lesões:** aguda - gastroenterites, congestão hepática, renal e esplênica; crônico - icterícia, degeneração hepática, vesícula biliar aumentada, rins friáveis e com petéquias e derrames cavitários sero-hemorrágicos.

**Tratamento:** descontaminação cutânea com água (contato direto com o produto); demulcentes para favorecer a precipitação do Cu existente no conteúdo gástrico; sintomático e queladores de metais (BAL, EDTA, e penicilamina) indicados em casos graves - prognóstico grave;

**Fungicidas derivados do fenol:**

**Pentaclorofenol:** fungicida, herbicida, bactericida, molusquicida e inseticida; preservante de madeira.

**Exposição:** animais de produção: aves (maravalha), cochos, postes.

**Toxicocinética:** absorvido rapidamente pela pele, pulmões (volatilização) e trato gastrintestinal; inibidor enzimáticos (diminui a formação de ATP).

**Sinais clínicos:** irritação de pele e mucosas; fraqueza muscular e anorexia; se grave - hipertermia, polipnéia e morte por colapso.

**Lesões:** rigidez cadavérica precoce, petéquias e congestão generalizada.

**Tratamento:** descontaminação cutânea; diminuição da temperatura com duchas de água fria; sintomático.

### 8.6.2 Herbicidas

- inorgânicos: arsênicos e clorados; a maioria banida para uso;
- orgânicos sintéticos (mais utilizados): controle de ervas daninhas.

Mecanismo de ação:

- herbicidas reguladores de crescimento e inibidores de crescimento, fosforilação oxidativa, fotossíntese, mitose, síntese de clorofila, dentre outros;

**Herbicidas fenoxiacéticos:** 2-4D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético); 2,4,5 - T (ácido triclorofenoxiacético); MCPA (ácido - metil-4 clorofenoxiacético).

**Exposição:** ingestão de concentrados, na água, pastagens ou com plantas tóxicas (potencializando a toxicidade: *Chenopodium*, capim Sudão).

**Toxicidade:** aumentada por contaminante dioxina - teratogênica; aumentam o potencial tóxico de algumas plantas (nitritos) e a palatabilidade (ingestão); íons de nitrito transformam hemoglobina em metahemoglobina (anóxia tecidual); cães: maior toxicidade - excreção lenta; aguda - DT de 200 mg/kg para bovinos e 100 mg/kg para suínos; DL<sub>50</sub> oral 500 mg/kg para ratos e 100 mg/kg para cães; crônica: 100 mg/kg para bovinos (10-30d).

**Mecanismo de ação:** deprimem a síntese de ribonucleases, desacoplam a fosforilação oxidativa e aumentam o número de peroxissomos hepáticos.

**Toxicocinética:**

- absorção: via inalatória e oral, a cutânea é menor e incompleta;
- distribuição: ligado a proteínas plasmáticas vai p/ fígado, rins e cérebro;
- biotransformação: por hidrólise;
- excreção: por secreção tubular, T1/2 18h (na forragem é de 1-2 semanas); caninos excretam mais lentamente (melhor se alcalinizar a urina).

**Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** irritação de mucosa; via oral - hipersalivação, úlceras orais, timpanismo, estase ruminal, dor gástrica, vômito e diarreia sanguinolenta, miotonia seguida de fraqueza muscular, ataxia, incoordenação e perda de reflexos; espasmos clônicos periódicos, anorexia e depressão;
- **laboratorial:** eletromiograma (cães), creatinina fosfocinase, lactato desidrogenase e fosfatase alcalina; análises químicas de forragens, urina ou tecido renal;
- **lesão:** membranas musculares em cães; úlceras orais, fígado aumentado e friável, congestão renal e degeneração tubular, linfonodos e vasos mesentéricos hiperêmicos e aumentados, hemorragia epicárdica, hidropericárdio.

**Tratamento:** não há antídoto específico; descontaminação das áreas atingidas, medidas gerais de diluição e esvaziamento gástrico, tratamento sintomático; azul de metileno ou altas doses de ácido ascórbico- metahemoglobinemia; monitorização da função renal.

**Derivados de Fenóis e Cresóis:** 2-4 Dinitrofenol, 2-4 Dinitroresol.

**Toxicocinética:**

- absorção: boa absorção por todas as vias.

**Mecanismo de ação:** estímulo da oxidação celular (catabolismo de glicídios), inibição da síntese de ATP; aumento do consumo de oxigênio e diminuição da glicose sérica; ação corrosiva.

**Toxicidade:** aumentada: por temperaturas altas; atividade física; más condições gerais; veículos como solventes oleosos ou orgânicos; exposições anteriores; hipotireoidismo; reduzida: por baixas temperaturas; drogas antitireoidianas; presença de gordura corpórea.

**Sinais clínicos:** hipertermia elevada (40-44 °C em ruminantes), anorexia, sede intensa, dermatites, erosão de mucosas, polipnéia, sudorese, desidratação progressiva; acidose, taquicardia, alterações hepáticas e renais; coma e morte; em ruminantes o Dinoseb causa metemoglobinemia - coloração amarelada da pele em torno da boca, no pelo e em torno do nariz e cascos que persiste de dias a semanas.

**Tratamento:** não existe antídoto; sintomático (diminuição da temperatura; hidratação); contraindicados o uso de morfina e barbitúricos.

**Triazinas:** Atrazina, Triazina, Simazina, Prometon, Prometrina, Ciazina, Terbutrine, Propazina e Ametrina.

**Toxicidade:** variada, dependendo das formulações e solventes.

**Mecanismo de ação:** inibição da fotossíntese (no animal desconhecido).

**Características:** persistência no solo: 3 – 18 meses.

**Sinais clínicos:** anorexia, depressão, atonia muscular, espasmos musculares e dispnéia; fraqueza, incoordenação motora.

**Lesões:** congestão gastrintestinal; enfisema pulmonar, hemorragias no miocárdio, rins e encéfalo.

**Tratamento:** sem antídoto específico; sintomático.

**Herbicidas dipirilo e bidipirilo:** Paraquat, Diquat,...

**Características:** não voláteis, solúveis em água e estáveis até 300°C, fortemente ligados a argila do solo.

**Exposição:** formas concentradas na agricultura, consumo de concentrados ou em misturas em tanques.

**Toxicocinética:**

- **absorção:** oral, menos de 20%; dermal, menos de 10%;

- **distribuição:** 10x mais nos pulmões;
- **biotransformação:** mínima;
- **excreção:** maioria inalterado na urina.

**Toxicidade:** aguda - DL<sub>50</sub> ratos: 100 mg/kg, perus: 250 mg/kg, outras espécies: 25-75 mg/kg; crônica - 170 ppm por 2 meses em cães.

**Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** agudos - ingestão cáustica (estomatite, faringite, traqueíte, dores na faringe e abdominais intensa, vômito e diarreia), depressão, ataxia, dispnéia, cianose e convulsões; 2-10 dias - congestão e edema pulmonar; infiltração, conduzindo a fibrose pulmonar progressiva.
- **laboratorial:** toxicológico (2-3 dias).
- **lesões:** congestão, hemorragia, atelectasia, broncodilatação, enfisema pulmonar e lesões de membrana, degeneração celular e necrose (principalmente pulmonar).

**Tratamento:** induzir emese, lavagem gástrica, adsorventes (bentonita), ventilação assistida (oxigênio contra-indicado), monitorar a função renal, administração de antagonistas bioquímicos: superóxido dismutase, acetilcisteína, ácido ascórbico, niacina e riboflavina.

**Tiocarbamatos:** Pebulate, Dialato, Trialato, Diclormato, Vernolato, Clorprofam, Barban, Pebulato, Molinate.

**Toxicidade:** moderada; bastante voláteis.

**Sinais clínicos:** ruminantes - espasmos musculares, ataxia, depressão e prostração; crônico – alopecia.

**Lesões:** alterações hepáticas, congestão e necrose renal.

**Tratamento:** antídoto desconhecido; descontaminação das áreas atingidas, diluição ou esvaziamento gástrico e sintomático.

### 8.6.3 Molusquicida

**Metaldeído:** princípio ativo nas preparações de molusquicidas, utilizado no combate a lesmas e caracóis; normalmente de coloração azul-esverdeada, contendo de 3,5-8% de metaldeído; palatável, podendo ser ingerido por cães, gatos e ovinos.

**Toxicidade:** DL<sub>50</sub> oral para cães: 60 mg/kg.

**Toxicocinética:**

- **absorção:** rapidamente absorvido por via digestiva;
- **biotransformação:** metabolizado em acetaldeído;
- **excreção:** urinária.

**Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** podem surgir de 30min a 3h - ansiedade e inquietação, sialorréia, hiperpnéia, taquicardia, congestão de pele e mucosas, midríase, nistagmo, hipertermia, vômitos, hematemesa, diarreia e desidratação; ataxia, tremores musculares, opistótono, convulsões e cianose; eventualmente, sonolência; gatos - nistagmo predominante; bovinos e ovinos - predominam ataxia/ tremores; eqüinos - predominam cólicas, diarreia, sudorese e tremores.
- **laboratorial:** acidose metabólica; colinesterase para diferenciar de organofosforado.
- **lesões:** macroscópicas - congestão hepática, renal e pulmonar, petéquias e equimose gastrintestinal; microscópicas - edema, degeneração hepática e neuronal cerebral.
- **diferencial:** organofosforado - atividade da acetilcolinesterase.

**Tratamento:** descontaminação - emese ou lavagem gástrica; carvão é ineficaz; sintomático – diazepam ou pentobarbital para sedação e controle de convulsões; respiração assistida; correção da acidose; dextrose, vitaminas e antimicrobianos, em alguns casos.

\* **Inseticidas Organofosforados/Carbamatos e Piretróides são abordados em produtos veterinários.**

#### 8.6.4 Rodenticidas

Produtos elaborados a partir de substâncias anticoagulantes (derivados cumarínicos ou indanediona) estão disponíveis comercialmente em várias apresentações como pastas, granulados, blocos parafinados, pós. Há ainda, produtos ilícitos como a estricnina e o fluoracetato de sódio (1080).

**Exposição:** iscas colocadas para controle de roedores em locais acessíveis aos animais domésticos e contaminação acidental ou intencional dos alimentos.

##### Anticoagulantes

**Toxicidade:** conforme a Tabela 15, pode-se verificar as diferenças de sensibilidade entre as espécies.

Tabela 15. Toxicidade dos rodenticidas anticoagulante nas diferentes espécies animais.

| Espécie    | Varfarina<br>Dose única / repetida<br>(mg/kg) | Difaciona<br>Dose única / repetida<br>(mg/kg) | Brodifacoum<br>Dose única / repetida<br>(mg/kg) |
|------------|---|---|---|
| Gatos      | 5-50 / 1 (5 dias)                             | 15*   | 25*   |
| Cães       | 5-50 / 5 (5-15 dias)                          | 3*  | 0,25-3,6*                                       |
| Suínos     | 3 / 0,05 (7 dias)                             | 150*  | 0,5-2,0*  |
| Ruminantes | - / 200 (12 dias)                             |   | 25-33*  |

Fonte: Osweiler (1998). \* DL<sub>50</sub>

**Mecanismo de ação:** inibição competitiva da enzima Vitamina K epóxido redutase, necessária para a redução da Vitamina K, forma biologicamente ativa para exercer a ativação dos fatores II, VII, IX e X, essenciais na cascata da coagulação sanguínea.

##### Toxicocinética:

- absorção: altamente absorvido (90%), com pico plasmático em 12 horas;
- distribuição: alta taxa de ligação a proteínas plasmáticas (90-95% - varfarina);
- biotransformação: através de oxidases de função mista microsossomais geram metabólitos hidroxilados inativos;
- excreção: renal.

Comparação entre anticoagulantes:

- 1ª geração (varfarina, dicumarol,...): antigos, baixa potência, excreção rápida e, usualmente, necessidade de várias doses para indução de toxicidade;
- 2ª geração (brodifacoum, bromadiolona, difaciona,...): mais modernos, retidos no organismo por período prolongado, e eficazes após ingestão de dose única.

**Agentes potencializadores da toxicidade:** sulfonamidas, antibióticos de amplo espectro (reduzem a síntese no trato intestinal), fenilbutazona e corticosteróides (deslocamento dos sítios de ligação plasmática).

##### Diagnóstico:

- **sinais clínicos:** hematoma subcutâneo, epistaxe, hemorragia gengival, fezes escuras, hematemese, hematuria (aparentes de 1 a 3 dias após a ingestão), posteriormente: mucosas pálidas, fraqueza, ataxia, dispnéia, frequência cardíaca irregular, pulso fraco, cianose e choque; pode haver morte súbita.
- **laboratorial:** tempo de coagulação (2-10 vezes mais longo); tempo de protrombina (2-6 vezes mais longo); análise do anticoagulante ou de seus metabólitos em urina, sangue ou tecidos (renal, hepático).
- **lesão:** hemorragias (equimoses ou sufusões), hemotórax, hemopericárdio, edema e hemorragia pulmonar, necrose centrolobular hepática.

**Tratamento:** 2-5 mg/kg/dia de Fitonandiona (Vitamina K<sub>1</sub>), via oral ou SC, divididos em duas tomadas no 1º dia e após, 2-3 mg/kg/dia, via oral, dividido em três tomadas por dia, por uma semana; se for anticoagulante de 2ª geração, 1-2 mg/kg/dia, via oral, dividido em três doses ao dia, por 6 semanas; tratamento de suporte: transfusão de sangue ou plasma.

## Estricnina

Uso ilícito como rodenticida.

**Toxicidade:** aguda causada pelo alcalóide indólico extraído da *Strychnos nux vomica*, sendo este, relativamente estável e persistente no alimento e no ambiente. Conforme a Tabela 16, pode-se verificar as diferenças de sensibilidade entre as espécies.

Tabela 16. Toxicidade da estricnina nas diferentes espécies animais.

| Espécie | Estricnina (mg/kg) |
|---------|--------------------|
| Aves    | 5,0                |
| Bovinos | 0,5                |
| Cães    | 0,75               |
| Eqüinos | 0,5                |
| Gatos   | 2,0                |
| Ratos   | 3,0                |
| Suínos  | 0,5                |

Fonte: Osweiler (1998).

**Mecanismo de ação:** bloqueio competitivo dos receptores da glicina (neurotransmissor inibitório); a inibição do arco reflexo é perdida, resultando em excitação incontrolável do reflexo medular, estimulação dos músculos extensores, resultando em rigidez e convulsões.

### Toxicocinética:

- absorção: rápida pelas mucosas do TGI e respiratória;
- distribuição: apenas uma pequena parte atinge o SNC (sítio de ação), grandes quantidades são encontradas no fígado e nos rins;
- biotransformação: transformada em N-óxido de estricnina pelas oxidases microsossomais de função mista;
- excreção: urinária (urina ácida aumenta a excreção do alcalóide).

### Diagnóstico:

- **sinais clínicos:** nervosismo, intranquilidade, tremores e abalos musculares, hipersensibilidade a luz e ruídos, convulsões tônicas ou tetânicas de início súbito (15min a 2h da ingestão), hipertermia, mioglobinúria.
- **laboratorial:** creatinina fosfocinase, pesquisa de estricnina em urina, conteúdo gástrico ou tecido hepático.
- **lesão:** *rigor mortis* rápido.

**Tratamento:** anticonvulsivantes (barbitúrico ou BZD), mesmo antes da descontaminação por lavagem gástrica (anestesiado e com tubo endotraqueal colocado); diurese líquida e acidificação urinária (caso não esteja em acidose).

## Fluoracetato (1080)

Uso ilícito como rodenticida.

**Toxicidade:** é altamente tóxico para cães (DL<sub>50</sub> de 66µg/kg) principalmente se comparada à toxicidade para gatos (DL<sub>50</sub> 350µg/kg).

**Mecanismo de ação:** o fluoracetato substitui a acetil coenzima A, no metabolismo intermediário, combinando-se com o ácido oxaloacético formando o fluorocitrato que inibe a aconitase, com a consequente interrupção do ciclo do ácido cítrico, resultando em bloqueio da produção de energia e da respiração celular.

### Toxicocinética:

- absorção: rápida absorção pelo TGI;
- biotransformação: hidrolizado a ácido monofluoracético.

### Diagnóstico:

- **sinais clínicos:** cães - intranquilidade, hiperirritabilidade, corrida selvagem, histeria, latidos, emese, defecação, micção, dispnéia, sialorréia, convulsões tônico-clônicas intermitentes; gatos – vocalização e arritmias cardíacas; equinos e ruminantes – parada cardíaca (morte súbita).
- **laboratorial:** hiperglicemia, acidose, níveis de citrato em sangue ou tecido renal, conteúdo gástrico.
- **lesão:** *rigor mortis* rápido, coração pálido e flácido.

**Tratamento:** anticonvulsivantes (barbitúrico de ação curta), assistência respiratória, descontaminação por indução de emese ou lavagem gástrica (anestesiado e com tubo endotraqueal colocado); como antídoto o monoacetato de glicerol na dose de 0,55 mg/kg via IM a cada hora, até atingir 2-4 mg/kg ou alternativamente, etanol (50%) em ácido acético (5%), 8 mL/kg, via oral (supre de acetato para reduzir a conversão do fluoracetato em fluorocitrato).

## 8.7 Metais e minerais

### Chumbo

**Fontes:** intensamente utilizado no passado em tintas para edificações, automotivos, calafetagem, fundições, cerâmicas, lubrificantes, gasolina, óleo queimado, arsenato de chumbo (pesticida),... e pelo caráter persistente no ambiente, ainda provoca intoxicações; dentre os usos atuais, cita-se: baterias, chumbos de pesca, chumbo grosso para caça e sola para encanamentos.

**Mecanismo de lesão toxicológica:** o chumbo liga-se aos grupos sulfidrilas de muitas enzimas envolvidas na função hematopoética, interferindo na ação das mesmas (inibição da ALAD, hemesintetase, ferroquelatase – reduzindo a síntese do heme e acumulando seus precursores (ALA, coproporfirinas, e protoporfirina de zinco), além da inibição da 5'-nucleotidase (conduzindo a retenção de ácidos nucleicos e ribossomas – pontilhado basofílico); o chumbo compete com o zinco nos sítios de ligação de algumas enzimas; no SNC – interfere no GABA, na função colinérgica, na captação da dopamina e no cálcio (redução das concentrações extracelulares);

**Toxicidade:** pode ser sazonal, aumentando a incidência na primavera-verão, maioria subaguda, por objetos no TGI; a absorção é lenta e incompleta (2-10%), sendo aumentada em pH ácido e na carência de Ca e Zn; transportado como proteínato de chumbo na membrana dos eritrócitos (concentrações muito baixas no soro); deposita-se brevemente em tecidos moles, atravessa a barreira placentária e acumula-se no feto; grande deposição em ossos (70% nos ossos esponjosos), bloqueando a hematopoese na medula óssea; excretado na urina.

### Diagnóstico:

**sinais clínicos:** encefalopatia com convulsões, tremores, cegueira, depressão ou demência; alterações digestivas com anorexia, cólicas, emese e constipação; anemia e proteinúria; em bovinos ocorre oscilação da cabeça com contração rítmica das orelhas, estase ruminal e aborto tardio; em equinos há roncões (paralisia do nervo recorrente laríngeo), cólica, engrossamento das epífises em potros; em cães ocorre histeria à depressão intermitentes; em gatos há depressão e miados persistentes; em aves aquáticas: paresia das asas e psitacídeos torcicolo e movimentos circulares.

**laboratorial:** hematologia: o nível de chumbo em sangue é elevado em todas as espécies afetadas (0,4 ppm associa-se a sinais clínicos e menos de 0,1 ppm é considerada normal), bovinos: porfíria plasmática e urinária; cães: pontilhado basofílico, eritrócitos nucleados e protoporfirina de zinco; urinálise: aumento dos níveis de ALAU; radiologia: em pequenos animais imagens radiodensas abdominais compatíveis com a ingestão de objetos de chumbo; animais jovens (cães, potros,...) apresentam esclerose metafiseal e linhas de chumbo.

**lesões:** as macroscópicas incluem musculatura pálida em bovinos, fragmentos de tinta, óleo queimado,... no TGI além da fluorescência do plasma sob luz ultravioleta (porfíria); as microscópicas em bovinos incluem necrose cerebral cortical e polimalácia, degeneração tubular ou necrose renal, inclusões nucleares de reação ácida no epitélio tubular renal.

**Tratamento: quelação – EDTA-cálcico-dissódico** (não aprovado pelo FDA para uso veterinário) passível de aquisição em farmácias ou indústria química; \* evitar o EDTA tetrassódico, pois pode quelar o cálcio e conduzir a hipocalcemia; 110 mg/kg de EDTA-cálcico-dissódico diluído em 1g/mL

de glicose 5%, dividido em 3 doses, sendo a 1ª IV e as demais SC, máximo por 5 dias; efeitos adversos como depressão, anorexia e emese, podem ser antagonizados pela suplementação com zinco; pode ocasionalmente aumentar os níveis de chumbo por mobilizá-los dos locais de armazenamento inertes (ossos), sem quelar o chumbo no SNC; o **dimercaprol** administrado antes do EDTA pode auxiliar no alívio dos sinais neurológicos agudos (atravessa a BHE) além de aumentar a excreção biliar e urinária do chumbo; a **D-penicilamina** é também queladora e ativa por via oral, na dose de 8 mg/kg dividida em 4 tomadas/dia, utilizada em intoxicações crônicas ou após o uso de EDTA; o **ADS – ácido dimercaptosuccínico** é recomendado para pássaros (menos tóxico), na dose de 25-35 mg/kg VO, dividida em 2 tomadas/dia, por 5 dias. **Terapia de suporte:** descontaminação do TGI com sulfato de magnésio (precipita o chumbo e promove a evacuação); tiamina (0,5-1g/dia para bovinos); corticosteróide e manitol (edema cerebral em bovinos e eqüinos); diazepam ou barbitúricos (controle de convulsões); suplementação com zinco; hidratação; administração de probióticos ou conteúdo ruminal; remoção cirúrgica dos objetos ou rumenotomia (estase).

**Considerações de saúde pública:** a ocorrência de surtos de intoxicação por chumbo em rebanhos deve ser comunicada às autoridades de saúde pública; as fontes de intoxicação são comuns a homens e animais (podendo estes servir como indicadores biológicos de contaminação ambiental); apesar da excreção de chumbo pelo leite ser mínima, especial atenção deve ser dada a produtos contendo ossos ou farinha de ossos (local de armazenamento).

### Arsênico

**Fontes:** minas, solos próximos de minerações, fundições, ...; ambiente ele existe na forma pentavalente, mas pode ser metilado por microorganismos; herbicidas (inorgânicos no passado e orgânicos na atualidade); tiacetarsamida (tratamento da dirofilariose em cães); aditivo alimentar (ácido aesanílico, arsanilato de sódio,...). A exposição ocorre por contato com os pesticidas armazenados inadequadamente, solos contaminados, pilhas incineradas, águas contaminadas, iscas para formigas, uso terapêutico, uso crônico ou dose excessiva como aditivo alimentar para aves ou suínos (pentavalente).

**Toxicocinética:** facilmente absorvidos pelo TGI e pele; os arseniacais inorgânicos sofrem metilação o que pode auxiliar na detoxificação; uma pequena fração do pentavalente pode ser reduzida a trivalente (mais tóxico), sendo que o pentavalente é excretado via renal e o trivalente via biliar-fecal, dentro de poucos dias.

**Toxicidade:** inorgânicos trivalentes são 10 vezes mais tóxicos que os pentavalentes; dentre as espécies mais suscetíveis a intoxicação aguda, citam-se gatos, eqüinos seguidos pelos bovinos, ovinos, suínos e aves; toxicidade crônica é rara.

**Diagnóstico:** pelos sinais clínicos associados ao histórico de exposição, confirmado por análises de líquidos orgânicos.

#### sinais clínicos:

- agudos/trivalente: vômito, dor abdominal intensa, diarreia aquosa grave de início súbito, atonia ruminal e gastrintestinal, fraqueza, rigidez, ataxia, decúbito, pulso rápido e fraco, sinais de choque hipovolêmico; se sobrevivem, na seqüência pode haver oligúria e proteinúria, desidratação, acidose e azotemia o que pode levar a morte.
- agudos/pentavalente: ataxia, incoordenação, torcicolo e cegueira, fraqueza e decúbito lateral.

**laboratorial:** hemoconcentração, aumento do nitrogênio uréico sangüíneo, proteinúria, aumento de densidade urinária e presença de cilindros no sedimento; pesquisa de arsênico inorgânico em pêlos, fezes, urina ou vômito, se *post mortem*, em fígado, rins ou tecido nervoso; arsênico orgânico, deve ser investigado principalmente em tecido nervoso.

**lesões:** congestão da mucosa gastrintestinal, edema de submucosa, necrose epitelial e acúmulo maciço de líquidos no intestino delgado; rins pálidos e edemaciados, fígado pálido, petéquias da mucosa e serosa intestinal; as lesões microscópicas incluem: dilatação capilar intestinal, necrose epitelial intestinal e tubular renal, degeneração gordurosa do fígado.

**Tratamento:** desintoxicação gastrintestinal com eméticos e carvão ativado; terapia hidreletrolítica e correção ácido-básica; o antídoto dimercaprol só é eficaz se administrado

precocemente (antes dos sinais clínicos aparecerem); apesar do ácido tióico ser mais eficaz que o dimercaprol (para bovinos), este não está disponível comercialmente, nem aprovado para ser utilizado em animais de produção.

### Mecanismo de lesão toxicológica:

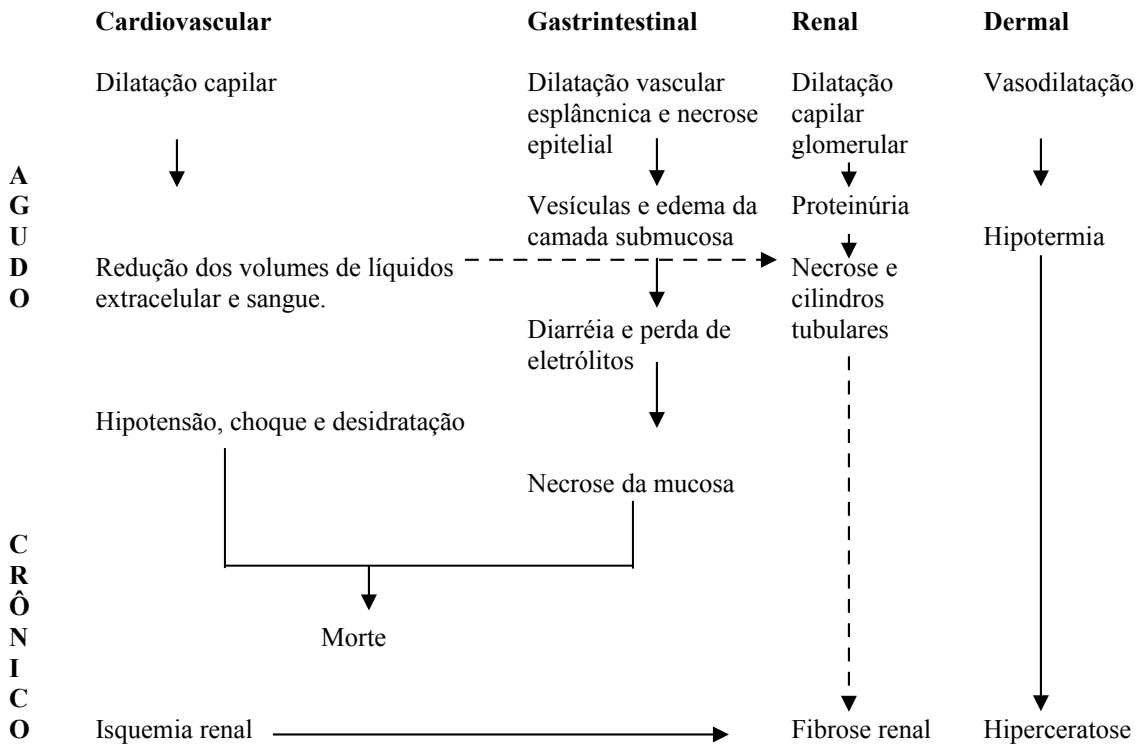


Figura 24. Patogênese da intoxicação por arsenicais (Fonte: Osweiler, 1998).

### Molibdênio

**Fontes:** solos ácidos, escassamente drenados ou contaminados com resíduos de minérios, em plantas, especialmente nas pastagens de solos ricos em molibdênio, na primavera/verão, também em tijolos de argila ricas em molibdênio, usinas de aço ou alumínio, indústria de fertilizantes.

#### Mecanismo de lesão toxicológica:

- promove excreção do cobre (complexo cobre-molibdato), causando deficiência de cobre, levando a redução na integridade dos eritrócitos, interferindo na síntese de melanina (redução na atividade da tirosinase) e na resistência do colágeno nos ossos e na elastina nos vasos sanguíneos (redução na atividade da lisil oxidase);
- compete com o fósforo para mineralização dos ossos;
- aumento do armazenamento de cobre hepático em suínos.

**Toxicidade:** bovinos são mais suscetíveis, especialmente os jovens; a toxicidade pode ser aumentada pela presença de altos níveis de sulfatos na dieta e reduzida pelo cobre.

**Diagnóstico:** baseado nos sinais clínicos característicos, associado aos níveis séricos de molibdênio e/ou de cobre.

**sinais clínicos:** diarréia esverdeada, líquida e espumosa (8 a 10 dias após), acromotriquia, redução da produção de leite, libido e fertilidade, dor articular, claudicações e fraturas espontâneas, anemia, apetite depravado;

**laboratorial:** níveis séricos (>0,1 ppm) ou hepáticos (>5 ppm) de molibdênio e níveis séricos (<0,6 ppm) ou hepáticos (<10 ppm) de cobre.

**lesões:** enterite, flacidez, intestino cheio de líquido, rarefação óssea, exostoses, hemossiderose e eritrócitos microcíticos e hipocrômicos.



**Tratamento:** casos subagudos e graves: glicinato de cobre SC, nos crônicos, sulfato de cobre na dieta.

## Ferro

Elemento metálico de transição, de caráter básico, apresentando-se normalmente em duas formas oxidativas: estado ferroso ( $Fe^{+2}$ ) e férrico ( $Fe^{+3}$ ), podendo-se interconverter dentro do organismo. Grande proporção do ferro (60%) no organismo encontra-se presente na molécula de hemoglobina.

**Fontes:** suplemento nutricional (sulfato ferroso, fumarato-ferroso, fosfato férrico); injetáveis: ferro-dextrano.

**Mecanismo de lesão toxicológica:** o excesso de ferro no sangue ocorre pelas vias oral e parenteral. O ferro sérico que excede a capacidade de ligação a transferrina provoca alterações na membrana que resultam em lesões vasculares e hepáticas, choque e morte. O ferro elementar não ligado é corrosivo direto das células epiteliais; causa corrosão de estômago e intestino delgado; perfuração, hemorragia gástrica e peritonite; o acúmulo de ferro hepático causa lesão mitocondrial que tem como consequência necrose hepática; lesões nas membranas por radicais livres levam ao aumento da permeabilidade vascular, hemorragia e colapso cardiovascular.

**Toxicidade:** maior com preparações injetáveis; dosagens tóxicas VO: 20-60 mg/kg – moderada; > que 60 mg/kg – alta; > que 200 mg/kg – letal; dietas contendo mais que 5000 ppm de ferro interferem na absorção de fosfatos, conduzindo ao retardo no crescimento com raquitismo em leitões.

### Diagnóstico:

#### sinais clínicos:

- intoxicação via oral: 1<sup>as</sup> 6 horas, sonolência, depressão, vômito e diarreia hemorrágica; pode ocorrer melhora aparente, mas em 24 horas retorna diarreia, desidratação, necrose hepática aguda, choque, acidose e coma.
- intoxicação via parenteral: 2 síndromes:
  - depressão grave, choque, e acidose, resultante do excesso de ferro circulante;
  - reação tipo anafilática após injeção (pode não depender da dosagem e sim, relacionada com liberação de histamina).

**laboratorial:** taxa normal de ferro sérico: 100-300  $\mu$ g/dl, se aumentada de 50 a 100% acima da taxa normal (há dificuldade na interpretação por variarem muito as taxas normais em filhotes ou recém nascidos), requer tratamento com quelante; acidose; bilirrubinemia e enzimas séricas hepáticas aumentadas; radiografia abdominal pode revelar quantidade de comprimidos ingeridos.

**lesões:** necrose de mucosas; enterite com conteúdo hemorrágico; congestão de vasos hepáticos, esplânicos e renais; necrose hepática, icterícia e hemoglobinúria.

**Tratamento:** **induzir emese** (menos de 4 horas); demulcentes; leite de magnésia precipita o ferro, na forma de hidróxido de ferro que é insolúvel; carvão ativado **NÃO** adsorve o ferro; controlar choque, desequilíbrios hidreletrolíticos e ácido-básicos (soluções de bicarbonato 6% via oral que aumenta o pH no local de absorção); **quelação** com a deferoxamina (Desferal<sup>®</sup>, 20-40 mg/kg a cada 4 horas ou 15 mg/kg em infusão IV); **atenção** – administração rápida pode causar arritmia cardíaca ou aumentar a hipotensão por promover a liberação de histamina. A urina com coloração marrom avermelhada no início do tratamento pela excreção do ferro. Os níveis séricos devem ser monitorizados até taxas normalizarem (2-3 dias). Cuidado com convalescentes, pois sobreviventes podem ter escaras intestinais residuais e lesões hepáticas que requerem cuidados apropriados.

## Cobre

Elemento metálico de transição, de caráter básico, que apresentando como característica química a facilidade de se oxidar, em especial na forma iônica ( $Cu^{+}$ ). A principal via de eliminação do cobre é biliar; para tal, o cobre tem que se ligar à uma metaloproteína chamada metalotioneína, produzida nos hepatócitos; quanto menor a capacidade de ligação da metalotioneína com o cobre, menor a capacidade de excreção do cobre hepático e maior predisposição à intoxicação. Isto ocorre nos ovinos, onde apenas cerca de 5% do cobre hepático, está ligado a esta proteína, enquanto no homem, em suínos, ratos e nos fetos de quase todas as espécies, 85% do cobre está ligados à metalotioneína.

**Fontes:** sais de cobre são utilizados tanto na agricultura como sulfato de cobre na pulverização de árvores frutíferas no combate às doenças fúngicas (calda bordalesa), solos adubados, e na pecuária nos

tratamentos de podermite, como anti-helmíntico, nas rações com suplementações de cobre; solos contaminados por indústrias de metais; em confinamento de ovelhas com acesso limitado a forragem verde (com molibdênio suficiente para prevenir acúmulo de cobre no fígado).

#### **Toxicocinética**

- absorção: no intestino;
- distribuição: fixa-se nos eritrócitos e, quando lançado na circulação, é armazenado basicamente no fígado, podendo ocorrer circulação entero-hepática;
- excreção: via biliar.

**Mecanismo de ação:** o aumento da concentração do cobre na circulação e armazenado no fígado leva a uma disfunção hepática, aumenta a concentração do cobre nos eritrócitos com conseqüente aumento no tamanho e número de eritrócitos, aumentando o hematócrito, o que leva à lise maciça e rápida dos eritrócitos - **crise hemolítica grave**.

**Toxicidade:** depende da concentração de elementos como molibdênio, enxofre e zinco.

- Crônica: em locais de concentrações altas de cobre, levam ao acúmulo no fígado e surgimento de crise hemolítica com icterícia, necrose hepática e disfunção renal; ovinos são mais suscetíveis do que os bovinos ao excesso de cobre e deficiência de molibdênio; mesmo recebendo doses normais de cobre (8-11 ppm), mas sem molibdênio, intoxicam-se (5% do rebanho e desses, 75% morrem). Doses tóxicas: vacas: 200 a 800 mg/kg; ovinos: 20-1000 mg/kg; suínos: 250 ppm, como aditivo são perigosos.

#### **Diagnóstico**

##### **sinais clínicos:**

- intoxicação aguda: distúrbios gastrintestinais, dor abdominal, sialorréia, diarreia hemorrágica ou líquida, vômitos (carnívoros), desidratação e morte; evolução rápida com morte em 1 a 2 dias;
- intoxicação crônica: anorexia, sede e depressão; manifestações agudas da crise hemolítica: anemia aguda, fraqueza, icterícia, febre, dispnéia.

**laboratorial:** bilirrubinemia, hemoglobulinemia, hemoglobinúria, elevação de enzimas hepáticas que indicativas de necrose; níveis de cobre maiores de 1,5 ppm no sangue e maiores do que 150 ppm em fígado e rins.

**Lesões:** congestão de mucosa gastrintestinal hepática, renal e de baço; na crise hemolítica os túbulos renais se obstruem com hemoglobina e se observa necrose tubular e glomerular pelo excesso de cobre, que resulta em insuficiência renal aguda, uremia; na intoxicação crônica: icterícia, degeneração hepática, aumento vesícula biliar, rim friável com petéquias e derrames cavitários sero-hemorrágicos.

**Tratamento:** descontaminação cutânea; imediatamente após ingesta: água albuminosa, leite; penicilamina (50 mg/kg VO, por até 6 dias); corrigir desequilíbrios hidreletrolíticos, vitaminas, analgésicos. As medidas de suporte podem salvar, mas o prognóstico é desfavorável quando ocorre a crise hemolítica; morte normalmente ocorre em 24-48 horas após a crise hemolítica.

**Prevenção:** suplementação com zinco (250 ppm), reduz acúmulo hepático; na ração, no máximo 6:1 na relação cobre:molibdênio.

**Intoxicação por cobre em cães:** acúmulo é mais comum nas raças de Terries, Pinchers, Dobermann e ocasionalmente em outras raças. É hereditário: característica recessiva, pode aparecer na idade de 2 a 6 anos.

**Mecanismo:** cobre acumula-se nos lisossomas dos hepatócitos até esgotar sua capacidade de armazenamento, sendo liberado para o citoplasma, causando lesão inflamatória e necrose.

#### **Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** cães jovens: síndrome inespecífica com vômitos, anorexia, fraqueza e desidratação; cães velhos: anorexia, perda de peso, icterícia, ascite, encefalopatia hepática.
- **laboratorial:** aumento de enzimas hepáticas ALT e FA e bilirrubina.

**Tratamento:** quelação com d-penicilamina (50 mg/kg VO, muitas vezes por toda a vida); corticoides (estabilizar as membranas dos lisossomas hepáticos); ácido ascórbico: **500-1000mg/dia**, a fim de aumentar excreção do cobre.

### **Cloreto de Sódio**

**Fontes:** sal mineral; a falta de H<sub>2</sub>O potável pode levar à intoxicação; medicação na H<sub>2</sub>O (exemplo: antibióticos) diminui o consumo; superlotação dos campos; alimento com muito sal (churrasco, lavagens, restos de padarias, queijarias); animais estabulados e alimentos com resíduos de sal; mudança de H<sub>2</sub>O doce para salobra.

**Mecanismo de ação:** o sódio passa do plasma para o líquido cérebro-espinal de forma passiva, mas o contrário requer energia (transporte ativo); os níveis de sódio no plasma sanguíneo e o líquido cérebro-espinal ficam entre 135 e 155mEq/L; com a redução da ingestão de H<sub>2</sub>O ocorre desidratação e os níveis de sódio no sangue aumentam para 150-190mEq/L ou mais; nestes níveis de sódio, ocorre a inibição da glicólise aeróbica, com redução de produção de energia; assim a alta concentração de sódio no líquido cérebro espinal é impedido de voltar para o sangue por que é realizado por mecanismo ativo, necessitando de energia que não há para o transporte; mesmo diminuindo ou normalizando a concentração do sódio no sangue, as concentrações no cérebro permanecem por não haver energia; estabelece-se um gradiente osmótico entre o sangue e o cérebro, resultando em edema cerebral com sinais neurológicos.

**Toxicidade:** relacionada com consumo limitado de H<sub>2</sub>O potável: suínos e aves são os mais sensíveis (DL<sub>50</sub> Oral - suínos: 2,2g/kg; caninos:4,0g/kg e ovinos: 6,0g/kg)

#### **Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** quando no trato gastrointestinal - anorexia, diarreia, vômitos e cólicas; na circulação - sialorréia, sede, poliúria, secreção nasal e sons de fluídos em pulmões; em SNC - edema cerebral: excitação, calafrios tremores, falta de resposta a estímulos, recusa de H<sub>2</sub>O ou incapacidade de beber; marcha desorientada (em círculos), dorso arqueado, prostração, agitação dos membros, opistótono intermitente; coma e morte.
  - Cães: diarreia da 2<sup>a</sup>-feira.
  - Suínos: tremores e prurido.
  - Bovinos: fezes com muco.
- **laboratorial:** concentração de sódio no líquido cérebro-espinal (160 mEq/L), no tecido cerebral 1800 ppm.
- **lesões:** inflamação de mucosa gástrica, úlceras e edema; edema de tecidos, líquido nas cavidades e edema cerebral proeminente; exame microscópico: proliferação endotelial vascular no cérebro; espaços perivasculares distendidos.
- **Diferencial:** pseudo-raiva e organoclorados.

**Tratamento:** remover alimentos ou H<sub>2</sub>O contaminados; oferecer H<sub>2</sub>O fresca em pequenas quantidades com intervalos regulares; glicose 5%; aliviar prurito.

## **8.8 Drogas de abuso**

### **Maconha**

**Princípio ativo:** tetraidrocannabinol (THC); altamente lipossolúvel.

**Exposição:** ingestão de tocos de cigarros, planta fresca, blocos de maconha; fumaça em ambiente fechado.

#### **Toxicocinética:**

- absorção: via oral e inalatória;
- distribuição: realiza ciclo êntero-hepático;
- biotransformação: hepática - produz uma série de metabólitos;
- excreção: urina (maioria em 24h).

**Mecanismo de ação:** não está claro, provavelmente por alterações nas aminas biogênicas no SNC.

**Toxicidade:** relativamente baixa; a dosagem letal em cães é maior que 3g/kg.

#### **Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** vômitos, mucosas e membranas secas, hipertermia, taquipnéia, ataxia, incoordenação, depressão, no cão as vezes há depressão alternada com excitação e/ou alucinações (latidos sem razão).

- **laboratorial:** THC em plasma ou urina.

**Tratamento:** indução de emese (nem sempre eficaz, pois o THC é antiemético), carvão ativado; pode ser necessária ventilação assistida; diazepam pode ser utilizado para controlar a agitação.

### **Cocaína**

**Princípio ativo:** alcalóides da *Erythroxylon coca* extraído quimicamente.

#### **Toxicocinética:**

- absorção: via oral e inalatória;
- biotransformação: rapidamente biotransformada em pelo menos 6 metabólitos no fígado e no plasma;
- excreção: na urina (T1/2 < 3h).

**Mecanismo de ação:** inibe a recaptação das catecolaminas e promove sua liberação; quantidades excessivas causam parada cardíaca e respiratória.

**Toxicidade:** moderada a altamente tóxica; DL<sub>50</sub> oral em ratos é de 50 mg/kg e IV é aproximadamente 12 mg/kg.

#### **Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** excitação do SNC, alternada com profunda depressão, hiperestesia convulsões, taquicardia e hipertensão, taquiarritmias, contrações ventriculares prematuras.
- **laboratorial:** hiperglicemia, alanina aminotransferase e creatinina cinase; metabólitos da cocaína em plasma (exposição recente).

**Tratamento:** assistência respiratória; clorpromazina auxilia nos efeitos cardiovasculares; banhos frios para controle da hipertermia.

### **Anfetaminas**

**Princípio ativo:** droga alcalina que se ioniza em condições ácidas.

**Exposição:** fármaco lícito como inibidor do apetite e estimulante do humor, quanto ilícito como estimulante central.

#### **Toxicocinética:**

- absorção: boa absorção oral, com pico em 2-3 horas;
- biotransformação: desaminação e hidroxilação, a benzoilglicuronídeo, ácido hiúrico, norepinefrina e p-hidroxianfetamina;
- excreção: maior em pH ácido.

**Mecanismo de ação:** estimula a liberação das catecolaminas dos terminais adrenérgicos; inibe a MAO, bloqueando o metabolismo das catecolaminas; ativa o AMPc; estimula a formação reticular, o córtex e o centro respiratório.

**Toxicidade:** alta, DL oral é aproximadamente de 10-30 mg/kg

#### **Diagnóstico:**

- **sinais clínicos:** taquicardia, arritmias, hipertensão, tremores, reflexos hiperativos, midríase, polipnéia, broncodilatação, excitação e agitação, convulsões; insuficiência renal;
- **laboratorial:** acidose láctica; hipoglicemia; pesquisa de anfetaminas no conteúdo estomacal, plasma ou urina.

**Tratamento:** induzir emese ou lavagem gástrica; carvão ativado; acidificação urinária (aumenta a excreção); banhos frios; diazepam para o controle das convulsões; haloperidol para controlar a hiperatividade.

## **9 Análises laboratoriais em toxicologia.**

A parte prática inclui a realização de análises laboratoriais para identificação e/ou dosagem de substâncias e/ou de seus metabólitos, obtidas nos diferentes fluidos biológicos (sangue, urina, fluido ruminal, conteúdo estomacal) e sua interpretação clínica.

### **9.1 Medicamentos**

A identificação de fármacos em sangue, urina, fluido ruminal ou conteúdo estomacal pode ser feita através da metodologia de cromatografia em camada delgada (CCD), como por exemplo a pesquisa de salicilatos, fenobarbital e digitálicos.

#### 9.1.1 Princípio do método analítico

A preparação da amostra consiste em uma extração líquido/líquido, onde a substância de interesse é extraída do material biológico usando-se solventes orgânicos apropriados em dois pH distintos (ácido e básico). Os extratos obtidos são concentrados e aplicados na placa cromatográfica e eluídos em sistema solvente adequado.

A CCD é uma metodologia cromatográfica de separação e identificação de componentes de uma mistura através da migração sobre uma camada delgada e uniforme de adsorvente em uma superfície plana (vidro, metal ou plástico), com base na diferença de afinidade destes componentes com a fase móvel e a fase estacionária. O resultado baseia-se na comparação da amostra com padrões das substâncias sob suspeita.

#### 9.1.2 Amostra

Colher cerca de 20 mL de sangue total e/ou 30 mL de urina e/ou 30 mL de fluido ruminal e/ou 30 mL de conteúdo estomacal. Manter sob refrigeração a 4 °C até o momento da análise.

#### 9.1.3 Procedimento analítico

- Amostra de soro, urina, fluido ruminal ou conteúdo estomacal
  - Pipetar 5 mL (soro) ou 10 mL (urina, fluido ruminal ou conteúdo estomacal) em dois tubos, um para identificação de fármacos de caráter ácido ou neutro (AC) e outro para fármacos de caráter básico (BAS)
  - **AC:** ajustar pH 4-5 com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 6N ou HCl 10%
  - **BAS:** tamponar com Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> e ajustar pH 8-9 c/NH<sub>4</sub>OH 30%
- Em ambos (AC e BAS) adicionar 15 mL de Clorofórmio:Isopropanol (9:1)
  - Mixer por 1 min
  - Centrifugar 5 min (6000 rpm)
  - Separar a fase aquosa e repetir o procedimento de extração com mais 15 mL de Clorofórmio:Isopropanol (9:1)
  - Filtrar a fase orgânica sobre sulfato de sódio anidro
  - Ao resíduo básico (BAS) adicionar 100µL HCl:CH<sub>3</sub>OH (1:100)
  - Evaporar até secura os resíduos (AC e BAS) com N<sub>2</sub> em Banho-Maria a 60 °C
  - Reconstituir com CH<sub>3</sub>OH
  - Aplicar na placa cromatográfica com indicador fluorescente UV 254 todo o extrato e os padrões
  - Migrar no sistema solvente adequado
  - Leitura em UV e cálculo do R<sub>f</sub>
  - Aplicar os reagentes cromogênicos.

#### 9.1.4 Sistema solvente

- Clorofórmio:Acetona (9:1) para fármacos de caráter ácido e neutro
- Metanol:Hidróxido de Amônio (100:1,5) para fármacos de caráter básico
- EMA – Acetato de Etila:Metanol:Hidróxido de Amônio (17:2:1) para fármacos em geral.

As cubas cromatográficas (Figura 25) devem ser saturadas por 30 min antes de serem usadas. Forrar as paredes internas da cuba com papel filtro que permitirá uma saturação mais eficiente. A cada

troca de papel saturar a cuba duas vezes antes do uso. Preparar as cubas cromatográficas, com o sistema solvente adequado, tomando cuidado para que o volume total utilizado seja de 20 mL para cubas 10 x 10 cm ou 40 mL para cubas de 20 x 20 cm.

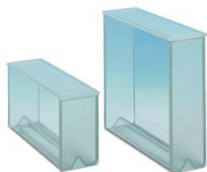


Figura 25. Cuba cromatográfica.

### 9.1.5 Placa cromatográfica

Preparar as placas cromatográficas obedecendo aos seguintes parâmetros:

- Origem: 1,0 cm
- Linha de frente: 8,5 cm
- Divisões: 1,0 cm entre cada aplicação.

Transferir, com o auxílio de um capilar, cerca de 20  $\mu\text{L}$  (cerca de  $\frac{1}{2}$  capilar) da solução padrão e 40  $\mu\text{L}$  (cerca de  $2 \times \frac{1}{2}$  capilar) dos extratos das amostras para a origem das cromatoplasas, observando o espaço de 1,0cm entre cada aplicação (Figura 26).

Transferir as cromatoplasas para cubas cromatográficas, previamente saturadas contendo o sistema solvente adequado e desenvolver por cerca de 8,5 cm.

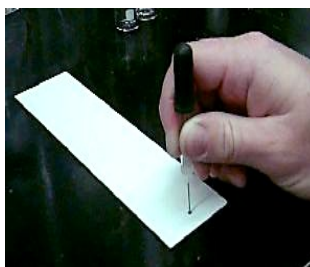


Figura 26. Placa cromatográfica.

### 9.1.6 Aplicação dos reagentes cromogênicos

- Seqüência com Ninidrina para fármacos de caráter básico (ex.: anfetaminas, opiáceos, cocaína, carbamazepina, antidepressivos tricíclicos)
  - 1) Ninidrina 0,5%
  - 2) Aquecimento a 105 °C por 10 min
  - 3) Reativo de Forrest
  - 4) Iodoplatinato
  - 5) Reativo de Dragendorff
- Seqüência com Cloreto Férrico para fármacos de caráter ácido e neutro (ex.: Ac. Acetilsalicílico, paracetamol, benzodiazepínicos, digoxina, haloperidol)

- 1) Cloreto Férrico 38% ( $\text{FeCl}_3$ )
- 2) Aquecimento a 105 °C por 10 min
- 3) Reativo de Dragendorff
- 4) Iodoplatinado ácido

- Sequência com Deningés para barbitúricos (ex.: fenobarbital, pentobarbital, primidona)
  - 1) Reativo de Deningés

### 9.1.7 Preparo das soluções e reagentes

- Ninidrina 0,5%: pesar 0,025 g de ninidrina e dissolver em 5 mL de acetona. Esta solução deve ser preparada somente na hora do uso.
- Reativo de Forrest:
 

*Solução estoque:*

  - a)* Dicromato de Potássio 0,2% (m/v): dissolver 0,2 g de dicromato de potássio em 100 mL de água purificada.
  - b)* Ácido Sulfúrico 30% (v/v): misturar 17 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  em 100 mL de água purificada.
  - c)* Ácido Perclórico 20% (v/v): misturar 17 mL de  $\text{HClO}_4$  em 100 mL de água purificada.
  - d)* Ácido Nítrico 50% (v/v): misturar 55 mL de  $\text{HNO}_3$  em 100 mL de água purificada.

*Solução Uso:* misturar volumes equivalentes das soluções *a, b, c e d.*
- Iodoplatinado:
 

*Soluções Estoque :*

  - a)* Iodeto de Potássio 10%: dissolver 10 g de KI em 100 mL de água purificada.
  - b)* Ácido Hexacloroplatínico: dissolver 1 g de ácido hexacloroplatínico em 100 mL da solução *a.*

*Solução Uso:* diluir a solução *b* na proporção 1:5 (v/v) com água destilada. Em proveta colocar 20 mL da solução *b* e qsp 100 mL com água purificada.
- Reativo de Dragendorff: pipetar 0,5 mL de Nitrato de Bismuto; 0,5 mL Iodeto de Potássio 40%; 1,0 mL Ácido Acético Glacial; 3 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  d/d. Solução estável por 48 h.
- Cloreto Férrico 38%: pesar 38 g de  $\text{FeCl}_3$  e dissolver em qsp 100 mL de água purificada.
- Iodoplatinado ácido: acidificar a solução uso de reativo iodoplatinado na proporção 100:4 (v/v) com HCl. Misturar 100 mL do reativo iodoplatinado em 4 mL de HCl.
- Reativo de Deningés: pesar 5 g de óxido amarelo de mercúrio, adicionar 20 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e completar o volume de 100 mL com água purificada.
- Os padrões devem ser preparados na concentração de 1 g/L em metanol.

### 9.1.8 Resultado

Expressar os resultados da seguinte forma:

- Detectado, para amostras positivas.
- Não Detectado, para amostras negativas.

### 9.1.9 Referências

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria da Saúde. Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde. Centro de Informação Toxicológica. Núcleo e Análise Laboratorial. **Procedimento Operacional**

**Padrão:** guia prático para pesquisa de drogas por CCD baseado na sintomatologia do paciente. Porto Alegre, 2004. 18p.

UFRGS. Faculdade de Farmácia. Laboratório de Pesquisa Toxicológica. **Procedimento Operacional**

**Padrão:** detecção de substâncias de caráter ácido e básico em material biológico. Porto Alegre, 2004.

FLANAGAN, R.J. et al. **Basic Analytical Toxicology**. Genebra: World Health Organization, 1995.

BRITO FILHO, D. Toxicologia Humana e Geral. Rio de Janeiro, São Paulo: Atheneu, 1988.

## 9.2 Produtos de uso veterinário (colinesterase)

A colinesterase plasmática não é um indicador específico para inibidores da colinesterase porque pode ser influenciada por diversos fatores, tais como: espécie, raça, características genéticas, idade, sexo, variações individuais como estado nutricional, prenhez, alterações de função hepática e diversas enfermidades que alteram os níveis da atividade da colinesterase plasmática, diminuindo ou aumentando. Entretanto a determinação dos níveis de colinesterase plasmática tem sido utilizada na prática toxicológica como um dos mais importantes biomarcadores nas intoxicações por compostos inibidores da colinesterase como, por exemplo, os inseticidas organofosforados e carbamatos.

### 9.2.1 Princípio do método analítico

Método proposto por ELLMAN *et al.* modificado.

A enzima colinesterase catalisa a hidrólise do iodeto de butiriltiocolina com formação de tiocolina que em reação secundária com o ácido 5,5-ditio bis-2-nitrobenzóico (DTNB), forma o 5-mercaptano-2-nitrobenzóico de coloração amarela. A intensidade da cor é diretamente proporcional a atividade da colinesterase, a qual pode ser determinada em espectrofotômetro na região do visível 405 nm.

Metodologia: Espectrofotometria Visível.

### 9.2.2 Amostra

Colher cerca de 2 mL de sangue total. Após, separar o soro e acondicionar em tubo de ensaio seco, bem vedado e mantido sob refrigeração a 4 °C até o momento da análise. Estabilidade da amostra a temperatura ambiente de apenas 4 h, após este tempo ocorre reativação da enzima. Caso a análise não ocorra imediatamente congelar a mesma.

*O plasma pode ser utilizado quando colhido com heparina ou EDTA. Os anticoagulantes a base de citrato, fluoreto ou oxalato inibem a atividade enzimática da colinesterase, não podendo ser utilizados. Cuidados com a amostra igual ao soro.*

### 9.2.3 Procedimento analítico

- Kit: Colinesterase-butiriltiocolina - Wiener® Lab.
- Amostra: soro ou plasma
- Soro controle
- Reconstituir cada frasco de substrato com 3 mL de tampão
  - Temperatura das amostras, controle e reagente deve ser controlada e anotada no momento da análise
- Na própria cubeta do espectrofotômetro pipetar 3 mL do substrato reconstituído
- Adicionar a amostra ou soro controle - 20 µL
- Misturar por inversão – 4x
- Zerar o equipamento contra o ar
- Ler amostras e controles contra o ar em caso de espectrofotômetro de duplo feixe.
- Ler a absorbância inicial ( $\lambda = 405$  nm) e disparar simultaneamente o cronômetro
- Voltar a ler depois de 30, 60 e 90 segundos exatos.

Determinar a absorbância média ( $\Delta A$ ) através da diferença entre cada leitura a cada acréscimo de 30 segundos. Calcular o resultado empregando a seguinte equação:



$$\text{Atividade Enzimática (U/L)} = \Delta A \times 22.710$$

NOTA: Quando o  $\Delta A/30$  seg exceder 0,300, dilua a amostra com solução salina e multiplique o resultado pelo fator da diluição.

#### 9.2.4 Referências

FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PRODUÇÃO E PESQUISA EM SAÚDE. Centro de Informação Toxicológica. Laboratório de Análise de Emergência. **Procedimento Operacional Padrão**: dosagem de colinesterase plasmática por espectrofotometria visível, Porto Alegre. 2004. 18p.  
OGA, S. **Fundamentos de toxicologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2003. 474 p.  
WIENER LAB. **Colinesterase**. Argentina: Wiener, s.d. Bula de kit.

### 9.3 Pesticidas (cumarínicos, estricnina, paraquat e diquat)

#### 9.3.1 Pesquisa de Paraquat e Diquat

O paraquat e o diquat são herbicidas amplamente utilizados e extremamente tóxicos. Do ponto de vista toxicológico, o paraquat é o composto mais importante da classe de compostos bipyridílicos. A ingestão de qualquer quantidade da solução a 20% deve ser considerada potencialmente grave. A determinação qualitativa do paraquat e diquat, em amostra de urina, constitui-se em teste rápido e prognóstico na avaliação dos quadros de intoxicação.

##### 9.3.1.1. Princípio do método analítico

O paraquat reage com o ditionito de sódio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ), em meio alcalino ( $\text{NaHCO}_3$ ), produzindo um radical semiquinóide (dieno) de coloração azul e o diquat produz um radical de coloração verde.

##### 9.3.1.2 Amostra

Coletar cerca de 30 mL de urina, preferencialmente em frasco plástico, pois o paraquat liga-se à superfície do vidro. Após a coleta, manter a amostra sob refrigeração a 4 °C.

##### 9.3.1.3 Procedimento analítico

- Pipetar 10 mL de urina em um becker
- Pipetar 10 mL de cada um dos controles positivos (paraquat e diquat) e negativo, nos respectivos beckers
- Adicionar 2 g de bicarbonato de sódio
- Misturar
- Adicionar 1 g de ditionito de sódio
- Misturar
- Observar o desenvolvimento de coloração azul no controle positivo para paraquat, coloração verde no controle positivo para diquat e coloração amarela no controle negativo
- Fazer a leitura da amostra frente aos controles

##### 9.3.1.4 Resultado

O resultado do teste é liberado como NEGATIVO, FRACAMENTE POSITIVO, POSITIVO OU FORTEMENTE POSITIVO.

### 9.3.1.5 Referências

- ELLENHORN, Matthew. **Ellenhorn's Medical Toxicology Diagnosis and Treatment of Human Poisoning**. Baltimore: Walerly Company, 1997.
- FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PRODUÇÃO E PESQUISA EM SAÚDE. Centro de Informação Toxicológica. Laboratório de Análise de Emergência. **Procedimento Operacional Padrão**: determinação qualitativa de paraquat. Porto Alegre, 2002. 6p.
- GILMAN, A. G. Et all. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 8ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1991. 1232p.
- GOLDFRANK'S **Toxicologic Emergencies**. 5 ed. Norwalk, Connecticut: APPLETON & LANGE, 1994, 1589 p.
- SCHVARTSMAN, Samuel. **Intoxicações Agudas**. São Paulo: Sarvier, 1991. Pág. 269.
- TOWSHEND, Alan; VERMA, Krishna K.; JAIN, Archana. Determination of Paraquat by Flow-Injection Spectrophotometry. **Analytica Chimica Acta**, 284 (1993).
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Basic Analytical Toxicology**. Geneva: WHO, 1995. Pág. 16-17.

### 9.3.2 Pesquisa de Cumarínicos e Estricnina

Os raticidas cumarínicos são inibidores da coagulação, compostos anti-vitamina K, facilmente absorvidos pelo trato gastrintestinal, enquanto que a estricnina é um alcalóide extraído da planta *Strichnos nux vomica* com ação inibitória do neurotransmissor glicina, e comercializado como raticida ilícito.

A identificação de pesticidas em sangue, urina, fluido ruminal ou conteúdo estomacal pode ser feita através da metodologia de cromatografia em camada delgada (CCD), como por exemplo a pesquisa de cumarínicos (brodifacum, cumacoloro, cumafeno, cumatretralil).

#### 9.3.2.1 Princípio do método analítico

Idem ao item 9.1.1 Cromatografia em Camada Delgada para Medicamentos

#### 9.3.2.2 Amostra

Colher cerca de 10 mL de sangue total e/ou 30 mL de urina e/ou 30 mL de fluido ruminal e/ou 30 mL de conteúdo estomacal. Manter sob refrigeração a 4 °C até o momento da análise.

#### 9.3.2.3 Fluxograma analítico

- Amostra de soro, urina, fluido ruminal ou conteúdo estomacal
  - Pipetar 5 mL (soro) ou 10 mL (urina, fluido ruminal ou conteúdo estomacal) em dois tubos, um para identificação de substâncias de caráter ácido ou neutro (AC) e outro para substâncias de caráter básico (BAS)
  - **AC**: ajustar pH 2-3 com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 6N ou HCl 10%
  - **BAS**: tamponar com Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> e ajustar pH 9-10 c/NH<sub>4</sub>OH 30%
- Em ambos (AC e BAS) adicionar 15 mL de Clorofórmio:Isopropanol (9:1)
- Mixer por 1 min
- Centrifugar 5 min (6000 rpm)
- Separar a fase aquosa e repetir o procedimento de extração com mais 15 mL de Clorofórmio:Isopropanol (9:1)

- Filtrar a fase orgânica sobre sulfato de sódio anidro
- Ao resíduo básico (BAS) adicionar 100µL HCl:CH<sub>3</sub>OH (1:100)
- Evaporar até secar os resíduos (AC e BAS) com N<sub>2</sub> em Banho-Maria a 60 °C
- Reconstituir com CH<sub>3</sub>OH
- Aplicar na placa cromatográfica com indicador fluorescente UV 254 todo o extrato e os padrões
- Migrar no sistema solvente adequado
- Leitura em UV e cálculo do R<sub>f</sub>
- Aplicar os reagentes cromogênicos

#### 9.3.2.4 Sistema solvente

- Éter de petróleo:Acetona (4:1)
- Clorofórmio:Metanol (9:1)

As cubas cromatográficas devem ser saturadas por 30 min antes de serem usadas. Forrar as paredes internas da cuba com papel filtro que permitirá uma saturação mais eficiente. A cada troca de papel saturar a cuba duas vezes antes do uso. Preparar as cubas cromatográficas, com o sistema solvente adequado, tomando cuidado para que o volume total utilizado seja de 20 mL para cubas 10 x 10 cm ou 40 mL para cubas de 20 x 20 cm.

#### 9.3.2.5 Placa cromatográfica

Preparar as placas cromatográficas obedecendo aos seguintes parâmetros:

- Origem: 1,0 cm;
- Linha de frente: 8,5 cm;
- Divisões: 1,0 cm entre cada aplicação;

Transferir, com o auxílio de um capilar, cerca de 20 µL (cerca de ½ capilar) da solução padrão e 40 µL (cerca de 2x ½ capilar) dos extratos das amostras para a origem das cromatoplas, observando o espaço de 1,0 cm entre cada aplicação.

Transferir as cromatoplas para cubas cromatográficas, previamente saturadas contendo o sistema solvente adequado e desenvolver por cerca de 8,5 cm.

#### 9.3.2.6 Aplicação dos reagentes cromogênicos

- Seqüência com p-nitroanilina e NaOH
  - 1) p-Nitroanilina
  - 2) NaOH
- Seqüência com KMnO<sub>4</sub> 1%

#### 9.3.2.7 Preparo das soluções e reagentes

- Ácido Clorídrico 1N (HCl 1N): Diluir 21 mL de HCl conc (37%) em 250 mL de água destilada. (8,3 mL em 100 mL H<sub>2</sub>O)
- Reativo de p-Nitroanilina  
*Solução estoque:*
  - a) p-Nitroanilina 1% em HCl 1 N – Etanol (1:1): pesar 0,5 g de p-Nitroanilina e dissolver em 25 mL de HCl 1 N. Diluir até 50 mL com etanol.
  - b) Nitrito de Sódio 5%: pesar 0,5g de nitrito de sódio e dissolver em 10mL de água destilada.

*c*) Hidróxido de Sódio (NaOH) 50%: pesar 5 g de NaOH e dissolver em 10 mL de água destilada.

*Solução Uso*: misturar 16 mL da solução *a* e 4 mL da solução *b*, no momento do uso. Em seguida aplicar a solução *c* que deve ser diluída 1:10 com etanol antes do uso (10 mL de NaOH 50% e 90 mL de etanol).

- Permanganato de Potássio 1%: pesar 0,5 g de  $\text{KMnO}_4$  e dissolver em 50 mL de água destilada.

### 9.3.2.8 Resultado

Expressar os resultados da seguinte forma:

- Detectado, para amostras positivas.
- Não Detectado, para amostras negativas.

### 9.3.2.9 Referências

FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PRODUÇÃO E PESQUISA EM SAÚDE. Centro de Informação Toxicológica. Laboratório de Análise de Emergência. **Procedimento Operacional Padrão**: pesquisa de pesticidas por cromatografia de camada delgada. Porto Alegre, 1999. 16p.

## 9.4 Metais (ALA-U)

O chumbo é metal não essencial e cumulativo que determina efeitos tóxicos ao nível do sistema nervoso central e renal, sendo que a principal alteração tem lugar no sistema hematopoiético, interferindo na síntese do heme. O chumbo inibe várias enzimas necessárias à síntese do heme e dos eritroblastos da medula óssea, privando assim o organismo do principal componente para a formação da hemoglobina e, conseqüentemente o aparecimento de anemia hipocrômica. Intoxicação por chumbo pode provocar a interferência em vários sistemas enzimáticos, pela sua ligação aos grupos sulfidrilas, presentes em várias enzimas.

A inibição da enzima ácido delta aminolevulínico desidratase ocasiona acúmulo de ácido delta aminolevulínico (ALA), com conseqüente aumento da sua excreção urinária. Para o diagnóstico precoce da intoxicação por chumbo inorgânico, a determinação do ácido  $\delta$ -aminolevulínico tem-se mostrado extremamente útil.

### 9.4.1 Princípio do método analítico

Método proposto por Tomokuni e Ogata, 1972.

O ácido  $\delta$ -aminolevulínico urinário (ALA-U) reage com o acetoacetato de etila à quente (95-100 °C), através de uma reação de condensação, produzindo o 2-metil-3-acetil-4-(3-ácido propiônico) pirrol que é extraído em acetato de etila. Após a adição do reagente de Ehrlich, ocorre a formação de um complexo de coloração rosa, cuja intensidade é diretamente proporcional a concentração do ácido  $\delta$ -aminolevulínico.

Metodologia: Espectrofotometria Visível.

### 9.4.2 Amostra

Colher cerca de 30 mL de urina em frasco plástico protegido da luz. Após a coleta, reservar 5 mL de amostra para dosagem de creatinina o restante da amostra deve ser preservada com ácido acético na proporção 1 mL de ácido, para cada 100 mL de urina (pH=4) e conservada sob refrigeração a 4 °C. A urina, não preservada quando exposta à luz, em temperatura ambiente mostra uma diminuição de 40 a 60% dentro das primeiras 24 h.

### 9.4.3 Procedimento analítico

Executar o procedimento de acordo com as orientações da Tabela 17.

Tabela 17: Procedimento analítico para determinação do ácido  $\delta$ -aminolevulínico urinário.

| <b>Pipetar em tubos de ensaio de 15 mL:</b>   |                       |                |                        |                 |                      |                |
|---|-----------------------|----------------|------------------------|-----------------|----------------------|----------------|
|   | <b>Branco Amostra</b> | <b>Amostra</b> | <b>Branco Controle</b> | <b>Controle</b> | <b>Branco Padrão</b> | <b>Padrões</b> |
| <b>Tampão Acetato</b>   | 1,0 mL                | 1,0 mL         | 1,0 mL                 | 1,0 mL          | 1,0 mL               | 1,0 mL         |
| Amostra   | 1,0 mL                | 1,0 mL         | -                      | -               | -                    | -              |
| <b>Controle</b>   | -                     | -              | 1,0 mL                 | 1,0 mL          | -                    | -              |
| <b>Padrão</b>   | -                     | -              | -                      | -               | 1,0 mL               | 1,0 mL         |
| <b>Acetoacetato de etila</b>  | -                     | 0,2 mL         | -                      | 0,2 mL          | -                    | 0,2 mL         |
| sturar no mixer 5 segundos. Levar ao banho-maria ferverte (100 °C) durante 10 min. Resfriar.  |                       |                |                        |                 |                      |                |
| <b>Acetato Etila</b>  | 3 mL                  | 3 mL           | 3 mL                   | 3 mL            | 3 mL                 | 3 mL           |
| Agitar em mixer por 1 min. Centrifugar por 3 min, nível 6.<br>Pipetar 2 mL da fase orgânica para tubo de baquelite                              |                       |                |                        |                 |                      |                |
| <b>Reagente Ehrlich</b>   | 2 mL                  | 2 mL           | 2 mL                   | 2 mL            | 2 mL                 | 2 mL           |
| Misturar por inversão.<br>Aguardar 10 min (cronometrar) e ler <b>imediatamente</b> contra o branco respectivo em 553 nm.<br>Cubetas de quartzo. |                       |                |                        |                 |                      |                |

A concentração do ácido  $\delta$ -aminolevulínico na amostra é obtida empregando a seguinte equação:

$$\text{ALA-U (mg/l)} = \text{Concentração do Padrão} \times \text{Abs Amostra/Abs. Padrão}$$

Por exigência da NR-7 os resultados do ácido  $\delta$ -amino levulínico em mg/L, devem ser divididos pelo valor da creatinina da amostra.

Cálculo final:

$$\text{ALA- U (mg/g de creatinina)} = \text{ALA-U (mg/l)/creatinina(g/l)}$$

O resultado final deverá ser expresso em mg/g de creatinina, desde que o valor de creatinina obtido para a amostra, esteja dentro do intervalo 0,5 até 3,0 g/L. Caso contrário, liberar os resultados obtidos para cada uma das análises individualmente.

### 9.4.4 Preparo das soluções e reagentes

- Tampão Acetato pH 4,6  
Em um bequer de 100 mL, pesar 1,36 g de acetato de sódio trihidratado. Adicionar 5,6 mL de ácido acético glacial e transferir quantitativamente para um balão volumétrico de 100 mL. Medir o pH. Conservar sob refrigeração entre 2 a 8 °C.
- Reagente de Ehrlich  
Em um becker de 50 mL, pesar 1 g de p-dimetilaminobenzaldeído (C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO). Adicionar cerca de 30 mL de ácido acético glacial. Transferir para uma proveta de 50 mL e adicionar 4,3 mL de ácido perclórico 70% e 5 mL de água destilada. Completar o volume até a marca com ácido acético

glacial. Instável, preparar somente o volume necessário Manter ao abrigo da luz, envolvendo a proveta em papel alumínio.

#### 9.4.5 Referências

- FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PRODUÇÃO E PESQUISA EM SAÚDE. Centro de Informação Toxicológica. Laboratório de Análise de Emergência. **Procedimento Operacional Padrão**: quantificação de ácido delta-aminolevulínico por espectrofotometria. Porto Alegre, 2001. 16p.
- LADENSON, Jack H. Non analytical sources of variation in clinical chemistry results. 8<sup>a</sup> ed. In: **Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis**. St. Louis: Mosby Company, 1980 vol.1.
- LEITE, Edna Maria Alvarez et all. Otimização das condições analíticas para a determinação espectrofotométrica de ácido delta-aminolevulínico urinário (ALA-U). **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, 17 (66), 1989.
- MORAES, Ester C.F.; SZNELWAR, Rywka B.; FERNICOLA, Nilda A.G.G. **Manual de Toxicologia Analítica**. São Paulo: Roca, 1991.
- ROELS, Harry et all. Comparison of Four Methods for Determination of  $\delta$ -Aminolevulinic Acid in Urine, and Evaluation of Critical Factors. **Clin. Chem.** 20/7, 753-760 (1974).
- TOMUKUNI, K; OGATA, M. Single method for determination of urinary  $\delta$  aminolevulinic acid as na index of lead exposure. **Clin. Chem.**, 19 (12), 1972.
- VESTERBERG, Olof; LINDSTEDT, G. A modified method for determining  $\delta$ -aminolevulinic acid in urine eliminating some interferences. **Work-environm-hlth** 11 (1974) 166-169.

## 10 Avaliação de toxicidade

A toxicidade de uma substância a um organismo vivo pode ser considerada como a capacidade de causar dano grave ou morte.

Fatores relevantes:

- interação: agente/organismo;
- relação: concentração do agente X intensidade do efeito;
- tempo de exposição;
- suscetibilidade do organismo (relativa à idade, doenças intercorrentes, estado fisiológico como gestação, lactação, entre outros);
- potência do agente (mais tóxico é aquele que necessita menor quantidade para produzir efeito).

A exposição é relacionada à dose (ex: mg do agente/kg de massa corporal ou mg/cm<sup>2</sup> de superfície corporal) ou concentração (mg de agente/mL de solvente) do agente e o tempo de interação com o organismo.

Um desafio constante na toxicologia é o de estabelecer níveis de exposição toleráveis. Para tanto, é necessário definir o que deve ser considerado dano ou efeito adverso: uma alteração anormal, indesejável ou nociva após exposição a substâncias potencialmente tóxicas. Efeitos adversos incluem alterações nos consumos de água e alimento, no ganho de massa corporal, na massa relativa dos órgãos, em níveis enzimáticos, ou mesmo, alterações anatomopatológicas.

### 10.1 Relação dose-resposta e concentração-resposta

Representada por uma curva Gaussiana teórica. Na prática é calculada a partir de observações de mortalidade após exposição a doses ou concentrações relacionadas da substância testada (Tabela 18). Geralmente empregada para calcular a dose letal média (DL<sub>50</sub>) ou concentração letal média (CL<sub>50</sub>). Outros são a LOAEL (*Lowest Observed Adverse Effect Level*) - menor dose com efeito adverso observado e NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*) dose sem efeito adverso observado. Tanto a DL<sub>50</sub> quanto a CL<sub>50</sub> devem ser referidas em relação à via de exposição, ao número de administrações (dose única = aguda, ou doses repetidas = sub-aguda) e a espécie testada (rato, coelho, entre outros).

Tabela 18. Classificação relativa de toxicidades de acordo com a Organização Mundial da Saúde.

| Categoria | Classificação        | DL <sub>50</sub> oral para ratos (mg/kg de massa corporal) |                     |
|-----------|----------------------|--|---------------------|
|           |                      | sólidos  | líquidos            |
| Ia        | Extremamente tóxico  | < 5 mg/kg  | < 20 mg/kg          |
| Ib        | Altamente tóxico     | <b>5-50 mg/kg</b>  | <b>20-200 mg/kg</b> |
| II        | Moderadamente tóxico | 50-500 mg/kg   | 200-2000 mg/kg      |
| III       | Levemente tóxico     | 500-5000 mg/kg   | > 2000 mg/kg        |
| IV        | Praticamente atóxico | > 5 mg/kg  |                     |

\* Classificação semelhante é efetuada para outras vias de exposição, como também para o ambiente.

Todos os dados obtidos pela curva dose/concentração-resposta permitem a seleção de doses para a realização de testes com exposições a médio e longo prazo. A tendência atual é substituir os experimentos e cálculos de DL<sub>50</sub>/CL<sub>50</sub> (reduzindo de forma ética o sofrimento dos animais) pelo teste de dose fixa. Para tanto, administra-se uma única dose oral de 500 mg/kg a um grupo de ratos (5 machos e 5 fêmeas) ou outra espécie e, na ausência de sinais de toxicidade avaliados por 14 dias, a substância não será classificada em nenhuma das categorias citadas anteriormente. Se houver toxicidade sem morte, a substância será classificada como nociva e, se houver morte, deve-se proceder novo teste com 50 mg/kg. Da mesma forma, a substância que provoca sinais de toxicidade nesta faixa de exposição, será classificada como tóxica e, se houver mortalidade, está deverá ser testada na dose de 5 mg/kg. Nesta dose, tanto sinais de toxicidade quanto morte, permitem classificar a substância como muito tóxica. No entanto, se 500 mg/kg de uma substância não produzir sinais de toxicidade, esta deverá ser testada na dose de 2.000 mg/kg (avaliação total de risco).

## 10.2 Tipos de testes toxicológicos

No Brasil, a ANVISA estabelece oito tipos de testes de toxicidade para aprovação de substâncias a serem utilizadas ou produzidas em larga escala como pesticidas, produtos químicos, produtos de uso veterinário, medicamentos, entre outros:

- aguda;
- subaguda/subcrônica;
- crônica;
- mutagenicidade;
- teratogenicidade;
- carcinogenicidade;
- estudos especiais (reprodutivos, neurotoxicidade,...);
- ecotoxicológicos (organismos aquáticos).

Fatores como: uso, tipo de efeito tóxico produzido pela substância em si ou por substâncias estruturalmente semelhantes, podem definir quais os testes que devem ser realizados em situações específicas.

O objetivo dos testes toxicológicos é caracterizar o tipo efeito tóxico que uma substância química produz. Sendo assim, justifica-se a exposição de animais experimentais a altas doses de um agente tóxico para prever prováveis efeitos danosos ao homem.

A lista de testes pode variar entre os países, mas basicamente inclui:

### Informações preliminares

- caracterização química (qualitativa e quantitativa em relação as impurezas);

- propriedades físico-químicas (presença de solventes grau de dissolução, volatilidade, entre outras);
- níveis de exposição da população.

As características toxicocinéticas permitem a predição do comportamento da substância nos organismos, bem como no ambiente.

#### **Estudos de toxicidade aguda**

Avaliam os efeitos da administração de dose única ou múltiplas doses num período de 24 horas. Sendo a dose única útil na avaliação da potência da substância e múltiplas doses para avaliar os efeitos cumulativos.

A via oral é a mais indicada, mas pode-se utilizar outras como a inalatória quando pertinente (referente à exposição humana).

DL<sub>50</sub>: representa a probabilidade estatística de uma dose causar efeito letal em 50% dos animais da população; identifica a toxicidade relativa.

CL<sub>50</sub>: representa a concentração letal média, capaz de causar morte em 50% dos animais expostos via inalatória ou para peixes em meio aquático.

Quando os dados são expressos em logaritmos das doses versus o percentual de mortes a sigmóide obtida aproxima-se mais da linearidade facilitando a obtenção do ponto médio (DL<sub>50</sub>).

Os resultados destes testes permitem conhecer o mecanismo de ação, identificar a sensibilidade de diferentes órgãos ou sistemas, bem como a possível reversibilidade dos efeitos.

É importante avaliar-se a quantidade de animais mortos, o início e a natureza da intoxicação, incluindo aspectos clínicos e anatomopatológicos. Deve-se testar as substâncias em diferentes espécies, linhagens e em ambos os sexos.

#### **Estudos de toxicidade subcrônica**

Avaliam os efeitos da administração de doses repetidas de 90 dias.

Os objetivos destes testes são: estabelecer os níveis nos quais não se observam os efeitos tóxicos, identificar e caracterizar os órgãos afetados e a severidade dos efeitos após exposições repetidas, verificar se os efeitos observados se devem a um acúmulo de substância, a possível reversibilidade do efeito e ainda, efeitos específicos como a neurotoxicidade.

Geralmente a exposição se dá por via oral, exceto quando outras vias de exposição humana devem ser consideradas, utilizando-se pelo menos três doses, em duas espécies animais (uma roedora e uma não-roedora).

As variáveis avaliadas, diariamente, incluem: massa corporal, consumo de água e ração, sinais clínicos de toxicidade (alterações circulatórias, respiratórias, na pelagem, motoras e comportamentais). Um grupo controle deverá ser tratado da mesma forma, porém, sem o agente tóxico. No final do teste os animais deverão ser sacrificados e submetidos à necropsia com avaliações macro e microscópicas. Além destas variáveis, avaliações hematológicas e bioquímicas devem ser realizadas. Dependendo da espécie (coelhos) estas análises podem ser realizadas antes do início do tratamento, no meio do teste e no final deste, incluindo a urinálise.

#### **Estudos de toxicidade crônica**

Avaliam os efeitos da administração de doses repetidas por períodos superiores a três meses, sendo este período de dois anos em roedores e de um ano, em outras espécies (dependendo do padrão de uso da substância em teste). Os objetivos destes testes são: determinar o efeito tóxico após exposição prolongada das doses cumulativas e/ou avaliar o potencial carcinogênico. Para tanto são utilizadas duas espécies, geralmente, camundogos e ratos (50 animais por dose e sexo).

De forma semelhante ao teste subcrônico os animais são avaliados quanto à massa corporal, consumos e sinais clínicos, semanalmente; hematologia, bioquímica sanguínea e urinálise devem ser realizadas antes do início do estudo, após seis meses e ao final do teste, onde são também avaliados anatomopatologicamente.

#### **Estudos de mutagênese e carcinogênese**

O processo mutagênico envolve modificações do material genético das células, de forma a serem transmitidos às novas células durante a divisão, acarretando desde a inviabilidade de



desenvolvimento da célula ovo, passando por morte do embrião ou feto até o desenvolvimento de anormalidades congênitas que podem ser transmitidas hereditariamente.

Testes *in vitro* como o da avaliação das mutações pontuais em cepas mutantes de *Salmonella typhimurium* e *in vivo* realizado nas células da medula óssea em metáfase, nos linfócitos de sangue periférico e o teste do dominante letal (alterações espermáticas capazes de afetar a prole), em modelos animais, são utilizados com o propósito de detectar potencial mutagênico relativo às substâncias testadas. Apesar destes testes terem a capacidade de avaliar o potencial mutagênico das substâncias, os resultados obtidos são de difícil extrapolação ao homem. Entretanto, podem ser empregados para prever (triagem) o desenvolvimento de câncer, já que uma das teorias da carcinogênese química indica a mutação como evento desencadeante do processo (genotoxicidade).

Outros testes são necessários para avaliar o potencial carcinogênico de substâncias por mecanismos não genotóxicos como os testes de citotoxicidade com regeneração (acompanhada de aumento na síntese de DNA), desbalanços hormonais, imunossuppressores e promotores de expressão de oncogenes. Usualmente, para os testes de carcinogênese empregam-se doses relativas à maior dose tolerável, ou seja, aquela que administrada durante o período médio de vida dos modelos animais utilizados, não provoca morte ou redução maior do que 10% na massa corporal.

### **Estudos de desenvolvimento**

- Reprodução e teratogênese:

A toxicologia do desenvolvimento engloba a toxicologia da reprodução (efeitos adversos sobre os sistemas reprodutores masculino e feminino) e a teratologia (alterações induzidas entre a concepção e o nascimento).

Os testes devem ser realizados de modo a avaliar a fertilidade e o desempenho reprodutivo (segmento I), o potencial teratogênico (segmento II) e a toxicidade peri e pós-natal (segmento III).

O segmento I, trata machos e/ou fêmeas adultos durante a fase de pré e acasalamento, sendo avaliadas alterações sobre a fertilidade e a possível reversibilidade do processo.

O segmento II, trata fêmeas prenhes durante a fase de organogênese e avalia a presença de malformações e / ou alterações de desenvolvimento.

O segmento III, trata fêmeas prenhes (no terço final da gestação) e lactantes, avaliando o desenvolvimento geral e sexual da prole até a idade adulta. São utilizados camundongos ratos e/ou coelhos para realização dos testes. Estudos de gerações sucessivas podem também ser realizados.

Atualmente, nos protocolos da EDSTAC (*Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee*, que é o comitê consultivo de teste e rastreamento de desreguladores endócrinos), testes de curta duração como o Hershberger e o uterotrófico são utilizados como *screening* de substâncias potencialmente desreguladoras endócrinas.

Nestes testes, são avaliadas as massas relativas do útero ou vesícula seminal e próstata, de indivíduos pré-púberes tratados por um curto período de tempo (3 dias para fêmeas e 7 dias para machos castrados) com o objetivo de avaliar os potenciais androgênico ou anti-androgênio e estrogênico ou anti-estrogênio da substância em questão.

Outro teste utilizado é o pubertal, que avalia os efeitos da exposição de animais durante a fase de maturação dos órgãos reprodutivos (pré-puberdade).

### **Estudos de toxicocinética**

Informações sobre absorção, distribuição, armazenamento, biotransformação e excreção das substâncias em teste permitem avaliar o comportamento da substância em diferentes espécies animais e assim, prever seu comportamento no homem.

Principalmente a biotransformação, tem sido alvo de inúmeros estudos toxicocinéticos considerando que muitas substâncias químicas exercem efeitos tóxicos através de seus metabólitos, originário de processos que envolvem enzimas como oxidases de função mista, hidrolases, glutitiona-transferases e glicuronil-transferases, que variam entre as espécies animais. Também, tipos e concentração de receptores hormonais e outras moléculas regulatórias são igualmente diferentes entre as espécies diferenciando comparativamente a cinética da substância ao extrapolar-se as respostas para espécie humana.

### **Estudos de efeitos locais sobre a pele e olhos**

Essenciais na avaliação de segurança de substâncias como cosméticos ou produtos industriais, são os testes de irritação ocular e da pele, capazes de prever com boa segurança os efeitos potenciais na espécie humana, utilizando para tanto, espécies muito sensíveis como o coelho (ocular e dérmica) e o cobaio (dérmica).

Para a pele é avaliada presença de eritema, escara, edema e corrosão, e para os olhos, alterações de conjuntiva, córnea, íris e cristalino.

Existem três tipos de testes de irritação:

- local ou aguda: aplicação única com possibilidade de reversão da resposta (num período máximo de 14 dias);
- cumulativa: exposição repetida;
- induzida fotoquimicamente: após irritação primária induzida pela luz é aplicada a substância em teste.

### **Estudos de sensibilização cutânea**

Essenciais na avaliação de segurança de substâncias passíveis de contatos repetidos com a pele. São realizados em coelhos ou cobaios submetidos a repetidas doses da substância com ou sem adjuvantes, por períodos entre uma e duas semanas e, após duas a três semanas de intervalo, os animais são submetidos a uma dose não irritante da substância e o eritema é monitorado. Dois tipos de testes podem ser realizados:

- o adjuvante completo de Freud (ACF): imunopotenciador (que pode ser associado ao lauril sulfato de sódio = maximização de Magnusson e Kligmann) aplicado topicamente e, intradermicamente, é aplicada a substância teste.
- teste sem adjuvante: aplicado após o teste de adjuvante (verifica a intensidade da resposta).

### **Estudos de ecotoxicidade**

A toxicologia ambiental estuda os efeitos adversos em organismos vivos, provocados por substâncias químicas liberadas no ambiente. Especificamente, a ecotoxicologia estuda estes efeitos no ecossistema e seus componentes.

A associação de substâncias deve ser considerada na análise ambiental, bem como as condições climáticas (temperatura, chuvas). Tornando assim, a monitorização ambiental peça fundamental na precisão de avaliação de risco.

Existe uma lista de fatores a ser considerada ao se avaliar o risco ambiental de uma dada substância química: **químicos** (possíveis estados de oxidação, interações como outros materiais e impurezas, vias e produtos de degradação e biodisponibilidade, forma física), **potencial de biodegradação** (demanda biológica e química de oxigênio, variação de temperatura, disponibilidade de oxigênio e biodegradação de produtos de interação), **testes de toxicidade aguda** (microorganismos, plantas superiores, invertebrados, peixes, pássaros e mamíferos) e **toxicidade crônica** (espécies de peixes, cadeia alimentar de invertebrados e mamíferos mais significativos), **desaparecimento** da atmosfera, águas de rios, lagos, solo, **bioacumulação** em microorganismos, plantas superiores, invertebrados, peixes, pássaros, mamíferos e humanos, **eutrofização**, ou seja, excessos de nutrientes em águas naturais (testes laboratoriais da resposta em algas e outras plantas aquáticas), **solos, lodo e sedimentos** (acumulação e liberação de outros materiais por reações de troca ou pela modificação do meio) e **efeitos físicos** (radiações).

A finalidade destes estudos é fornecer dados que possam ser utilizados para avaliação de risco do uso da substância para o homem e para as demais espécies, considerando a possível associação de substâncias, efeitos climáticos, indivíduos expostos, período de exposição e a possibilidade de bioacumulação.

### **10.3 Noções sobre avaliação de risco**

Segundo a Academia Nacional de Ciências dos Estados Unidos (1983), a terminologia utilizada no estudo de avaliação de risco fica padronizada conforme citação a seguir:

- perigo: capacidade da substância para causar um efeito adverso;

- risco: probabilidade de ocorrência de perigo sob condições específicas de exposição;
- avaliação de risco: processo pelo qual o perigo, a exposição e o risco são determinados;
- manejo do risco: processo através do qual são avaliadas as opções políticas e selecionada a medida regulatória mais apropriada com base nos resultados da avaliação do risco e nos interesses sociais, econômicos e políticos.

Para a realização da avaliação do risco, são necessários:

- identificação do perigo: caracterização dos efeitos adversos inerentes a determinado agente químico;
- avaliação dose-resposta: caracterização da relação entre a dose e a incidência de efeitos adversos em populações expostas;
- avaliação da exposição: medição ou estimativa da intensidade, da frequência e da duração da exposição humana ao agente químico;
- caracterização do risco: estimativa da incidência de efeitos adversos para a saúde sob várias condições de exposição humana.

Os objetivos da avaliação incluem: a análise da relação risco versus benefícios, o estabelecimento de alvos e níveis de risco, e o auxílio na definição das prioridades dos programas de vigilância pelas agências regulatórias, indústrias, organizações ambientais e de consumidores.

Para identificação do perigo, investiga-se a possibilidade do agente causar um efeito adverso e se estabelece a natureza dos efeitos presentes numa população e/ou ecossistema.

Utilizam-se dados epidemiológicos de populações expostas por meio de estudos analíticos retrospectivo como o caso-controle (que relaciona indivíduos com e sem os efeitos tóxicos aos níveis de exposição) ou prospectivo como o de coorte (que observa ao longo do tempo indivíduos expostos ao fator de risco, mas inicialmente assintomáticos), buscando evidências de causalidade, associados aos estudos descritivos. Estes últimos, apenas descrevem a existência de eventos mostrando padrões temporal e espacial como as ocorrências relacionadas a gênero, faixa etária, raça, entre outras, utilizando estudos de incidência (número de casos novos no período de tempo), prevalência (número de casos novos e antigos num período de tempo) e estudos ecológicos (correlação entre morbidade ou mortalidade de populações expostas ao fator de risco uma área geográfica).

Além de estudos epidemiológicos, na fase de identificação do perigo, utilizam-se dados de estudos em modelos animais (toxicidade aguda, subcrônica, crônica, carcinogenicidade, toxicidade reprodutiva, entre outros), com os resultados de DL<sub>50</sub> ou CL<sub>50</sub>, NOAEL e LOAEL – doses para cada tipo de teste.

Nesta fase, a Agência de Proteção Ambiental (EPA – *Environmental Protection Agency*) dos Estados Unidos, classifica as evidências em: suficiente, limitada, inadequada, não disponível ou nenhuma evidência, considerando a qualidade dos dados, o tipo de estudo, a via e a duração da exposição, as doses utilizadas e a reprodutividade do estudo.

A avaliação da dose-resposta, que tem como objetivo quantificar o perigo, envolve o cálculo da dose de Referência (RfD – *reference dose*): doses passíveis de exposição diária pela população ao longo de toda vida sem apresentar risco de efeitos nocivos à saúde; e da ingestão diária aceitável (IDA): níveis permissivos de exposição crônica à resíduos de pesticidas e aditivos alimentares (baseado em efeitos não carcinogênicos).

Como não se considera a existência de limiar para os efeitos carcinogênicos, este risco é especificamente mensurado por modelos matemáticos como uma probabilidade de ocorrência de 1 caso em 1.000.000 para o risco de exposição a uma substância com potencial carcinogênico (em baixas doses).

Para os cálculos de RfD ou IDA é utilizada a fórmula que segue:

$$\text{IDA ou RfD} = \frac{\text{NOAEL (ou LOAEL)}}{\text{fatores de segurança}}$$

Considerando que o homem geralmente é mais sensível do que as espécies utilizadas nos testes biológicos, fatores de segurança são incluídos no cálculo (Tabela 19).

Tabela 19. Fatores de segurança para avaliação de risco humano mediante dados obtidos em animais.

| Fatores | Justificativa                            |
|---------|--|
| 10      | Variabilidade humana                     |
| 10      | Extrapolação dos animais para os humanos |
| 10      | Utilização de estudos subcrônicos        |
| 10      | Utilização da <i>LOAEL</i>               |
| 0,1-10  | Fatores adicionais                       |

O número de fatores aplicados é inversamente proporcional ao grau de confiabilidade dos dados disponíveis.

Com relação à avaliação da exposição, pode-se dizer que esta é mensurada considerando os fatores: intensidade, frequência e duração da exposição humana a um agente presente no ambiente ou seu uso.

O cálculo inclui:

- magnitude da exposição = E;
- concentração da exposição em relação ao tempo = C(t);
- tempo total da exposição = dt;
- duração da exposição = t2 - t1.

Avaliado pela integral:

$$E = \int_{t1}^{t2} C(t) \cdot dt$$

Esta avaliação inclui as fases de caracterização da fonte de exposição, identificação dos meios de exposição (água, solo, ar, contato direto ou por alimentos) e das vias (dérmica, inalatória ou oral), e por fim, a quantificação da exposição. Pode ser referida em valores numéricos ou frequências e expressa em mg/kg/dia. A concentração ou dose potencial pode ser quantificada por medição direta da dose potencial de contato (monitoramento individual), da concentração do agente no meio (exposição – mensuração ambiental) e estimativa de dose potencial (biomarcadores de efeito e dose interna – biomonitoramento).

A caracterização e o manejo do risco compõe a etapa final da avaliação e esta, envolve a predição da frequência e da severidade dos efeitos adversos numa população exposta. Para execução do processo de caracterização do risco, são considerados os fatores: toxicidade da substância e exposição. Relacionando estes fatores, pode-se prever o grau de risco conforme descrito na Tabela 20.

Sendo assim, a partir dos dados de identificação do perigo, da avaliação da dose-resposta e da exposição, são geradas evidências que compõe “o risco da exposição a um agente potencialmente tóxico”, para a tomada de decisões políticas referentes à regulamentação, ao gerenciamento e à comunicação do risco.

Tabela 20. Caracterização do grau de risco baseada na toxicidade da substância, exposição e risco.

| <b>Toxicidade da substância</b> | <b>Exposição</b> | <b>Risco</b>    |
|---------------------------------|------------------|-----------------|
| Alta                            | Alta             | Muito alto      |
| Alta                            | Média            | Alto            |
| Alta                            | Baixa            | Alto / Médio    |
| Alta                            | Muito baixa      | Médio / Baixo   |
| Média                           | Alta             | Alto / Médio    |
| Média                           | Média            | Médio           |
| Média                           | Baixa            | Baixo / Médio   |
| Baixa                           | Alta             | Baixo / Médio   |
| Baixa                           | Média            | Baixo           |
| Baixa                           | Baixa            | Sem importância |

### Referências

- ALLEN, D. G.; PRINGLE, J. K.; SMITH, D. A. **Handbook of veterinary drugs**. 2. ed. Philadelphia: Lippincott - Raven Publishers, 1998. 842 p.
- BARRAGRY, T. B. **Veterinary drug therapy**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994. 1076 p.
- BARRAVIEIRA, B. (Coord.) **Venenos animais: uma visão integrada**. Rio de Janeiro: EPUC, 1994. p. 375-387.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes ofídicos**. Brasília, 1991. 53 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos**. 2. ed. rev. Brasília, 2001. 120 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Monografias de produtos agrotóxicos**. Brasília, 2002. 3 v. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/tox/mono/index.thm>. Acesso em: 20 mar. 2002.
- COMPENDIUM of veterinary products. 4th ed. Port Huron: Aurora Arrijoja-Dechert, 1997. 1580 p.
- COMPÊNDIO veterinário: dicionário brasileiro de medicamentos veterinários. 31. ed. São Paulo: Andrei, 2000. 969 p.
- FOWLER, M. E. **Plant poisoning in small companion animals**. Saint Louis: Ralston Purina Company, 1980. 51 p.
- GFELLER, R. W.; MESSONNIER, S. P. **Handbook of small animal toxicology and poisonings**. St. Louis: Mosby, 1998. 405 p.
- GUIA médico veterinário. 3. ed. São Paulo: Villbor, 1997. 516 p.
- JONES, L. M.; BOOTH, N. H.; McDONALD, L. E. **Farmacologia e terapêutica em veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983.
- LARINI, Lourival. **Toxicologia**. São Paulo: Manole, 1997. p. 121-127.
- LORGUE, G.; LECHENET, J.; RIVIERE, A. **Clinical veterinary toxicology**. Oxford: Blackwell Science, 1996. 210 p.
- OGA, S. **Fundamentos de toxicologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003. 480 p.
- OSWEILER, G. D. **Toxicology**. EUA: Williams & Wilkins, 1996. 491 p.
- OSWEILER, G. D. **Toxicologia veterinária**. Tradução Eliane Maria Zanchet et al. Porto Alegre: Artes Médicas, 1998. 526 p.
- PEREIRA, C. A. **Plantas tóxicas e intoxicações na veterinária**. Goiânia: UFG, 1992. 279 p. il.
- RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. Del C.; SCHILD, A. L. **Intoxicações por plantas e micotoxícoses em animais domésticos**. Volume I. Montevideu: Editorial Agropecuária Hemisfério Sur S.R.L., 1993. 340 p.
- SCHVARTSMAN, S. **Produtos químicos de uso domiciliar: segurança e riscos toxicológicos**. São Paulo: Almed, 1980. p. 59-62.

SORACI, A. L.; TAPIA, M. O. **Intoxicaciones en carnívoros domésticos**: manual clínico. Santa Fe: Fondo Editor Dr. Edgardo Segismundo Allignani. 2001. 78 p.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. 310 p.

WINTER, V. P. **Índice Terapêutico Veterinário**: ITV 2003/2004. Rio de Janeiro: EPUB, 2002. 637 p.

**Ilustrações - fonte**: uso autorizado pelo Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul – CIT/RS.

## 9. ANÁLISES CLÍNICAS MICOLÓGICAS

Laerte Ferreira

### 1. INTRODUÇÃO

Os fungos constituem um grupo diversificado de microorganismos suficientemente diferenciados de outros seres vivos para serem considerados um reino separado na natureza, o reino *Fungi*.

As doenças que ocorrem após a invasão tecidual podem ser classificadas na Micologia Veterinária como micoses cutâneas, subcutâneas e sistêmicas. A penetração do fungo pode ser:

- diretamente na epiderme;
- por inoculação transcutânea (trauma);
- por inalação;
- a partir de um foco profundo de infecção preexistente no organismo, levando a uma disseminação endógena.

Alguns fungos, denominados dimórficos, apresentam duas formas de crescimento e podem existir tanto na fase/forma leveduriforme como na fase/forma filamentosa, dependendo da temperatura. A fase leveduriforme ocorre nos tecidos do hospedeiro e em cultivos a 37°C, enquanto a fase filamentosa é observada em culturas entre 25-28°C. Uma exceção é o dimorfismo particular do *C. immitis* que na fase tecidual só apresenta esférulas.

A estrutura de um fungo pode ser unicelular - como usualmente ocorre com as leveduras - ou multicelular, onde as células alongam-se para formar filamentos ou hifas divididos por septos. Alguns fungos (Zigomicetos) possuem raríssimos septos, sendo descritos como asseptados ou cenocíticos. O conjunto dessas hifas dão origem ao micélio (aéreo e vegetativo), que caracteriza o aspecto macroscópico dos fungos filamentosos.

### 2. CLASSIFICAÇÃO

A classificação dos fungos é largamente baseada na morfologia. A taxonomia é baseada nas estruturas da fase sexuada ou teleomórficos (fungos perfeitos) do ciclo biológico, assim, as divisões do Reino Fungi como, *Ascomycota*, *Basidiomycota* e

*Zygomycota* caracterizam-se pela produção de ascósporos, basidiósporos e zigósporos, respectivamente; e também conforme os propágulos fúngicos resultantes da reprodução assexuada (estado anamórfico). Os fungos que só possuem o estado anamórfico são classificados como fungos mitospóricos, pertencentes a Divisão *Deuteromycota* (Fungos imperfeitos).

#### Reprodução Sexuada e Assexuada

| Divisão                                   | Reprodução sexuada (Fungos perfeitos)     | Reprodução assexuada             | Tipo de Hifas                            |
|---|---|----------------------------------|--|
| Ascomycota<br>Basidiomycota<br>Zygomycota | Ascósporos<br>Basidiósporos<br>Zigósporos | Conídios<br><br>Esporangiosporos | Septadas<br><br>Asseptadas (cenotíticas) |
| Deuteromycota                             | Inexistente ou Desconhecida               | Conídios                         | Septadas                                 |

#### TAXONOMIA DOS PRINCIPAIS FUNGOS DE INTERESSE VETERINÁRIO (BRASIL)

| ZYGOMYCOTA  | ASCOMYCOTA          | BASIDIOMYCOTA   | DEUTEROMYCOTA  |   |  |  |
|---|---------------------|---|--|---|--|--|
| Classe : Zygomycota   | Classe: Ascomycetes | Classe: Basidiomycetes  | Classe: Blastomycetes  | Classe: Hyphomycetes  |  |  |
| <b>Ordem: Mucorales</b><br><b>Gêneros:</b><br><i>Absidia</i><br><i>Mucor</i><br><b>Rhizomucor</b><br><i>Rhizopus</i><br><i>Syncephalastum</i><br><br><b>Ordem: Entomophthrales</b><br><br><b>Gêneros:</b><br><i>Conidiobolus</i><br><i>Basidiobolus</i> | <b>Arthroderma</b>  | <b>Ordem:</b><br>Ustilaginales<br><b>Gênero:</b><br><i>Filobasidiella</i> | <b>Família:</b><br>Criptococaceae<br><b>Gêneros:</b><br><i>Cryptococcus</i><br><i>Malassezia</i><br><i>Candida</i><br><i>Rhodotorula</i><br><i>Torulopsis</i><br><i>Trichosporon</i> | <b>Família:</b><br>Moniliaceae<br>Tuberculariaceae<br><br><b>Gêneros:</b><br><i>Aspergillus</i><br><br><i>Coccidioides</i><br><i>Epidermophyton</i><br><b>Geotrichum</b><br><br><i>Histoplasma</i><br><i>Microsporium</i><br><i>Paecilomyces</i><br><br><i>Penicillium</i><br><i>Scopulariopsis</i><br><br><i>Sporothrix</i><br><br><i>Trichophyton</i> | <b>Família:</b><br>Dematiaceae<br><br><b>Gênero:</b><br><i>Alternaria</i><br><br><i>Bipolaris</i><br><i>Cladosporium</i><br><i>Curvularia</i><br><i>Drechslera</i><br><b>Exophiala</b><br><i>Fonsecaea</i><br><i>Helminthosporium</i><br><i>Nigrospora</i><br><i>Phialophora</i><br><i>Wangiella</i><br><i>Xylohypha</i> | <b>Família:</b><br><br><b>Gênero:</b><br><i>Fusarium</i> |



### 3. PORTA DE ENTRADA, SUSPEITA CLÍNICA, AMOSTRAS BIOLÓGICAS E PROCEDIMENTOS

#### Porta de entrada de micoses e actinomicetoses

|   |  |
|---|--|
| Porta de entrada                                  | Micose/actinomicose  |
| Pulmão  | Micoses sistêmicas e oportunisticas, nocardiose, rodococose, actinomicose, |
| Epiderme, pêlo e unha                             | Dermatofitoses   |
| Pele e tecido subcutâneo                          | Micoses subcutâneas e micetoma<br>Actinomicótico                           |
| Seios paranasais                                  | Zigomicose, aspergilose, feohifomicose, hialohifomicose                    |
| Pele, tecido subcutâneo, mucosa nasal, conjuntiva | Rinosporidiose, pitiose,   |
| Pele e mucosas                                    | Candidose  |
| Córnea  | Aspergilose, hialohifomicose   |

#### Suspeita clínica conforme amostras biológicas enviadas

|                       |   |
|-----------------------|---|
| Fluídos Corpóreos     | Qualquer agente etiológico, de actinomicose, nocardiose, rodococose, micoses sistêmicas e oportunisticas.                                 |
| Sangue                | <i>Candida</i> spp., <i>H. capsulatum</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> e alguns agentes de hialohifomicoses ( <i>Fusarium</i> spp.)   |
| Medula Óssea          | <i>H. capsulatum</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>P. brasiliensis</i>  |
| Lavado Broncoalveolar | Agentes de actinomicose, nocardiose, rodococose, micoses sistêmicas, micoses oportunisticas, especialmente pneumocistose                  |
| Líquor                | <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Nocardia asteroides</i>   |
| Ouvido                | <i>Aspergillus</i> , especialmente <i>A. niger</i>  |
| Pêlo                  | <i>Trichophyton</i> spp., <i>Microsporum</i> spp.   |
| Unha                  | <i>Candida albicans</i> , <i>Trichophyton</i> spp., <i>S. brevicaulis</i>   |
| Pele                  | Agentes de micoses superficiais, cutâneas e subcutâneas. Micoses sistêmicas e oportunisticas como resultado de disseminação hematogênica. |
| Pus e Exsudatos       | Agentes de micoses sistêmicas, oportunisticas, subcutâneas; nocardiose, actinomicose, rodococose.   |
| Escarro               | Agentes de micoses sistêmicas, oportunisticas, incluindo pneumocistose, nocardiose, actinomicose, rodococose.                             |
| Urina                 | <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Candida</i> spp., <i>H. capsulatum</i>  |

### Micoses e alguns focos potencialmente fontes da infecção

|                  |   |
|------------------|---|
| Foco             | Micose  |
| Solo/plantas     | Coccidioidomicose, criptococose, esporotricose, cromomicose, zigomicose, micetoma |
| Solo/água        | Aspergilose, pitiose, rinosporidiose, lobomicose                                  |
| Pássaros         | Histoplasmose, criptococose   |
| Roedores         | Adiaspiromicose, dermatófitos   |
| Tatu             | Paracoccidioidomicose, esporotricose  |
| Morcegos         | Histoplasmose, adiaspiromicose  |
| Diversos animais | Dermatófitos zoofílicos   |

### Material de Origem Cutânea

| Natureza          | Técnica                            | Princip. Indicações                                   |
|-------------------|------------------------------------|---|
| Escamas / crostas | Raspado cutâneo                    | Dermatofitose, Malasseziose, Candidose                |
| Pêlos             | Raspado cutâneo, pinçagem de pêlos | Dermatofitose   |
| Unhas             | Raspagem da unha                   | Dermatofitose   |
| Cerume            | Curetagem com swabs                | Malasseziose  |
| Exsudato          | Com aspiração                      | Candidose   |
| Líq. Abscesso     | Punção, biópsia                    | Criptococose, Esporotricose                           |
| Nódulo            | Punção, biópsia                    | Criptococose  |
| Ulceração         | Punção, biópsia                    | Criptococose, Candidose, Esporotricose, Feohifomicose |

### Material de Origem Respiratória

| Natureza   | Técnica de obtenção                      | Principais Indicações                                    |
|--|--|--|
| Descarga nasal                                     | "swabs"; impressão (clap); aspiração     | Aspergilose, Criptococose, Rinosporidiose                |
| Tecidos das cavidades nasais e sinus               | Biópsia sob rinoscopia ou após rinotomia | Aspergilose, Criptococose, Feohifomicose; Rinosporidiose |
| Líquido bronquioalveolar (LBA) ou traquiobrônquico | Lavagem                                  | Aspergilose, Pneumocistose, Histoplasmose                |
| Tecido pulmonar                                    | Punção; biópsia                          | Idem   |

### Material de Origem Digestiva

| Natureza  | Técnica de obtenção           | Principais Indicações               |
|---|-------------------------------|-------------------------------------|
| Cavidade bucal (exsudato pseudomembranoso); tecido neoformado | Raspagem com swabs, curetagem | Candidose, Criptococose             |
| Mucosas e líq. Gastroduodenal                                 | Endoscopia; biópsia           | Candidose, Mucormicose; Aspergilose |
| Material fecal  | Colher " <i>in situ</i> "     | Candidose, Geotricose               |

### Quantidade de material para estudo micológico

| Espécime              | Quantidade                         | Processamento               |
|-----------------------|------------------------------------|-----------------------------|
| Fluídos do corpo (*)  | O máximo possível                  | Direto, Prata, Giemsa       |
| Sangue                | 1-5 ml                             | Prata, Giemsa               |
| Medula óssea (*)      | 0,2 ml (esfregaço); 1 ml (cultivo) | KOH, prata, Kinyoun, Gram   |
| Lavado broncoalveolar | 10-20 ml                           | Direto, Prata               |
| Líquor                | 3-5 ml                             | Tinta da China              |
| Pêlo                  | -                                  | Hidróxido de potássio (KOH) |
| Pele                  | -                                  | KOH (**)                    |
| Unha                  | -                                  | KOH (**)                    |
| Pus e exsudatos       | 3-5 ml                             | KOH, Prata, Kinyoun, Gram   |
| Tecido (biópsia)      | -                                  | Prata, KOH (**)             |
| Urina                 | 10-20 ml                           | Direto, Tinta da China      |

\* Devem estar heparinizados. (\*\*) Pode ser acrescido de tinta Parker ou branco de calcoflúor; Os materiais líquidos são centrifugados 3.000 r.p.m./10 min.

#### 4. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS MICOSES

O diagnóstico micológico é obtido pelo EXAME MICROSCÓPICO e pelo EXAME EM CULTIVO de um espécime clínico. O exame microscópico do espécime busca visualizar o fungo em sua morfologia parasitária, e o cultivo isolar o fungo para posterior identificação. Para que o diagnóstico possa ser realizado é necessário:

- 1) que o clínico suspeite ou leve em consideração as micoses no diagnóstico diferencial;
- 2) colhido e encaminhado espécime clínico apropriado; e

3) que esse espécime seja devidamente processado para o exame microscópico e cultivo em meio apropriado ao isolamento do fungo e posterior identificação.

Todas as fases do diagnóstico micológico ficam simplificadas se houver uma cooperação entre o clínico e o laboratorista.

#### 4.1 Avaliação Micológica

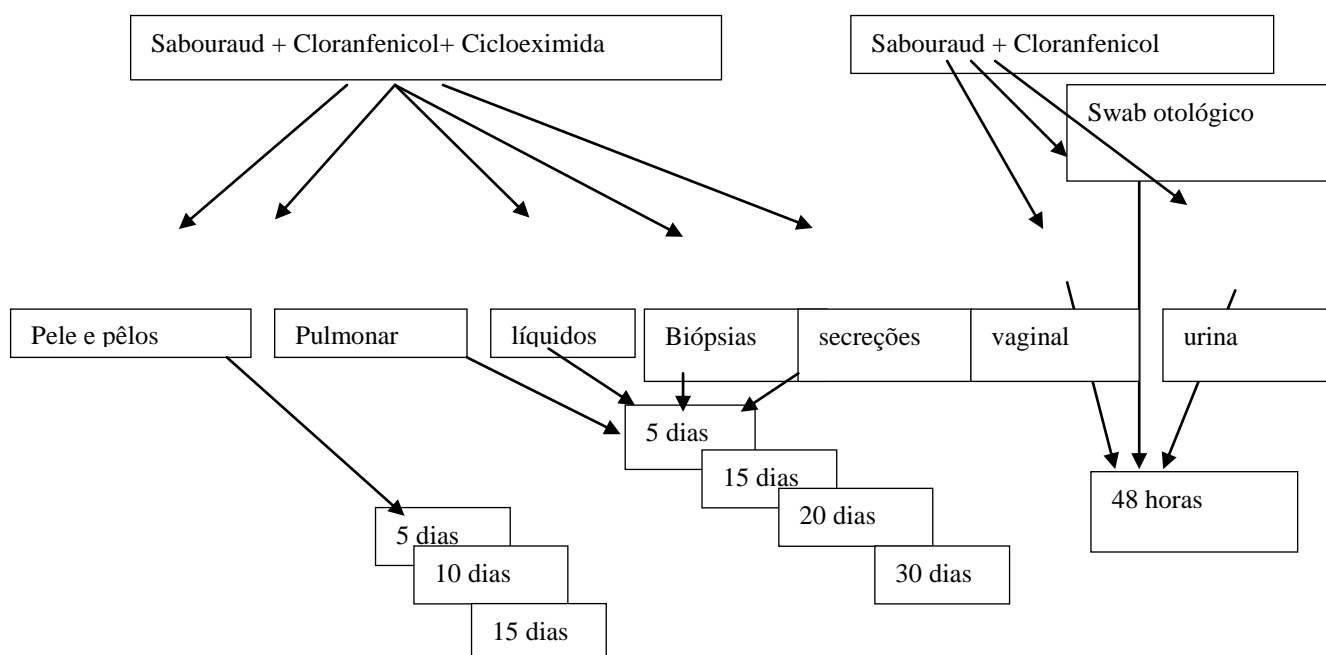
##### 4.1.1 Exame microscópico direto

- a fresco, entre lâmina e lamínula, de fluidos orgânicos ou do sedimento de seu centrifugado; na suspeita de presença lêvedo capsulado, adicionar tinta da China;
- em líquido clarificador, potassa a 20%; acrescido ou não de tinta Parker 51 permanente;
- em líquido para fluorescência direta, calcoflúor;
- distendido em esfregaço, fixado e corado ao Gram, Giemsa ou Grocott (Prata); - em cortes histológicos corados com HE, Grocott, Fontana-Masson.

##### 4.1.2 Isolamento em cultivo

O cultivo deve ser executado mesmo quando o fungo, por ter morfologia peculiar, é identificável ao exame microscópico. O isolamento em cultivo é feito usualmente por semeadura em meios usados rotineiramente em micologia. O ágar Sabouraud (SAB) acrescido de cloranfenicol (SCI) ou ciclohexamida (Mycosel, My). Meios enriquecidos como infusão de coração e cérebro (BHI) deve ser incluído ou ágar Sangue (AS). Os cultivos devem ser incubados à 25°C ou 35°C / 37°C; examinados diariamente, durante os primeiros cinco dias e em dias alternados por mais 10 dias antes de serem descartados.

### PRINCIPAIS MEIOS DE CULTIVO DAS AMOSTRAS MAIS COMUNS EM VETERINÁRIA



## Rotina de cultivo em micologia

| Espécime                    | Meios de cultivo |     |    |     |     |    |
|-----------------------------|------------------|-----|----|-----|-----|----|
|                             | SAB              | SCI | My | BHI | L-J | AN |
| Pele                        |                  | 2c  | 1  |     |     |    |
| Pêlo                        |                  |     | 1  |     |     |    |
| Unha                        |                  | 2c  | 1  |     |     |    |
| Líquor                      | 1                |     |    | 2   | 3t  | 4  |
| Líquido ascite              | 1                |     |    | 2   | 3t  |    |
| Líq. pleural/Aspirado pul.  | 1                |     |    | 2   | 3t  |    |
| Líquido sinovial            | 1                |     |    | 2   | 3t  |    |
| Sangue                      | 1                |     |    | 2   | 3t  |    |
| Medula óssea                | 1                |     |    | 2   | 3t  |    |
| Pus (lesão fechada)         | 1                |     |    | 2   | 3t  |    |
| Aspirado gástrico           |                  | 1   |    |     |     |    |
| Urina                       |                  | 1   |    |     |     | 2  |
| Secreção vaginal            |                  | 1   |    |     |     |    |
| Lavado brônq./Asp. Traqueal |                  | 1   | 2d |     |     |    |
| Ouvido, olhos, nariz, boca  |                  |     | 1  |     |     |    |
| Tecidos                     | 1                |     |    | 2   | 3t  |    |
| Material de necropsia       |                  | 1   | 2d |     |     |    |

c=*Candida*, d=dimorfismo, t=tuberculose, AN=ágar niger (suspeita *Cryptococcus*),

L-J=Löwenstein-Janssen. **Temperaturas** (°C): SAB/SCI(25, 35), My(25), BHI(35), L-J(37). **Ordem de preferência:** 1, 2, 3 e 4; cuidado: SCI e My não cresce *Nocardia* e My - não crescem *Cryptococcus*, *Pseudallescheria* e *Aspergillus*.

### 4.1.3 Características do cultivo por agente fúngico

#### A) *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*

**Meio de transmissão:** inalação de conídios provenientes de solo com fezes de aves e morcegos.

**Cultivo:** em 26°C (fase filamentosa) e 37°C (fase leveduriforme). A forma filamentosa produz colônias brancas e flocosas com macroconídios grandes (aneuroconídios) de parede tuberculada. A confirmação de identificação do fungo é feita através da conversão da fase miceliana à leveduriforme por subcultivo a 37°C em ágar BHI. A identificação também pode ser feita usando-se o teste de detecção de exoantígeno que consiste em método de imunodifusão para antígeno secretado.

Para diagnóstico sorológico estão disponíveis as reações de fixação do complemento (RFC) e de imunodifusão dupla (ID). O radioimunoensaio (RIE) para detecção de antígeno, também é disponível.

### **B) *Coccidioides immitis***

**Transmissão:** É causada pela inalação de conídios do fungo proveniente do solo, encontrado em regiões semi-desérticas. Acomete humanos e diversos animais.

**Cultivo:** em ágar glicose-peptona ou BHI a 37°C. A colônia tem característica branca e flocosa, com artroconídios, os quais são altamente infectantes. Não possuem fase leveduriforme e sim esférulas na fase tecidual.

Para diagnóstico sorológico, RFC e ID estão disponíveis.

### **C) *Sporothrix schenckii***

**Transmissão:** fungo dimórfico encontrado no solo e em fragmentos de vegetais, plantas em decomposição, etc. A esporotricose cutânea está associada a certas profissões, como as que lidam com produtos vegetais ou solo (floricultores, jardineiros, trabalhadores florestais, nariz de palhaço em gatos) por estarem frequentemente expostas ao organismo. Ocorre em animais, principalmente em gatos.

**Cultivo:** Material como exsudato de úlcera ou fragmento de tecido obtido por biópsia, devem ser semeados em ágar glicose-peptona ou ágar BHI (ambos podendo conter cicloheximida e cloranfenicol). Crescimento (fase filamentosa) de colônias brancas ou cinzentas a 26°C que escurecem, as vezes tornando-se negras com a maturidade do cultivo. As colônias apresentam uma superfície pregueada e textura úmida. A microscopia revela agrupamento de conídios ovóides, formados no ápice de conidióforos em um padrão semelhante a pétalas de margarida (simpodioconídio). Confirmação da identificação é obtida por subcultivo em ágar BHI a 37°C, para conversão para a fase leveduriforme (que é a forma encontrada no tecido subcutâneo). Colônias úmidas, de textura pastosa e cor de creme se desenvolvem, sendo formadas por leveduras alongadas que se desenvolvem nestas condições de cultivo.

Corpos asteróides: formação de complexo Ag-Ac que aparece em cortes histológicos de animais imunocompetentes. Se encontrado no pus, é patognomônico da esporotricose. Nos cortes histológicos encontra-se leveduras com forma tipo “charuto”.

### **D) *Rhinosporidium seeberi***

**Transmissão:** Não ocorre transmissão de humanos/humanos e nem de animais/humanos. Águas paradas, açudes e poços são lugares considerados como nicho ecológico deste microorganismo considerado atualmente como protista.

**Diagnóstico laboratorial:** *Não existe cultivo*. É realizado através do exame direto (KOH), ou do histopatológico dos pólipos notadamente (contém esporângios com endósporos).

### **E) Fungos DEMATIÁCEOS e MONILIÁCEOS:**

Os micetomas são classificados de acordo com a etiologia implicada no processo. Os de origem bacteriana (actinomicetos), são denominados micetomas actinomicóticos ou actinomicetomas. Já os micetomas eumicóticos ou eumicetomas, são aqueles causados por fungos..

Os eumicetomas podem ter grãos negros (fungos dematiáceos) e grãos brancos (fungos moniliáceos/hialinos), enquanto que os micetomas actinomicóticos podem ter grãos brancos, amarelos, vermelhos ou pretos, dependendo do tipo de bactéria responsável. O tipo de grânulo formado ajuda a orientar na suspeita da provável etiologia.

O diagnóstico laboratorial: obtenção dos grãos nas lesões que drenam espontaneamente, e nas fechadas realizar punções. O material deve ser submetido ao exame direto e a cultura (fungo ou bactéria) após a observação dos grãos.

#### **E.I - Fungos Dematiáceos (demáceos):**

Infecção subcutânea, geralmente localizada, formando cistos, granulomas ou abscessos. Foram classificadas dentro das *Feohifomicoses* doenças específicas conforme a etiologia.

-Feohifomicoses propriamente ditas

-Cromomicose

-Micetomas eumicóticos

**Transmissão em geral:** Através do contato com o solo e vegetais.

**Cultivo:** de fragmentos de biópsia irão desenvolver colônias de fungos de cor escura em ágar glicose-peptona sem cicloheximida. A maioria dos agentes etiológicos (todos septados) cresce melhor a 30°C.

#### **Cultivo dos principais fungos Dematiáceos:**

*Cladosporium* Colônias cinzas e negras. Os conidióforos são ramificados e os conídios (ovóides ou cilíndricos, com ou sem septação) são produzidos em cadeias.

**Curvularia** Colônias escuras (cinza a marrom). Os conídios são produzidos em grupos na extremidade de conidióforos, com 3 a 4 septos e são curvados.

**Alternaria** Colônias escuras. Os conídios são alongados, escuros, caudatos e com septações longitudinais e transversais. São produzidos em cadeias.

**Helminthosporium** Difere da *Curvularia* pelos conídios que são cilíndricos ou elípticos, septados e não encurvados.

Os materiais mais utilizados: aspirados peritoneais, secreções respiratórias, biópsias de tecidos infectados (ex.:pele e nariz).

O cultivo deve ser em meio de Sabouraud com ou sem cloranfenicol e as subculturas ou microcultivos em ágar fubá ou ágar batata para a estimular a conidiação. Crescem a 25° a 30°C.

As Feohifomicoses geralmente são diagnosticadas pelo exame histopatológico que detecta a presença de hifas pigmentadas e septadas, as quais podem estar associadas a outros elementos fúngicos também pigmentados. Os agentes etiológicos variam quanto ao grau de pigmentação formada *in vivo*, portanto, pode ser necessária a utilização de uma coloração especial (ex.: Fontana-Masson), para demonstração do pigmento na parede celular.

## **E.II - Fungos Moniliáceos (hialinos)**

### **Cultivo dos principais fungos Moniliáceos:**

#### ***Fusarium***

**Transmissão:** contaminação com conídios de *Fusarium* sp. dispersos no solo, no feno e no ar.

**Cultivo:** em Agar Sabouraud com cloranfenicol e sem ciclohexamida. A colônia inicialmente é branca e algodonosa ou flocosa, mas freqüentemente desenvolvem um centro violeta ou rosa com uma periferia mais clara. Algumas espécies se mantêm brancas ou amarelo marrom. O reverso é de cor clara.

No exame direto com KOH a 10%, encontra-se hifas hialinas, septadas e ramificadas que lembram às dos *Aspergillus* spp., no tamanho e na forma de ramificação e septação.

#### ***Penicillium***

**Transmissão:** Seu habitat é o mais variado possível.



**Cultivo:** Fungos de crescimento muito rápido. Inicialmente as colônias apresentam uma textura algodonosa baixa ou aveludada, que rapidamente adquirem uma cor amarelo/alaranjada, amarelo/esverdeada, verde ou azul/esverdeada, O reverso varia do castanho/amarelado ao castanho/avermelhado, podendo o pigmento ser difusível ou não no meio.

***Penicillium marneffe*** Espécie dimórfica, apresentando-se na forma leveduriforme quando "*in vivo*" (em pacientes imunodeprimidos). Nicho ecológico associado a animais ou pessoas em contato com bambus, especialmente em países da Ásia.

### ***Aspergillus***

**Transmissão:** As espécies do gênero *Aspergillus* são encontradas em todos os lugares e particularmente nos vegetais. Os conídios estão na superfície dos grãos, rações, superfícies de palhas, cascas de arroz, amendoim, sabugo de milho, materiais que são empregados para cobrir o piso dos criadouros, etc.

**Cultivo:** *Aspergillus* spp. podem ser uni ou biseriados. O formato da cabeça aspergilar, disposição das fiálides, presença ou não de metulas são importantes na identificação da espécie, bem como a coloração da colônia no meio de Czapek.

No corte histológico, as hifas apresentam bifurcação e direcionadas para as áreas oxigenadas.

Prova de termotolerância: coloca-se a amostra a temperatura ambiente, a 30°C e a 41°C. O *Aspergillus* se desenvolve muito bem em altas temperaturas (inclusive até mais de 50°C).

### **F) Mucorales (Mucor, Absidia e Rhizopus)**

**Transmissão:** são adquiridas através da inalação ou ingestão de conídios, normalmente presentes em vegetais (feno).

**Diagnóstico Laboratorial:** O material a ser analisado deve ser coletado através de biópsia, retirada do tecido necrosado. Estes devem ser submetidos as preparações histopatológicas e submetidas as colorações de PAS, Prata, como também observação direta com a potassa com azul de algodão. Em todos as colorações serão observadas hifas cenocíticas de diâmetros variados.

**Cultivo:** meios Sabouraud com cloranfenicol. O meio com ciclohexamida não deve ser utilizado, pois este inibe o crescimento de fungos oportunistas.

A característica da família Mucoraceae é por possuir esporos assexuados formados dentro de esporângios e por zigosporos produzidos em um processo de reprodução sexuada, e também pelas hifas asseptadas.

As espécies patogênicas mais importantes são: *Mucor pusillus*, *M. racemosus*, *Absidia corymbifera*, *A. ramosa*, *Rhizopus cohnii*, *R. microsporus*, *R. arrhizus* e *R. oryzae*.

## G) Entomophthorales

### *Conidiobolus coronatus*

**Transmissão:** isolado em insetos e madeira apodrecida.

**Cultivo:** O material necrosado, colhido por biópsia, deve ser triturado e semeado em Sabouraud glicosado em temperatura ambiente. O crescimento é rápido, com colônias branco-amareladas, planas e pulverulentas.

## H) LEVEDURAS

### H.1 - *Candida*

**Transmissão:** ocorre em humanos, em todas as espécies de animais domésticos, em uma imensa variedade de mamíferos selvagens, além de pássaros que são imputados também como reservatórios. Até o presente, não foi encontrada *Candida* em anfíbios. Isolar *C. albicans* na natureza é uma condição excepcional e geralmente está relacionada a uma contaminação, sobretudo com matéria fecal.

As espécies mais comumente isoladas de quadros clínicos são: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* (*Torulopsis glabrata*) e *C. krusei*. Outras espécies menos frequentes *C. lusitaniae*, *C. rugosa*, *C. pseudotropicalis* e *C. guilliermondii*.

**Cultivo:** As colônias de leveduras só devem ser identificadas, quando estiverem puras e em grande quantidade, ou seja, sem contaminação bacteriana ou mistura com outras espécies.

Os meios utilizados podem ser: Agar Sabouraud (AS), Yeast Medium (YM), Dixon (para espécies do gênero *Malassezia*).

A morfologia das leveduras, ao contrário do que ocorre com os fungos filamentosos, não apresenta muita diversidade. Porém, em determinadas situações, a morfologia celular permite a diferenciação de gêneros. Desse modo, realiza-se a microscopia celular da levedura e observa-se a presença blastoconídios, pseudo-hifas, hifas, cápsula, entre outras estruturas características.

Para o diagnóstico diferencial podemos utilizar testes rápidos como indução da formação de tubos germinativos ou formação de clamidósporos (identificação de *Candida albicans*).

Outros gêneros, tais como, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Trichosporon* e *Geotrichum* [considerado por alguns taxonomistas como fungo filamentosos] também podem ser identificados através da observação das características macro e micromorfológicas. Por exemplo, a presença de cores avermelhadas (pigmentos carotenóides) indica provável diagnóstico do gênero *Rhodotorula*.

Atualmente, existem diversos testes laboratoriais que facilitam e agilizam a identificação das leveduras. Destacam-se os chamados meios cromogênicos (CHROMagar Candida / Candida ID (bioMérieux® SA), empregados na triagem e identificação rápida de espécies patogênicas como *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. krusei*, além dos testes bioquímicos através do padrão de assimilação de substratos do sistema de galerias API 20 e API 32 (bioMérieux® SA). O grande entrave para a utilização destes testes é o alto custo e a baixa procura por diagnóstico nos laboratórios de micologia veterinária. A seguir são resumidamente relacionados os principais testes utilizados na metodologia convencional.

## **Diagnóstico laboratorial:**

### **1. Características Fenotípicas**

#### **1.1 Macromorfologia**

Observar as características coloniais como cor (branca, creme, rosa, vermelha), brilho (brilhante, opaca), forma (circular, oval ou fusiforme), margem (regular, irregular, lobada ou difusa/com raízes), superfície (lise ou rugosa), elevação (plana, convexa, umbelicada ou vulcão) ou consistência (cremosa, mucóide, butirosa, membranosa, esfarelada, dura, seca).

#### **1.2 Micromorfologia**

##### **A)- Aspecto das células**

Realizar lâminas a fresco a partir do crescimento de culturas em Agar Sabouraud com no máximo uma semana de incubação. Os caracteres morfológicos a serem observados são: forma e tamanho da célula, presença de pseudomicélio, tipo de reprodução assexuada (brotamento e/ou fissão) e quando for o caso, tipo de brotamento (multipolar, bipolar, unipolar).

##### **B)- Produção de Clamidósporos**

A indução da formação de clamidósporos serve como triagem de leveduras possivelmente patogênicas, especialmente para *Candida albicans*. A técnica de rotina é a de microcultivo no meio agar Fubá (opcional). A colônia suspeita é inoculada através de estrias na superfície do meio e, após, coberta com uma lamínula. Os clamidósporos são visualizados após 24-48 horas de incubação a 30°C. Após o período de incubação, são procuradas as seguintes características: formação de micélio, pseudomicélio, clamidósporos terminais e blastoconídios.

### **1.3 Testes Bioquímicos**

#### **A)- Fermentação**

Se um carboidrato for fermentado, ele será assimilado, porém o contrário não é necessariamente verdadeiro. Se a fermentação ocorre, a glicose será sempre fermentada.

#### **B)- Assimilação de Fontes de Carbono**

A separação das espécies de acordo com o padrão de assimilação. Tradicionalmente três principais métodos são utilizados: o método de Wickerham em tubos com meios líquidos, auxanograma em placas com ágar base nitrogenado e o método de réplica em placas.

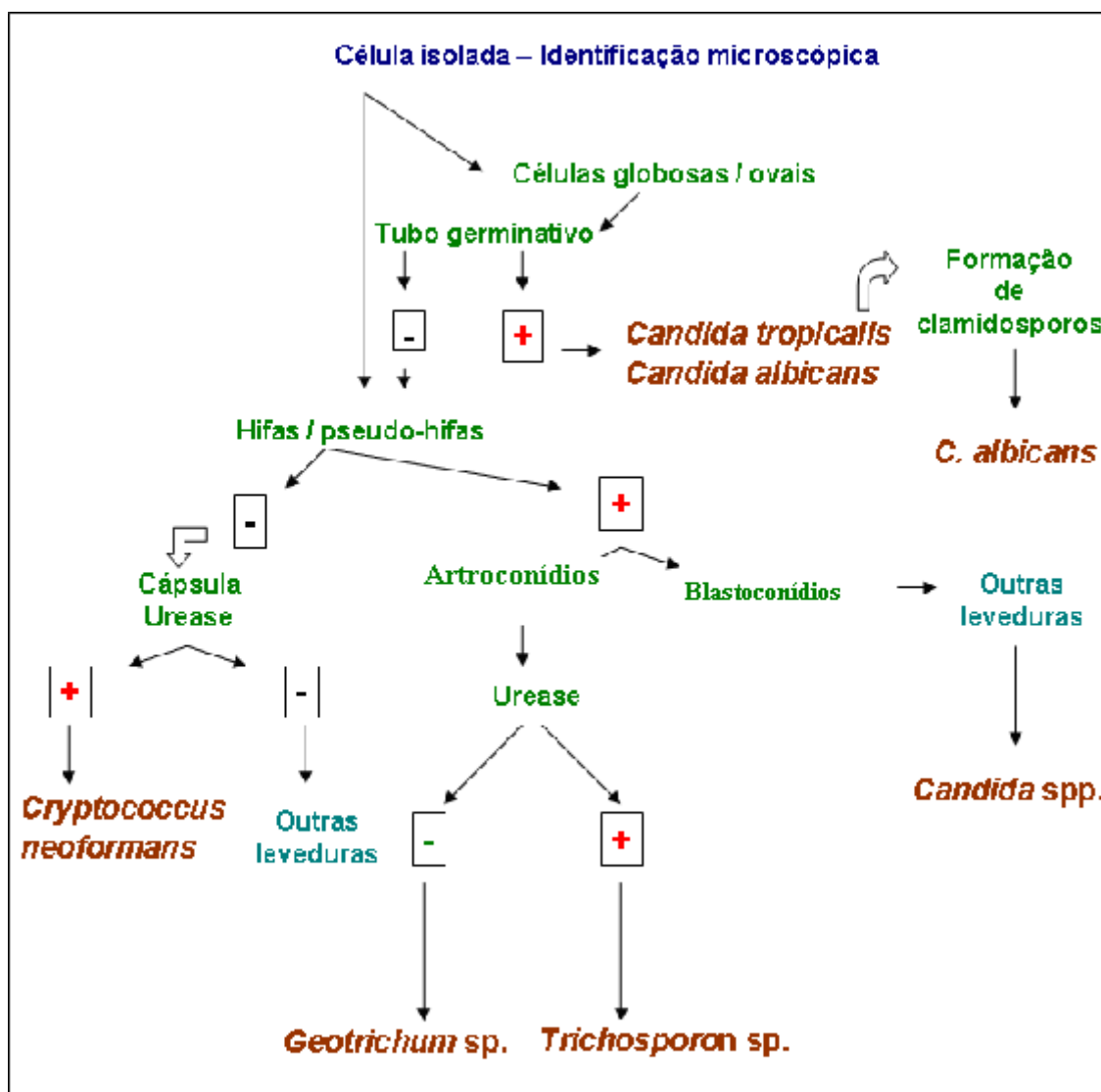
#### **C)- Assimilação de Fontes de Nitrogênio**

Determinados compostos nitrogenados como nitrato de potássio, nitrato de sódio, lisina, creatinina, amins alifáticas e alguns aminoácidos são seletivamente utilizados por diferentes leveduras, característica importante na sua identificação.

### **1.4 Teste Fisiológico**

As leveduras crescem numa ampla faixa de variação térmica (0°C a 47°C) e o teste de temperatura contribui para a identificação de algumas espécies. É avaliado a capacidade de crescimento das leveduras e fungos leveduriformes nas temperaturas de 37°C, 40°C e 42°C. As espécies patogênicas crescem favoravelmente entre 30°C e 37°C, sendo o crescimento a 37°C bem característico. O teste é realizado com a utilização do meio caldo Sabouraud.

## ETAPAS PARA DIAGNÓSTICO DE LEVEDURAS



### H.2 - *Cryptococcus*

**Trasmissão:** A transmissão se dá via inalatória, onde o pulmão é o local primário da infecção. É isolado de excretas e restos de poleiros de pombos.

**Cultivo:** O organismo cresce bem em diversos meios (2 a 6 dias a 37°C), mas é inibido pela cicloheximida. A identificação é baseada na presença de uma cápsula, produção da enzima urease e outras reações bioquímicas específicas. A pesquisa da fenilxoidase com ácido cafeico pode ser um teste útil para a diferenciação de *Cryptococcus* de *Candida*.

O gênero *Cryptococcus* é composto por várias espécies, entretanto, apenas *Cryptococcus neoformans* é capaz de crescer na temperatura de 37°C. O meio Canavanina glicina azul de bromotimol (Meio CGB), é útil para tipagem das cepas de *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* e *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*. A

variedade *gatti* utiliza o ácido málico, fumárico e o succínico como única fonte de carbono, contrariamente ao que se observa com a outra variedade. A variedade *neoformans* é extremamente sensível à glicina, não crescendo na presença desta; assim, no Meio CGB, observamos o crescimento da variedade *gattii*, através da viragem do indicador de pH para azul cobalto, demonstrando sua resistência à glicina presente no meio.

**Sorologia:** Ao contrário das outras micoses sistêmicas, os procedimentos sorológicos usados no diagnóstico da criptococose baseiam-se na detecção do antígeno, não do anticorpo. O teste de aglutinação do látex para detecção do antígeno polissacarídico criptocócico no líquido e/ou soro é muito usado também para avaliação do tratamento e prognóstico.

### **H.3 - *Malassezia***

**Transmissão:** Não ocorre em condições normais. Esta levedura pode ser isolada de diversas regiões do corpo.

**Cultivo:** *Malassezia pachydermatis* (espécie não lipodependente) é cultivada em meio de Sabouraud, Sabouraud com BHI, Sabouraud com cloranfenicol e também com ciclohexamida (em concentração baixa, pois em altas concentrações observou-se resistência), Agar glicosado acrescido de Tween 80 a 1%, associado a extrato de levedura a 1,5%. O crescimento das colônias é possível em temperaturas de 25° a 41°C, sendo a temperatura ótima de 37°C em cerca de 24 a 48 horas.

Existem outras espécies de *Malassezia*, as quais são lipodependentes como : *M. sympodialis*, *M. slooffiae*, *M. Globosa* e *M. restricta* entre outras.

#### **I) *Pythium insidiosum***

**Transmissão:** a fonte de infecção são os zoósporos ambientais, não havendo relatos de transmissão direta entre os animais ou entre animais e humanos. Comumente, observa-se que os animais afetados permanecem por longos períodos em contato com águas paradas em lagos, açudes ou locais pantanosos. Provavelmente, altas temperaturas e precipitação pluviométrica mantêm as condições necessárias para reprodução do *Pythium insidiosum*.

**Cultivo:** Embora o isolamento e identificação de *Pythium insidiosum* constituam uma importante ferramenta para o diagnóstico, em algumas ocasiões o isolamento não ocorre e a identificação das espécies de *Pythium* não é uma tarefa fácil, pois se baseia principalmente nas características morfológicas dos zoosporângios, zoósporos, oogônia e anterídio.

O sucesso no isolamento de *Pythium insidiosum* é alto quando amostras de biópsias, especialmente “kunkers” no caso de eqüinos, forem armazenadas ou transportadas à temperatura ambiente, com o acréscimo de antibióticos, entre 1 e 3 dias antes de seu processamento no laboratório. Quando o meio de transporte não contiver antibiótico, é melhor transportá-la a 4°C, embora alguns autores citem que a refrigeração pode resultar em morte do *P. insidiosum* na amostra.

Para o isolamento, alguns autores sugerem o uso de ágar V8, acrescido de estreptomicina (200µg/mL) e ampicilina (100µg/mL). Entretanto, meios de cultivo como agar Sabouraud dextrose, caldo Sabouraud, agar sangue, agar infusão-cérebro-coração (BHI) e agar farinha de milho (CMA) também podem ser utilizados. Pedacos pequenos de tecido fresco, previamente lavados em solução salina ou água destilada estéril, são distribuídos diretamente na superfície do agar, devendo ficar incubado a 37°C, por 24 – 48 horas. A identificação é realizada através do aspecto da colônia e da característica das hifas. Em agar V8, sabouraud dextrose ou CMA, as colônias apresentam-se submersas no agar, com curto micélio aéreo, apresentando coloração branca ou hialina. Microscopicamente, observam-se hifas hialinas, cenocíticas com 4-10 µm de diâmetro, ocasionalmente septadas, apresentando ramificações em ângulo reto. A produção de zoosporângios e zoósporos deve ser observada para identificação final de *Pythium insidiosum*. Para obtenção de zoósporos “in vitro”, pedacos de folhas de grama previamente esterilizados, são distribuídos sobre cultivos de *P. insidiosum* em agar água a 2% e incubados a 37°C por 24 horas. Posteriormente, os pedacos de folhas infectados são transferidos para uma solução de sais minerais diluída a 1%. Cerca de 2-4 horas de incubação a 37°C, zoosporângios contendo zoósporos móveis são observados nos bordos terminais das folhas. Os zoósporos têm forma reniforme e apresentam um flagelo anterior (que gera o impulso) e um flagelo posterior (responsável pela direção) originados de um sulco ventral ou lateral. Uma vez liberados das vesículas, nadam em movimentos espirais ou helicoidais em diferentes direções, por aproximadamente 15 minutos. Após esse período, se encistam tornando-se globosos e emitem tubo germinativo.

Mesmo sendo possível a correta caracterização de *Pythium insidiosum* através destes métodos, a identificação precoce da doença torna-se difícil. Atualmente, o desenvolvimento de técnicas de imunohistoquímica, sorológicas e moleculares auxilia e suporta um diagnóstico precoce e seguro. Já foram desenvolvidas técnicas de imunodifusão em gel de agar (ID), fixação do complemento (FC) e um teste de

hipersensibilidade intradérmica (TI), para diagnosticar e avaliar a resposta imune humoral e celular de cavalos com pitiose.

## 5. HISTOPATOLOGIA

### Colorações Histopatológicas úteis no diagnóstico micológico

| Coloração                                   | Utilidade   |
|---|---|
| Hematoxilina & eosina<br>cora muitos fungos | Permite o estudo da resposta tecidual; permite a visualização da cor natural dos elementos fúngicos; demonstra o fenômeno de Splendore-Hoeppli  |
| Prata (Grocott)                             | Corá todos os fungos, incluídos os não viáveis; é a principal técnica diagnóstica para <i>P. jirovecii</i> ; cora filamentos actinomicéticos ( <i>Nocardia</i> , <i>Actinomyces</i> ) |
| Mucicarmin de Mayer                         | Corá <i>Rhodococcus</i> da maioria dos fungos com igual tamanho e forma.  |
| Gram (Brow & Brenn)                         | Demonstra agentes de actinomicose, nocardiose, rodococose e botriomicose, além de outras bacterioses  |
| Kinyoun                                     | Evidencia a ácido-resistência de <i>Mycobacterium</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Rhodococcus</i> , <i>Legionella micdadei</i>   |
| Fontana - Masson                            | Evidencia melanina na parede de hifas jovens dos agentes de feohifomicose   |

### 5.1 IDENTIFICAÇÃO ETIOLÓGICA ATRAVÉS DA HISTOPATOLOGIA

Geralmente é possível reconhecer os elementos fúngicos leveduriformes pelo tamanho, micromorfologia, modo de gemação e pela presença ou ausência de pseudohifas e hifas. Em determinadas micoses, candidose e aspergilose, os aspectos dos elementos fúngicos nos tecidos fúngicos só permitem o diagnóstico do gênero. Na aspergilose a visualização da frutificação aspergilar, permite o reconhecimento *do A. fumigatus*, *A. niger*, *A. flavus* e *A. nidulans*. A presença no tecido de hifas hialinas, ramificadas, regularmente septadas tanto pode indicar aspergilose ou hialohifomicose. As feohifomicoses, cromomicoses, zigomicoses, e bola fúngica são termos que agrupam micoses causadas por diferentes gêneros fúngicos e que a histopatologia não tem possibilidade de fornecer diagnóstico etiológico associado a algum genero.



## Fungos e Actinomicetos identificados por Imunofluorescência

|                                    |                                      |
|------------------------------------|--------------------------------------|
| <i>Actinomyces israelii</i>        | <i>Cryptococcus</i> sp.              |
| <i>A. naeshlundii</i>              | <i>Histoplasma capsulatum</i> ***    |
| <i>A. viscosus</i>                 | <i>Pseudallescheria boydii</i>       |
| <i>Aspergillus</i> spp.*           | <i>Propionibacterium propionicum</i> |
| <i>Blastomyces dermatitidis</i> ** | <i>Protheca wickerhamii</i>          |
| <i>Candida</i> spp.*               | <i>P. zopfii</i>                     |
| <i>Coccidioides immitis</i> **     | <i>Sporothrix schenckii</i> **       |

\* Identificação de gênero, \*\* Forma tecidual, \*\*\* Forma tecidual das duas variedades.

## Aspectos Ocupacionais das Micoses em Humanos

| Micose            | Atividade   |
|-------------------|---|
| Aspergilose       | Contato com grãos de cereais, ambientes de muito pó, construções, demolições  |
| Candidose cutânea | Cozinheira, enfermeira, lavadeira   |
| Coccidioidomicose | Agricultura, solo árido; arqueologista; antropologista; paleontologista; zoologista; militares; técnico de laboratório de microbiologia |
| Criptococose      | Contato com fezes de pombas e eucaliptos  |
| Cromomicose       | Agricultura   |
| Esporotricose     | Jardineiro, florista, horti e agricultores, Vets.   |

## Agentes Etiológicos (fungos dimórficos) das Micoses Sistêmicas

| Micose                | Agente etiológico                                       |          |   |   |
|-----------------------|---|----------|---|---|
|                       | Nome  | Tamanho  | Forma                                     | Tropismo tecidual                               |
| Blastomicose          | <i>Blastomyces dermatitidis</i>                         | 8-15 µm  | Esférico brotamento com base larga        | Pulmão, pele e ossos                            |
| Coccidioidomicose     | <i>Coccidioides immitis</i>                             | 30-60 µm | Esférula com endosporos                   | Pulmão, ossos, pele, linfonodos, e S.N.C., etc. |
| Histoplasmose         | <i>Histoplasma capsulatum</i><br>var. <i>capsulatum</i> | 2-5 µm   | Oval, unibrotante com base estreita       | Pulmão, fígado, linfonodos, baço, etc.          |
|                       | <i>Histoplasma capsulatum</i><br>var. <i>duboisii</i>   | 10-15 µm | Oval, brotamento único ou em cadeia curta | Pele, linfonodos, ossos..                       |
| Paracoccidioidomicose | <i>P.brasiliensis</i>                                   | 5-20 µm  | Polimórfico, multibrotante                | Pulmão, áreas mucocutânea,..                    |

## 6. SOROMICOLOGIA

### 6.1 Reação de imunodifusão radial dupla

A imunodifusão é um exame que se realiza a partir das reações antígeno-anticorpo dos fungos. O resultado do teste ID positivo varia de acordo com a fonte, tipo e concentração do reagente, duração e condição do desenvolvimento e procedimento da coloração.

A ID para diagnosticar a histoplasmose é qualitativa e é reconhecida como positiva ou negativa, em relação a linha H e M. Anticorpo anti M desenvolve no soro de pacientes com infecção aguda ou crônica e na proporção de indivíduos sensibilizados após teste cutâneo com histoplasmina. A linha anti H precipitinas aparece depois e está presente no soro de paciente com histoplasmose ativa. Linhas H usualmente coexistem com linha M.

A aspergilose inclui as doenças: Aspergilose broncopulmonar alérgica (ABPA), Colonização intracavitária aspergilar (CIPA), Bola fúngica, “Aspergiloma”, AI. A ID é positiva em alta proporção (70%) de pacientes com ABPA e AI. Soro de pacientes com ABPA raramente apresenta reação forte ao teste ID, durante a fase aguda da doença. Paciente com aspergilose invasiva raramente contém níveis altos de precipitinas e as reações são traços ou fraca. Quando se suspeita desta condição faz-se ELISA.

Teste ID positivo para *Candida* ou *Aspergillus* simplesmente indica que o paciente foi exposto a *Candida* ou *Aspergillus* respectivamente, e formou anticorpo como resultado. Deve ser interpretado junto com a clínica e achados de laboratório.

### 6.2 Reação de aglutinação pelo látex para criptococose

É o sistema de aglutinação do látex para a detecção de antígenos polissacarídeos capsulares do *Cryptococcus*. O teste é baseado no princípio de que partículas de látex, sensibilizadas com altos títulos de globulina purificada na presença de antígenos polissacarídeos criptocócicos, irão aglutinar com amostras contendo antígenos capsulares criptocócicos apropriados. Os antígenos polissacarídeos do *Cryptococcus* estão presentes no soro de pacientes com criptococose pulmonar e presente no LCR de pacientes com envolvimento do sistema nervoso central. O teste detecta estes antígenos qualitativa e semi-quantitativamente (titulação).

### Esquema para o diagnóstico soromicológico

| Micose                | Amostra         | Sorologia   |
|-----------------------|-----------------|---|
| Aspergilose           | Soro, liquor    | Imunodifusão para <i>Aspergillus</i><br>( <i>flavus, fumigatus, niger</i> ) |
| Histoplasmose         | Soro, liquor    | Imunodifusão <i>H. capsulatum</i>   |
| Paracoccidioidomicose | Soro            | Imunodifusão <i>P. brasiliensis</i>   |
| Criptococose          | Soro,urina,liq. | Látex para <i>C. neoformans</i>   |

## 7. IDENTIFICAÇÃO LABORATORIAL DOS DERMATÓFITOS

### 7.1 EXAME DIRETO:

1. O diagnóstico das dermatofitoses pode ser prontamente realizado em montagens microscópicas das amostras de pele, pêlos e unhas com KOH.
2. O tipo e a morfologia da hifa permite que estes fungos sejam facilmente diferenciados dos outros agentes de micoses cutâneas. A) Na pele ou escamas: as hifas jovens aparecem nas escamas epidérmicas como filamentos ramificados. As hifas “velhas” apresentam muitos septos que, eventualmente se fragmentam, formando estruturas arredondadas ou em forma de barril (podem se assemelhar aos artroconídios). B) Nos pêlos: na raiz do pêlo, observa-se a posição dos artroconídios em relação à estrutura pilar. Os artroconídios podem apresentar-se fora do pêlo e dispostos em cadeia ou em mosaico (padrão ectotrix: interesse para animais) ou intrapilarmente, ocupando a medula do pêlo (padrão endotrix: interesse para humanos).
3. Em todos os tipos de espécimes, as hifas devem ser diferenciadas de alguns artefatos que podem ser muito semelhantes ao micélio dos dermatófitos. Esses artefatos incluem: fibras de algodão, materiais sintéticos, grãos de amido, gotas de gordura, detritos vegetais e o “mosaico” fúngico que são cristais de colesterol depositados em torno das células epidérmicas queratinizadas, formando redes que podem estar próximas ou misturadas às hifas.
4. A identificação específica do agente só pode ser feita pelo estudo dos macro e microconídios obtidos pela cultura dos espécimens clínicos. Contudo, algumas indicações da espécie envolvida podem se obtidas quando existem pêlos

infectados. Para tanto, os arranjos dos arthroconídios no pêlo e a presença ou ausência de fluorescência sob luz ultravioleta devem ser considerados.

### Parasitismo pilar e dermatófitos que atacam animais

| Montagem direta em KOH  | Fungo   |
|---|---|
| Ectotrix  |   |
| Arthroconídios pequenos com 2-3µm, em massa mosaica na superfície externa do pêlo                         | <i>Microsporum canis</i>  |
| Arthroconídios pequenos com 3-5µm, formando uma bainha ou cadeias isoladas na superfície externa do pêlo. | <i>M. praecox</i> (raro)<br><i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>mentagrophytes</i> |
| Arthroconídios grandes 5-8µm, formando uma bainha ou cadeias isoladas na superfície externa do pêlo.      | <i>T. equinum</i><br><i>T. megninii</i>   |
| Arthroconídios grandes com 8-10 µm, formando uma bainha ou cadeias na superfície externa do pêlo          | <i>T. rubrum</i> (raro)<br><i>T. verrucosum</i>   |

### 7.2 CULTIVO:

1. Tanto o exame microscópio direto positivo quanto o negativo devem ser seguidos de cultura dos espécimes clínicos. É essencial isolar os dermatófitos, pois o exame direto não permite a identificação das espécies e o prognóstico e/ou a instituição de terapia medicamentosa podem depender da espécie envolvida.
2. O meio de seleção para o isolamento primário dos dermatófitos é o Agar “Mycosel” ou “Micobiótico”.
3. A incubação deve ser feita a 25°C. Todavia, algumas espécies, tais como *T. verrucosum*, crescem melhor a 37 °C. Nesta temperatura a maioria dos dermatófitos é inibida.
4. A taxa de crescimento é relativamente demorada, levando, em geral, de 5-10 dias a 3 semanas para atingir a maturidade.
5. As culturas devem ser observadas diariamente para evidenciar o crescimento. Quando o crescimento se torna aparente, fragmentos de cultura primária devem ser retirados e montados em lactofenol com azul de algodão (LPCB ou Azul de Aman), para a observação microscópica. Algumas vezes esse procedimento

permite a identificação imediata do dermatófito, reduzindo o tempo de identificação. Em outras situações é necessária a realização de subcultivos em meios especiais (com diferentes requerimentos nutricionais).

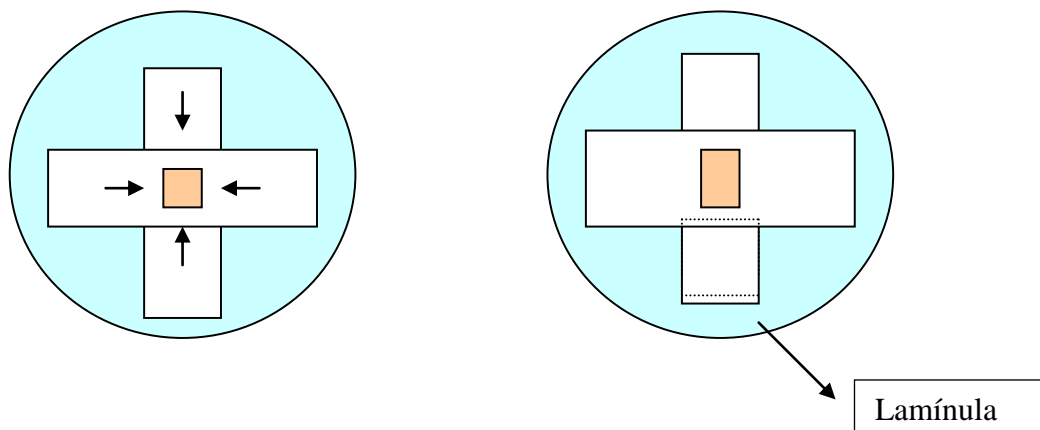
A melhor maneira de se observar a disposição característica das estruturas fúngicas é através da técnica do subcultivo em lâmina (Técnica de Riedel).

### 7.3 SUBCULTIVO EM LÂMINA

Nesta técnica as estruturas devem permanecer íntegras e o meio utilizado pode ser, preferencialmente Agar Batata ou Agar Lactrimel (meio de Borelli).

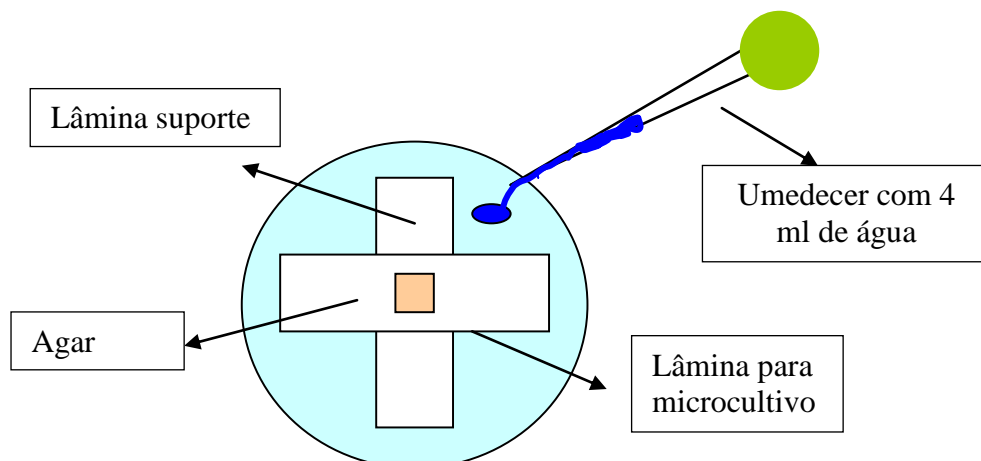
Esterilizar placas de Petri com uma lâmina no interior, papel de filtro e lamínula.

Colocar o meio de agar em placa. Deixar solidificar.



Com a alça em L, destacar porções bem pequenas da colônia e colocar nos quatro lados do pedaço de agar.

Cobrir com lamínula esterilizada, pressionando levemente.



Colocar um pouco de água destilada esterilizada no fundo da placa esterilizada, repor a água esterilizada, sempre que necessário. Deixar por 10-15 dias, dependendo da velocidade de crescimento do fungo.

Para montar, retirar a lamínula com pinça estéril. Fixar o fungo na lamínula colocando 1 a 2 gotas de álcool e esperar secar. Montar essa lamínula em uma lâmina limpa, com uma gota de lactofenol azul-algodão.

A lamínula pode ser vedada com esmalte de unha ou Bálsamo do Canadá para conservar por mais tempo.

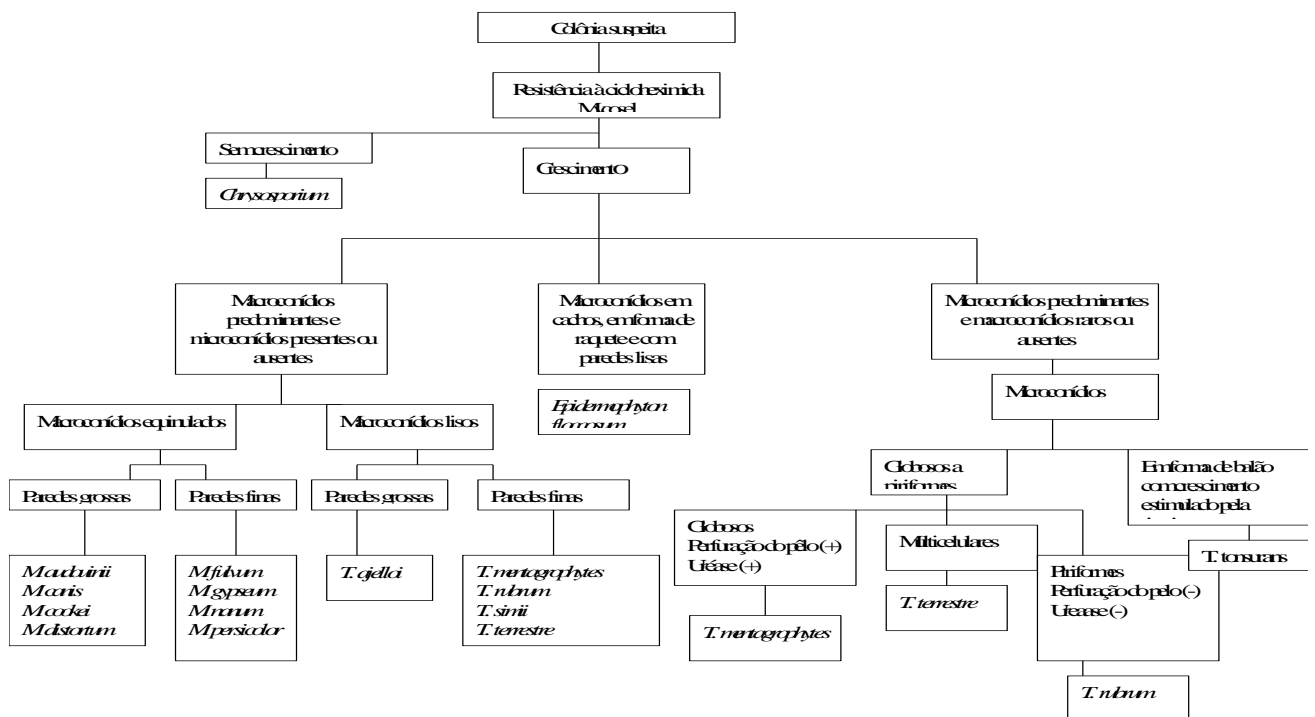
#### **7.4 Macro e micromorfologia**

1. Os aspectos macroscópicos que devem ser levados em conta são a taxa de crescimento, a textura e a coloração das culturas.
2. Formas de crescimento lento produzem colônias glabrasas, cerosas ou consistentes (*T. verrucosum*). As formas de crescimento rápido podem apresentar colônias planas, sedosas ou fibrosas (*M. canis*) e colônias planas e pulverulentas devido a produção de grande quantidade de conídeos (*M. gypseum* e *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes*).
3. A cor é importante. Pigmentos característicos podem ser produzidos por conídeos na superfície da colônia; ex: creme em *T. mentagrophytes*. Pigmentos podem também ser vistos no reverso da colônia difundindo-se no meio (vermelho em *T. rubrum* e amarelo limão em *M. canis*).
4. Colônias mantidas muito tempo no mesmo meio de cultivo produzem mutações (pleomorfismos) caracterizadas pela presença de tufo branco estéril que dão um aspecto extremamente algodinoso e que surgem inicialmente em pontos isolados e rapidamente tornam-se confluentes, tomando toda a colônia.
5. Os dermatófitos produzem uma série de estruturas microscópicas características que são fundamentais para a sua identificação, a saber:
  - Macroconídios: são fundamentais para a identificação do gênero *Microsporum*. Além de sua forma e tamanho, devem ser consideradas a espessura da parede (espessas em *M. canis* e delgadas em *M. gypseum*) e a presença ou ausência de tubérculos (predominantes em *M. canis*, ocasionais em *M. persicolor* e ausentes nas espécies de *Trichophyton*).
  - Microconídios: variam em sua forma e arranjo na hifa e também em seu número. No *T. mentagrophytes* são numerosos e arranjos em cachos

ou ao longo da hifa, ao passo que no *T. rubrum* são poucos, ovais e posicionados lateralmente na hifa. Nas espécies de *Microsporum*, os microconídios estão em bem menor quantidade e no *Epidermophyton floccosum*, totalmente ausentes.

- Clamidoconídios: são grandes corpos esféricos com paredes espessas e formados a partir de uma dilatação da hifa em posição terminal ou intercalar. Eles são particularmente comuns em culturas velhas, mas podem ser vistos especialmente em culturas jovens de *E. floccosum* e *T. tonsurans* e também naquelas espécies que têm colônias glabrasas.
- Outras estruturas hifálicas: hifas em espiral (frequentes em *T. mentagrophytes*); hifas em raquete (segmentos de hifas que se dilatam na extremidade); corpos pectinados (projeções laterais em forma de pente). Dessas, pelo menos duas estruturas podem ser vistas em espécies de *Microsporum*.

**CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS PARA A IDENTIFICAÇÃO DOS DERMATÓFITOS**



A maioria dos dermatófitos pode ser identificada apenas pelo estudo de suas macro e micromorfologias. Contudo, existem alguns poucos testes fisiológicos que podem ser empregados para a confirmação do diagnóstico. Estes testes também podem fornecer

informações adicionais importantes quando o isolado é morfologicamente atípico e sua identidade não pode ser estabelecida.

## 7.5 Testes Fisiológicos

### 7.5.1 Perfuração Do Fio De Cabelo “In Vitro”

O teste é usado para diferenciar o *T. mentagrophytes* e o *T. rubrum*.

### 7.5.2 Produção de Urease

Muitos dermatófitos possuem capacidade de hidrolisar a uréia. Assim, um teste demonstrando sua produção, pode ser empregado para diferenciação das espécies.

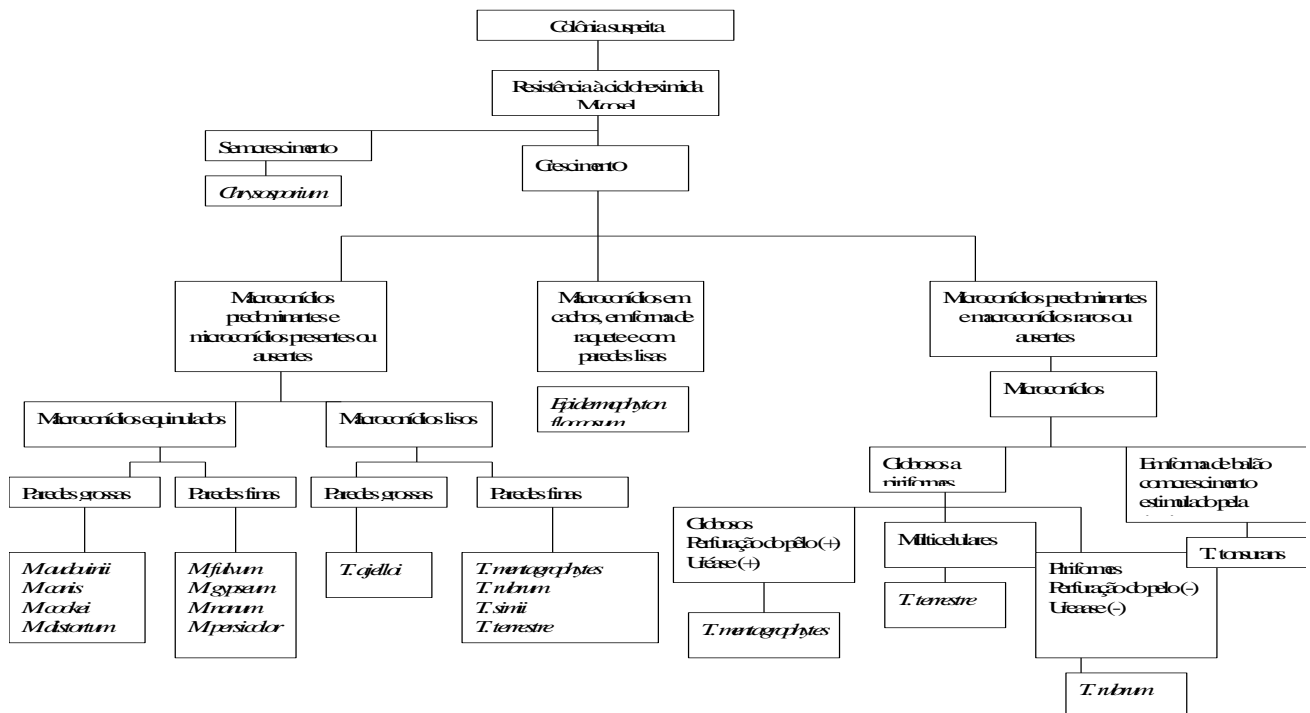
### 7.5.3 Crescimento em Arroz

As espécies de *Microsporum* variam em sua habilidade de crescer em arroz e a diferenciação entre *M. Audouinii* e *M. Canis* pode ser feita desse modo. Esse meio também irá encorajar a formação de típicos macroconídios em culturas com pouca conidiogênese.

### 7.5.4 Produção de Pigmentos

A capacidade dos dermatófitos em produzir pigmentos, quando estão crescendo em determinados meios de cultura (PDA, Agar Fubá com 1% de glicose ou Agar peptona 1%), no período de 1 ou 2 semanas, é uma característica de algumas espécies, e pode ser usada como um critério para a identificação.

#### CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS PARA A IDENTIFICAÇÃO DOS DERMATÓFITOS





## 7.6 Requerimento Nutricional

Vários dermatófitos requerem tiamina, inositol, histidina e ácidos orgânicos para o seu crescimento. Para o teste nutricional, o agar ácido casamínico vitamina-livre é usado como meio basal, no qual soluções de vitaminas são agregadas. Para o requerimento de aminoácidos, o Agar nitrato de amônia é o meio basal. Os meios para este teste estão disponíveis comercialmente na forma de meios desidratados. Uma série de sete agares “*Trichophyton*” é usada para a diferenciação das espécies, através de suas necessidades nutricionais. A incubação deve ser feita a 30°C por 7-14 dias. A leitura da prova é feita através da comparação do crescimento no meio basal e nos meios suplementados. Um fungo sem requerimento nutricional crescerá bem em ambos os meios. Por outro lado, aquele que exige determinado fator de crescimento se desenvolverá pobremente no meio basal e sem maiores problemas no meio suplementado com o nutriente requerido.

**Provas nutricionais para diferenciação das espécies de *Trichophyton***

| Agar<br><i>Trichophyton</i> |     | 1<br>Agar-<br>caseína | 2<br>Agar-<br>caseína<br>+<br>inositol | 3 Agar-<br>caseína<br>+<br>inositol<br>e<br>tiamina | 4<br>Agar-<br>caseína<br>+<br>tiamina | 5<br>Agar-<br>caseína +<br>ácido<br>nicotínico | 6<br>Agar-<br>nitrato<br>de<br>amônio | 7<br>Agar-<br>nitrato de<br>amônio +<br>histidina |  |
|-----------------------------|-----|-----------------------|--|---|---------------------------------------|--|---------------------------------------|---|--|
| <i>T. verrucosum</i>        | 84% | 0                     | ±                                      | 4+  | 0                                     | -  | -                                     | -   |  |
|                             | 16% | 0                     | 0                                      | 4+  | 0                                     | -  | -                                     | -   |  |
| <i>T. schoenleinii</i>      |     | 4+                    | 4+                                     | 4+  | 4+                                    | -  | -                                     | -   |  |
| <i>T. concentricum</i>      | 50% | 4+                    | 4+                                     | 4+  | 4+                                    | -  | -                                     | -   |  |
|                             | 50% | 2+                    | 2+                                     | 4+  | 4+                                    | -  | -                                     | -   |  |
| <i>T. violaceum</i>         |     | ±ou 1+                | -                                      | -   | 4+                                    | -  | -                                     | -   |  |
| <i>T. tonsurans</i>         |     | ±ou 1+                | -                                      | -   | 4+                                    | -  | -                                     | -   |  |
| <i>T. rubrum</i>            |     | 4+                    | -                                      | -   | 4+                                    | -  | -                                     | -   |  |
| <i>T. mentagrophytes</i>    |     | 4+                    | -                                      | -   | 4+                                    | 4+   | -                                     | -   |  |
| <i>T. equinum</i>           |     | 0                     | -                                      | -   | -                                     | 4+   | -                                     | -   |  |
| <i>T. megninii</i>          |     | -                     | -                                      | -   | -                                     | -  | 0                                     | 4+  |  |
| <i>T. terrestre</i>         |     | 4+                    | -                                      | -   | 4+                                    | -  | -                                     | -   |  |

## REFERÊNCIAS

- Atlas de Micologia. Diagnóstico Laboratorial das Micoses Superficiais e Profundas. 1995. Clarisse Zaitz. Ed. Medsi, 155 p.
- Diagnóstico em cores Micologia Médica. 1998. Gillian Midgley, Yvonne M. Clayton, Roderick J. Hay. Ed. Manole Ltda, S.P., 155p.
- Fundamentos Clínicos e Laboratoriais da Micologia Médica. 1999. José Júlio Costa Sidrim & José Luciano Bezerra Moreira. Guanabara Koogan, S.P., 287p.
- Les Mycoses. Patrice Bourée. 1993. Pfizer, Paris, 106 p.
- Micologia Médica-Texto & Atlas. 1999. Martha E. Kern & Kathleen S. Blevins. Editorial Premier S.P., 256 p.
- Micologia Veterinária. 1985. Luiz Celso Hygino da Cruz. Imprensa Universitária, R.J., 202p.
- Microbiologia Médica. 1990. Patrick R. Murray, W. Lawrence Drew, George S. Kobayashi, John H. Thompson. Ed. Guanabara Koogan, S.P., pp.215-250.

## 10. HELMINTOLOGIA: DIAGNÓSTICO E INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS PARASITOLÓGICOS

*Mary Jane Tweedie de Mattos  
Rita Pato Hoffmann*

### 1. Introdução

As helmintoses tem assumido importante papel na sanidade animal, tendo em vista as perdas econômicas evidenciadas seja pelo óbito de animais, como diminuição do ganho de peso, além das diarréias e interferência na reprodução.

O diagnóstico inicia pela história clínica e através de exames complementares é estabelecido. Assim, para que os exames sejam adequadamente conduzidos são necessárias seguir alguns critérios desde a coleta e conservação da amostra. Acrescido a isto, devem ser observados os prazos entre as coletas e o processamento das amostras. A interpretação dos exames laboratoriais mais utilizados na rotina em Medicina Veterinária, frente a casos clínicos, devem ser correlacionada com os sinais clínicos, dados epidemiológicos da propriedade, conhecimento prévio do ciclo biológico dos helmintos, postura das fêmeas, patogenicidade dos helmintos e estado nutricional dos animais, tratamentos já utilizados, idade dos animais.

### 2. Métodos de pesquisa de parasitos

O profissional deve ter conhecimento das técnicas laboratoriais de diagnóstico, bem como saber selecionar as mais apropriadas para que o diagnóstico seja correto. Os diferentes exames parasitológicos são realizados conforme a localização de cada agente parasitológico:

- Exame de fezes
- Exame de urina
- Exame do muco nasal
- Sangue
- Biopsia
- Necropsia
- Recuperação de larvas nas pastagens

### 3. Coleta de amostras para análise laboratorial

Cada amostra deve estar devidamente identificada com o nome da espécie animal, lote ou categoria a que pertence, raça, idade, nome do proprietário, endereço, telefone, exame solicitado, data e horário da coleta, data da última medicação anti-helmintica e qual o produto utilizado. Deve ser acompanhado da história clínica.

### 3.1. Coleta de fezes, identificação e conservação

As amostras de fezes devem ser colhidas a fresco e não fiquem expostas ao sol, pois os ovos podem evoluir e desidratar, prejudicando o diagnóstico. Em pequenos animais deve ser realizada imediatamente após a defecação, retirando a porção que não ficou em contato com o solo (quantidade =10 a 20 g). Em grandes animais coleta-se diretamente do reto, usando um saco plástico como luva e depois inverte o saco (Figura 1). A coleta deve ser individual, sendo indicado coletar 10-15 amostras por potreiro/campo e por faixa etária. É importante que as amostras sejam colocadas em recipientes apropriados, como frascos( limpos e secos, de boca larga e com tampa) ou sacos plásticos.

As amostras de fezes devem ser mantidas em refrigeração logo após a coleta (2°C a 8°C) ou em líquidos conservantes (formalina 5 a 10%, líquido de Railliet, Henry, solução de MIF = mertiolate, iodo e formalina). No transporte das amostras utiliza-se caixas isopor com gelo. No caso de conservação em líquidos conservadores não é necessário enviar em caixa com gelo. Nunca congelar as amostras de fezes.



Figura 1. Coleta de fezes para análises helmintológicas em bovinos

### 3.2. Coleta de sangue

As amostras de sangue podem ser coletadas através de esfregaços sangüíneos ou de sangue total. Em cães cuja suspeita clínica é dirofilariose, o sangue deve ser coletado a tardinha ou nas primeiras horas do dia, período que as microfíliarias estão presente na circulação periférica. A coleta de sangue em grandes animais é pela punção da: veia jugular, coccígea média ou mamária. Em pequenos animais: veia jugular, safena lateral e medial,cefálica, femural

### 3.3. Coleta de urina

As amostras de urina são obtidas pela punção direta da bexiga, micção espontânea ou cateterismo. O volume é de 5 a 10 mL. A urina deve ser recente, no máximo, 6 horas após a eliminação. Se o exame não puder ser realizado no mesmo dia, utiliza-se formol 40%, ácido bórico (0,30 g) ou tulol (1 mL) para cada 120 mL de urina.

### **3.4. Recuperação de larvas nas pastagens**

As larvas infectantes presentes na pastagem indicam o nível de contaminação do campo/potreiro. A coleta de amostras de pastagem deve ser realizada, no máximo, até as 10 horas da manhã. Deve-se coletar sub-amostras (200 g) de cada substrato e imediatamente enviadas ao Laboratório.

### **3.5. Coleta de helmintos adultos**

Separar as vísceras através da utilização de cordão, identificar e acondicionar em sacos de polietileno com formol a 5%, acompanhado de uma ficha com o histórico do animal.

## **4. Exame de fezes**

### **4.1. Exame físico (macroscópico)**

No laboratório, o exame macroscópico das amostras de fezes pode ser feito por simples observação ou tamisação. Nos cães é possível visualizar proglotes de *D. caninum* na amostra remetida ao laboratório, e se não for utilizada aquela porção para a realização do exame, é comum não serem visualizados os ovos deste cestódeo. Isto implicaria em um diagnóstico falso negativo.

O mesmo ocorre em ruminantes parasitados por *Moniezia* spp. Muitas vezes são visualizados os proglotes e na avaliação microscópica os ovos não são observados. O conhecimento da consistência e forma das fezes dos animais, pode indicar se o animal está com alguma alteração. Nos carnívoros as fezes são cilíndricas, nos eqüinos são de forma arredondada e nos bovinos são de forma pastosa. Já os ovinos e caprinos têm as fezes em forma de pequenas bolas, semelhantes a caroço de azeitona.

No caso de uma ancilostomose observa-se que as fezes dos cães ficam escuras e de odor fétido. Já nos ovinos e caprinos as fezes ficam endurecidas, ressequidas quando estão com hemonose.

### **4.2. Exame microscópico**

O exame microscópico de fezes deve ser realizado através de um conjunto de métodos que determinam maior fidelidade o seu resultado. A execução de um único método, na rotina de laboratório, não revela a realidade do parasitismo do hospedeiro. O exame microscópico dá uma visão do aspecto qualitativo ou quantitativo do parasitismo.

#### **4.2.1. Métodos qualitativos**

##### **Metodos diretos**

Quando realizados imediatamente após a coleta das fezes. Podem ser realizados:

a) a fresco

b) após coloração (Iodo, Hematoxilina, Giemsa, Eosina )

c) ou após concentração das fezes:

- Técnica de flutuação: Métodos simples, Willis-Mollay, Sheather modificado, Faust
- Técnica de sedimentação: Métodos simples ou natural, Dennis, Stones & Swanson modificado, Baermann modificado, Tubo cônico de concentração, Ritchie, Eclosão.
- Técnica da aderência: Método de Graham modificado

Estes métodos são simples e rápidos e servem para a visualização direta do material sem concentração. São indicados na rotina clínica, em casos de infecções muito altas em que o animal já está apresentando sinais clínicos. Em caso de infecções leves dificilmente serão observados ovos de helmintos através destes métodos. Apesar dos métodos não serem muito precisos, todo processamento de material deverá começar por eles, pois possibilitam a visualização de outros resíduos não parasitos. Nos herbívoros, pela quantidade acentuada de fibras nas fezes não é um bom método.

#### **Método de Willis-Mollay (Flutuação)**

Este método se baseia no fato de que ovos são menos densos que as soluções supersaturadas usadas no processamento (cloreto de sódio, açúcar, sulfato de magnésio e sulfato de zinco), por isso flutuam e são recolhidos pela lâmina ou lamínula. Os detritos por serem mais densos e mais pesados se sedimentam. É um bom método para ovos de helmintos, principalmente para carnívoros e herbívoros.

#### **Método de Dennis-Stones & Swanson (Sedimentação)**

É usado para a pesquisa de ovos de trematódeos e cestódeos. O resultado será mais confiável quanto mais demorar a sedimentação.

#### **Método de Baermann**

É baseado na motilidade e no termotropismo das larvas. É específico para a verificação da presença de larvas de primeiro estágio de *Dictyocaulus*, *Muellerius* que são vermes pulmonares dos ruminantes. Também é indicado para a recuperação de larvas de *Aelurostrongylus*, ( parasito de gato) e *Strongyloides* (parasito intestinal de carnívoros). Nesse método é importante a utilização de fezes recentes e recolhidas diretamente no reto do animal para evitar tropismo das larvas de vida livre em direção as fezes.

### **Métodos indiretos**

São realizados quando as fezes estão fixadas ou conservadas em soluções especiais, devido a impossibilidade de um exame mediato.

#### **4.2.2. Métodos quantitativos:**

Tem como objetivo determinar a intensidade do parasitismo, apesar de não expressar a real infecção do hospedeiro. Os métodos são: Método de Stoll; Método de Gordon & Whitlock (McMaster); Método de Roberts & O'Sullivan e Método de Girão & Ueno (4 tamises).

#### **Método de Stoll**

Este método visa a contagem de ovos de helmintos. Indicado para exame coprológico de pequenos animais. Tem como princípio suspensão titulada de fezes em solução decinormal de soda cáustica

#### **Método de Gordon & Whitlock (Contagem de ovos ou OPG)**

É indicado para se verificar a infecção dos rebanhos. Usa-se o método da câmara de MacMaster na qual são contados os ovos de uma amostra de fezes de um certo rebanho. A interpretação do resultado deve ser realizada de maneira criteriosa, levando-se em conta a patogenicidade do gênero que está presente, assim recomenda-se que seja avaliado junto com o resultado da coprocultura. Os helmintos do gênero *Haemonchus* sugam sangue do hospedeiro, podendo haver uma perda diária de 250 mL de sangue quando o animal estiver parasitado por 5.000 exemplares, podendo levar a um anemia em um período curto de tempo.

O resultado da contagem de ovos por grama de fezes aliada a coprocultura indica se é necessário ou não a medicação anti-helmíntica. A interpretação deve ser realizada de maneira global, considerando o lote problema, histórico da utilização de anti-helmíntico e região de procedência dos animais. O aparecimento de ovos de Strongyloidea com identificação do gênero *Haemonchus*, deve ser aliado ao conhecimento do princípio ativo utilizado na propriedade, intervalo entre as medicações e principalmente o período entre a aplicação e o exame coprológico. No caso de períodos inferiores a 7-10 dias, pode-se suspeitar de resistência anti-parasitária. Neste momento, indica-se realizar um monitoramento da propriedade, utilizando os testes de avaliação anti-helmínticos. Os valores de números de ovos de Strongyloidea indicativos de necessidade de medicação depende da espécie animal:

|                  |                 |                  |
|------------------|-----------------|------------------|
| Bovinos= 300 opg | Ovinos= 500 opg | Equinos= 300 opg |
|------------------|-----------------|------------------|

### Método de Roberts & Sullivan (Coprocultura)

Este método é indicado para obtenção de larvas de nematódeos gastrintestinais. Baseia-se na identificação nas características das larvas infectantes, que são típicas para cada um dos gêneros.

### Método de Girão & Ueno (4 tamises)

Pesquisa de ovos de *Fasciola* e *Paramphistomum*. Baseia-se no princípio da lavagem, filtragem das fezes em tamises com telas metálicas de 100, 180, 200, 250 malhas polegada.

### Métodos de avaliação de anti-helmínticos

1) **Testes in vivo:** Teste de redução de OPG, Teste de eficácia anti-helmíntica controlada; Teste crítico

2) **Testes in vitro:** Teste de eclosão in vitro, Teste de motilidade larval in vitro, Teste de fixação de tubulina, Teste de desenvolvimento larval, Análise enzimática.

### Escolha do método de diagnóstico helmintológico

O médico veterinário seleciona a técnica de acordo com a suspeita clínica. Na Tabela 1 estão discriminadas as técnicas parasitológicas para a identificação de ovos, larvas de primeiro estágio e larvas infectantes e na Tabela 2 os métodos indicados conforme a suspeita clínica.

Tabela 1. Descrição dos objetivos das técnicas helmintológicas

|               |                            |  |
|---------------|----------------------------|--|
| Nematódeos    | ovos                       | a fresco<br>flutuação<br>sedimentação<br>contagem ovos (OPG) |
|               | larvas de primeiro estágio | sedimentação   |
|               | larvas infectantes         | coprocultura<br>recuperação pastagem                         |
|               | adultos                    | a fresco<br>necropsia<br>biopsia                             |
| Cestódeos     | ovos e segmentos           | a fresco<br>flutuação<br>sedimentação                        |
|               | adultos                    | necropsia  |
| Trematódeos   | ovos                       | a fresco<br>sedimentação                                     |
| Acantocéfalos | miracídeos                 | eclosão  |
|               | adultos                    | necropsia  |



## 5. Interpretação de resultados

A metodologia de diagnóstico laboratorial eleita deve ter alta qualidade de resultados, rapidez, maior sensibilidade e especificidade, baixo custo, eficiência na detecção ou monitoramento de doenças. Os resultados podem ser alterados dependendo de alguns fatores como tamanho inadequado e conservação da amostra, contaminação da amostra e utilização de anti-helmínticos.

Tabela 2. Indicações de métodos helmintológicos conforme a suspeita clínica

| Método \ Espécie        | Ruminantes  | Equinos  | Suínos  | Cães/Gatos   |
|-------------------------|---|--|---|--|
| Baermann                | <i>Dictyocaulu</i><br><i>Muellerius</i>   |  |   | <i>Strongyloides</i><br><i>Aelurostrongylus</i>                                |
| Gordon & Whitlock       | <i>Neascaris</i><br>Strongyloidea<br><i>Strongyloides</i><br><i>Moniezia</i><br><i>Trichuris</i><br><i>Nematodirus</i>                                  | Strongyloidea<br><i>Parascaris</i><br><i>Anoplocephala</i><br><i>Strongyloides</i> |   |  |
| Willis-Mollay           | <i>Neascaris</i><br>Strongyloidea<br><i>Strongyloides</i><br><i>Moniezia</i><br><i>Trichuris</i><br><i>Nematodirus</i>                                  | Strongyloidea<br><i>Parascaris</i><br><i>Anoplocephala</i><br><i>Strongyloides</i> | Strongyloidea<br><i>Ascaris</i><br><i>Strongyloides</i><br><i>Trichuris</i> | <i>Ancylostoma</i><br><i>Toxocara</i><br><i>Trichuris</i><br><i>Spirocerca</i> |
| Dennis-Stones & Swanson | <i>Fasciola</i><br><i>Paramphistomum</i><br><i>Eurytrema</i>  |  |   | <i>Dipylidium</i>  |
| Girão & Ueno            | <i>Fasciola</i><br><i>Paramphistomum</i>  |  |   |  |
| Roberts O`Sullivan      | <i>Trichostrongylus</i><br><i>Ostertagia</i><br><i>Haemonchus</i><br><i>Cooperia</i><br><i>Bunostomum</i><br><i>Oesophagostomum</i><br><i>Chabertia</i> |  |   |  |

## Referências

- HOFFMANN, R.P. **Diagnóstico de Parasitismo Veterinário**. Editora Sulina. 1987.156 p.
- MATTOS, M.J.T.de; HOFFMANN, R.P. **Diagnóstico Laboratorial em Helmitoses**. Gráfica de UFRGS.2007. 30 p.
- SLOSS, M.W.; ZAJAC, A; KEMP, R. **Parasitologia Clínica Veterinária**.Editora Manole Ltda.2003. 198p.
- UENO, H.; GUTIERRES, V.C. **Manual para o diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. JICA.1983. 176 p.

## 11. METODOLOGIA DA PESQUISA

*César Augusto M. Avancini  
José Maria Wiest  
Ana Vera Finardi Rodrigues*

### Introdução

Para a obtenção de título acadêmico de pós-graduação em ciência, além de cumprir determinado número de horas/aula cursando disciplinas, o candidato precisa elaborar um documento monográfico final cujas características variam de acordo com o nível de titulação e grau pretendido.

O documento monográfico, segundo Ferreira (1994), caracteriza-se pela abordagem do trabalho de investigação restrito a um único, ou um número delimitado de assuntos (tema), e a profundidade com a qual ele é elaborado depende de sua finalidade. Assim, denomina-se Tese ao documento destinado à obtenção do título de Doutor, de Dissertação ao título de Mestre e de Monografia ao título de Especialista. Todos devem ser resultado do trabalho de pesquisa científica, havendo alguns acordos sobre as exigências pelo modo com que devem ser tratados.

A Tese de doutoramento é a modalidade mais antiga de trabalho acadêmico, com surgimento ligado às primeiras Universidades na Europa, há 800 anos passados. Os intelectuais que aspiravam o cargo de docência em alguma faculdade de Filosofia ou de Teologia, as primeiras e mais importantes áreas de conhecimento então cultivadas, deveriam apresentar uma Tese, uma nova doutrina ou teoria, a ser defendida perante uma banca examinadora que argüia o candidato apresentado argumentos contrários aos propostos. Se a tese fosse vitoriosa, ele conseguia a aprovação anunciada pela usual expressão “*Doctorem habemus*”. Doutor (“aquele que sabe”) designa a pessoa que tem conhecimento profundo sobre um assunto, e deu prova deste seu saber mediante a realização de um trabalho original e inédito (D’Ofrio, 2000).

Na elaboração de uma Dissertação de mestrado (Tobar e Yalour, 2001), não é necessário apresentar um novo enfoque teórico, construir um paradigma ou formular algo novo sobre tema específico. O mestrando tem que saber estudar um tema, mas não necessita levar o assunto até a fronteira do conhecimento. A dissertação de mestrado é destinada à demonstrar que o estudante tem habilidade para sistematizar e processar informações, para encontrar e consultar bibliografia e para poder extrair conclusões relevantes da pesquisa empreendida.

Igualmente na Monografia para Especialização, o trabalho não necessariamente precisa ser inédito podendo (Salomon, 2001) originar-se de tema ministrado nas disciplinas cursadas. Porém, o documento, que é um trabalho de iniciação em ciência, deve evidenciar conhecimento e reflexão do candidato sobre o tema tratado e algumas vezes pode ser equivalente à uma Dissertação.

Deve-se ressaltar que o que distingue um documento do outro não é o rigor do conteúdo científico com o qual todos eles devem ser elaborados e nem a capacidade intelectual ou de sistematização, mas sim o tempo que os candidatos têm para tratar e aprofundar o tema. E entende-se que tem melhor chance para elaborar um bom documento monográfico quem tem a melhor organização, melhor projeto na busca, na pesquisa de dados para serem tratados no documento, do que quem imagina ter tido uma grande idéia de tema de pesquisa mas possui rudimentar organização.

A pesquisa pode ser definida como uma forma de estudo de um objeto, com a finalidade de incorporar os resultados obtidos em expressões comunicáveis e comprovadas aos níveis de conhecimento obtido (Rudio, 1986; Barros e Lehefeld, 1996). A fim de merecer o qualificativo científica, a pesquisa deve ser feita de modo sistematizado, utilizando para isso método próprio e técnicas específicas, procurando um conhecimento que se refira à realidade demonstrável pelos sentidos e com modo também próprio para comunicar o conhecimento obtido. O método próprio é o método científico e a forma própria, entre outras, é o documento monográfico.

Um método pode ser definido como uma série de regras para tentar resolver um problema. Uma das características básicas do método científico é a tentativa de resolver problemas por meio de suposições, isto é, hipóteses, que possam ser testadas empiricamente. Uma hipótese contém previsões sobre os resultados que se podem obter, em condições determinadas. Se o cientista pesquisador fizer uma experiência, ou observação, e obtiver os resultados previstos pela hipótese, esta será aceita, pelo menos provisoriamente. Se os resultados forem contrários aos previstos ela será considerada, em princípio, falsa, e outra hipótese terá de ser buscada (Alves-Mazzotti e Gewandsznajder, 1998).

## **O Projeto de Pesquisa**

Como escrito acima, melhor trabalho de pesquisa será desenvolvido quanto mais organizado o pesquisador. Para organizar a pesquisa, a metodologia da pesquisa oferece regras destinadas à elaboração de um projeto de pesquisa, sendo este entendido como instrumento para uma ação planejada em investigação científica, na aplicação do método científico.

O projeto é um documento que detalha as intenções, ações e procedimentos que serão desenvolvidos na busca de dados para formação de conhecimento sobre a realidade biológica, química, física ou social. Os elementos que compõem um projeto de pesquisa em ciência devem responder, na ordem proposta, às seguintes questões:

- Tema de Pesquisa: o que eu quero pesquisar?
- Problema de Pesquisa: o que eu desconheço sobre o que quero pesquisar?
- Hipótese de Pesquisa: o que eu penso que vou encontrar sobre o que eu ainda não sei?
- Justificativa e Levantamento Bibliográfico: porque eu quero pesquisar?

- Objetivo Específico: o que eu vou fazer neste trabalho?
- Materiais e Métodos: como eu vou fazer?
- Bibliografia: onde encontrei referências sobre o que estou tratando?
- Orçamento: o quanto vai custar?
- Cronograma: quanto tempo vai levar?

A seguir, algumas referências de como responder os questionamentos e como desenvolver os elementos constituintes de um projeto de pesquisa

## **O Tema de Pesquisa**

Saber o que se quer pesquisar é o primeiro passo para iniciar o trabalho de investigação, mas nem sempre é o mais fácil pois existe uma enorme diversidade de assuntos a serem tratados. Um critério que deve ser observado na escolha é o interesse que o pesquisador tem pelo assunto. Pode ser, por exemplo, devido à atividade profissional ou à subárea de conhecimento que desenvolve. Outras vezes, o projeto será desenvolvido porque o orientador assim determina. De todo modo, não se pode esquecer que a escolha do tema deverá ser justificada, seja devido à importância científica, tecnológica, social, econômica ou outro motivo que determine sua relevância no investimento de tempo, dinheiro e emoção.

Talvez a referência mais marcante na construção de um tema de pesquisa é a sua pertinência ao campo científico. Ou seja, ele deve estar bem localizado na derivação da hierarquização dos campos de conhecimento conforme organizado, em nosso país, pelo Conselho Nacional de Ciência e Tecnologia (CNPq/MCT). Usando como referência as Análises Clínicas Veterinárias, especialidade na qual o Curso de Especialização para o qual esta publicação serve de base, sua classificação fica assim constituída:

Grande Área: Ciências Agrárias

Área: Medicina Veterinária

Subárea: Patologia Clínica Animal

Especialidade: Análises Clínicas Veterinárias.

Alertamos que algumas modificações nesta classificação ocorrem, com inclusão de novas áreas e subáreas para acompanhar a complexa dinâmica da produção de conhecimento.

Linha de Pesquisa: estas são entendidas como estudos aglutinadores que se fundamentam na tradição investigativa de um pesquisador, de um grupo de pesquisa ou de uma instituição. Elas estão relacionadas com as características da formação dos recursos humanos disponíveis. Neste Curso de Especialização, algumas Linhas de Pesquisa são as seguintes:

- Patobiologia aplicada à Veterinária
- Hematologia, transtornos da coagulação
- Bioquímica clínica e transtornos endócrinos

Das linhas de pesquisa são derivados os temas de pesquisa.

Não se deve confundir tema/assunto de pesquisa com o título da monografia. O Tema informa o assunto que será investigado, enquanto o título da monografia pode ter mais informações como os referentes aos resultados e suas interpretações. É importante que o tema esteja devidamente delimitado. Assim como todos os elementos constituintes do projeto de pesquisa, ele serve para orientar os procedimentos que serão executados na investigação e, portanto, deve servir tanto para a organização do pesquisador quanto para informar aos leitores ou avaliadores do projeto sobre a sua pertinência científica e exequibilidade prática.

Exemplo de tema relacionado com a primeira linha, livremente adaptando de um projeto (Saccaro, 2007), elaborado na primeira edição do Curso:

Níveis basais de atividade de butirilcolinesterase em cães que usam coleiras impregnadas com agente anticolinesterásico.

### **O Problema de Pesquisa**

Tendo delimitado o tema, o assunto de interesse, o passo seguinte é o de elaboração do Problema de Pesquisa. Informar o que é desconhecido no tema tratado, e por isso será investigado. Atualmente o problema de pesquisa é formulado na forma de pergunta, sendo uma maneira de interrogar-se sobre o fenômeno ou fato que se quer observar ou experimentar. A pesquisa toda é conduzida com a finalidade de encontrar uma resposta à questão formulada.

Deve-se lembrar que, assim como o Tema, o Problema de pesquisa deve ser passível de demonstração e verificação pelos sentidos. Além do mais, exige um considerável conhecimento da produção científica sobre o tema tratado. Quanto maior formação acadêmica pretendida, tanto maior a exigência da profundidade do problema colocado. No caso de um projeto de Tese de doutoramento, quando exige-se originalidade no trabalho, deve também haver originalidade na formulação do Problema de pesquisa. Ou seja, descobrir algo que desconhece-se sobre o Tema, perguntar o que ainda não foi perguntado. O que significa também elevado conhecimento conceitual e teórico sobre a Especialidade e a Linha de Pesquisa.

O que ocorre frequentemente é a formulação provisória de um Problema de Pesquisa. A leitura sobre o tema, ou mesmo testes-pilotos e entrevistas iniciais, poderão fazer com que o Problema de Pesquisa seja reformulado. Assim como ocorre com a formulação da Hipótese, é o momento de demonstração de criatividade por parte do pesquisador.

Exemplo de Problema de Pesquisa:

As coleiras antiparasitárias que apresentam anticolinesterásicos como princípio químico ativo, afetam a atividade butirilcolinesterase em cães hípidos?

### **Hipótese de Pesquisa**

O método científico tem usado como o recurso na resolução de Problemas de Pesquisa a metodologia hipotético-dedutiva. Ou seja, resolve o Problema através de uma antecipação, da resposta antecipada, uma suposição do resultado. Atenção: antecipação de resultados não se confunde com antecipação dos dados. Estes serão obtidos com o desenvolvimento do trabalho. A Hipótese é uma proposição que poderá ser afirmada ou negada através da obtenção dos dados e interpretação de seus significados, o que deverá ser informado como parte integrante do processo de conclusão do trabalho.

Para Pauli (1976), a Hipótese é a previsão em favor de uma variável, a qual foi eleita para iniciar o trabalho de sua comprovação ou desaprovação.

Variáveis é como se denominam as múltiplas possibilidades explicativas a que estão sujeitos os fatos antes de se ter conhecimento da verdade a que efetivamente estão subordinados. Existem algumas formas de classificá-las, como: variáveis dicotômicas – que divergem pela afirmativa ou pela negativa de uma das possibilidades (se um, não outro); variáveis contínuas – que permitem graus de presença, e assim possibilitam conseqüentes medidas (quanto maior a presença de X, maior a de Y). Também podem ser distinguidas pela importância de suas ações: variáveis independentes – as que se exercem como causa direta do fenômeno; variáveis dependentes – são as variáveis resposta, que se exercem condicionadas; variáveis intervenientes – capazes de condicionar o fenômeno, mas sem serem sua explicação fundamental e nem decorrerem dessa fundamental.

A formulação de uma hipótese, assim como todos os elementos do projeto, colabora com a restrição da amplitude da investigação, evitando que o pesquisador divague de modo errático na busca do conhecimento.

Exemplo de Hipótese de Pesquisa:

Ocorre redução na atividade de butirilcolinesterase em cães saudáveis que utilizam coleira impregnada com agentes anticolinesterásicos, após sete dias de uso.

### **A Justificativa e a Leitura Exploratória (Levantamento Bibliográfico)**

Segundo Richardson (1999), este é o local onde se explicitam os motivos de ordem teórica ou prática que motivam e justificam a pesquisa. Pode ser informado como e por quê foi escolhido o fenômeno que será observado, possíveis contribuições para a sociedade como um todo, para o conhecimento científico e para a solução do problema proposto. Fazer referência a possíveis aspectos inovadores do trabalho, e se for uma replicação o porquê se faz necessária.

As leituras exploratórias servem para se obter informações sobre investigações já realizadas acerca do Tema do trabalho. Elas permitem o investigador destacar a perspectiva que lhe parece mais pertinente na abordagem de seu objeto de pesquisa, inclusive fazendo com que possa ajustar tanto o Problema quanto o Tema da pesquisa.

A Leitura Exploratória, que já faz parte do Levantamento Bibliográfico, deve ser feita mais alinhada como o Tema de Pesquisa, e não com a Linha de Pesquisa, que é mais ampla. O pesquisador deve fazer a leitura de abordagens diversificadas, o que colabora para seu melhor esclarecimento, bem como dispor de tempo tanto para refletir sobre as informações recolhidas quanto para discutir sobre elas com o orientador e outros colegas do grupo de pesquisa. Mais abaixo, serão indicados procedimentos para qualificar a busca bibliográfica e organizar as informações obtidas.

Exemplo de argumentação Justificativa:

Os organofosforados e carbamatos são muito utilizados em Medicina Veterinária, na formulação de produtos contra ectoparasitas, como pulgas e carrapatos. Esses inseticidas podem ser encontrados sob várias formas como talcos, coleiras, *sprays* e shampoos. Somente no ano de 2004, foram notificados no Centro de Informações Toxicológicas do Rio Grande do Sul (CIT/RS) 40 casos de intoxicação por agentes anticolinesterásicos em animais de companhia .....

### **O(s) Objetivo(s)**

Caracterizam de forma resumida a finalidade do projeto (Goldim, 1997). Dependendo da magnitude do projeto, o Objetivo pode ser dividido em Geral e Específico. O Geral explicita o propósito (mais amplo), e o Específico caracteriza etapas ou fases do projeto. Como os Objetivos expressam as ações que serão desenvolvidas no projeto devem iniciar, sempre que possível, com verbos operacionais no infinitivo como: descrever, comparar, verificar.

É importante a precisão na escolha do verbo, escolhendo aquele que rigorosamente exprime a ação que o pesquisador pretende executar. Critério fundamental na delimitação dos objetivos da pesquisa é a disponibilidade de recursos financeiros e humanos e de tempo para a execução da pesquisa, de tal modo que não se corra o risco de torná-la inviável. É preferível diminuir o recorte da realidade do que se perder em um mundo de informações impossíveis de serem tratadas (Barreto e Honorato, 1998).

Exemplo de Objetivos:

Geral: reduzir o tempo de diagnóstico em suspeitas de intoxicações de cães por agentes químicos antiparasitários como organofosforados e carbamatos.

Específico: verificar a ocorrência de alteração na enzima enzimática butirilcolinesterase em cães após sete dias usando coleira antiparasitária.

### **Material e Método**

Nesta secção devem ser descritos todos os procedimentos, meios técnicos e materiais que serão adotados e usados durante o processo de investigação. Pode-se iniciar definindo o tipo de pesquisa:

- qualitativa: que especifica os fenômenos em sua razão de ser quanto aos significados, intencionalidades, motivações, aspirações, crenças, valores e atitudes. Este tipo de pesquisa pode ser utilizado, por exemplo, quando interroga-se sobre “que explicações os criadores de gado de leite atribuem às causas de aborto?”.

- quantitativa: neste caso a pesquisa supõe uma população, ou amostra, qualquer conjunto de elementos que seja comparáveis entre si, objetivando a mensuração de determinadas variáveis do fenômeno, evento ou fato observado ou experimentado. Deve gerar dados para a interpretação matemática através da estatística descritiva ou analítica.

Também pode-se determinar como tipos de pesquisa:

- observacional: quando as técnicas de coleta de dados visam descrever o objeto de pesquisa sem nele interferir, no sentido de não introduzir ou manipular as variáveis estudadas. Por ser observacional não significa passividade de parte do investigador, pois esse examina os fenômenos não apenas vendo e ouvindo diretamente mas também através da coleta de informações materiais para observação analítica.

- experimental: nesse tipo de pesquisa as variáveis capazes de influenciar o objeto de pesquisa são propositadamente introduzidas ou manipuladas com a finalidade de obter como resultados a resposta manifestada pela população ou sua amostra.

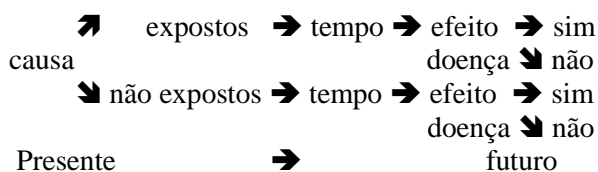
- revisão bibliográfica: também aceita como um modo de busca de resultados de pesquisa. A busca de dados através da revisão de pesquisas já realizadas pode ser aceitável quando se quer comparar, por exemplo, técnicas diferentes de análises clínicas ou intervenções terapêuticas e que, por ordem cronológica, buscam-se evidências de melhores eficácias e eficiências de tratamentos. Nomina-se essa modalidade descrita como revisão sistemática. Outra modalidade é a revisão crítica, quando ela é entremeada por comentários sobre o método de busca dos dados, das suas interpretações ou análises estatísticas. Vemos que em ambos os casos, o conhecimento do pesquisador não pode estar sujeito ao nível de conhecimento de iniciação científica. Pelo contrário, exige grande conhecimento prévio sobre o tema tratado bem como capacidade de reconhecer acertos e possíveis erros nos resultados, interpretações apresentadas nas comunicações científicas. Muitos se deixam levar pela falsa aparência de ser trabalho de mais fácil execução e menor tempo para conclusão. Uma pesquisa e monografia apresentada como “recorta e cola”, é inaceitável do ponto de vista acadêmico.

Outro quesito importante é a descrição do delineamento da pesquisa. Diz respeito ao modo como população ou sua amostra é organizada em relação às variáveis de observação ou experimentação. Quando tratamos do delineamento de um experimento, realizamos a descrição da forma como os tratamentos serão designados às unidades experimentais. O tratamento pode ser entendido como um produto, substância ou um processo que se quer testar, e unidades experimentais pode ser um paciente, um grupo de indivíduos ou mesmo uma célula bacteriana.



Deve ser especificada a variável em análise e a forma como será medida, além do número de repetições.

Tomando como referência desenhos-delineamento de pesquisa com critério tempo e direção da amostra (prospectivo: causa → efeito), o Estudo de Coorte (dois grupos), que pode ser: *ante facto* ou *pos facto*, apresenta o seguinte arranjo:



Uma pesquisa, seja qual for o desenho-delineamento adotado, pressupõe a determinação da população em experimentação ou observação. A população significa todos os indivíduos (elementos, ou gênero e espécie quando seres vivos) de determinada área, o que, dependendo do cenário que o projeto pretende estudar, torna o trabalho inviável por razões sejam elas de ordem logística, de tempo ou recursos econômicos. Quando é inviável trabalhar com todos os indivíduos, precisamos escolher parte da população, a qual é denominada amostra (parte de um todo). Quando vamos escolher qual parte da população que selecionaremos para compor nossa amostra, um critério que podemos adotar é o da representatividade probabilística ou não probabilística.

Na amostragem probabilística (Lakatus e Marconi, 1996) todos os elementos do universo da pesquisa tem a mesma probabilidade de serem sorteados para compor a amostra. O pré-requisito básico é que precisamos ter a relação de todos os elementos que formam a população determinada, de modo que se torne possível selecionar ao acaso qualquer um deles. Para isso, os procedimentos adotados vão do simples sorteio até a consulta em tabelas de números aleatórios, tendo esse tipo de amostragem como vantagem a possibilidade de generalizar os resultados da pesquisa para toda a população investigada. Os tipos de amostras probabilísticas são:

- Aleatória Simples: onde todos e cada um dos elementos da população tem a mesma chance de serem escolhidos;
- Estratificada: a base deste modelo está no fato do reconhecimento da existência de um universo heterogêneo, com grupos mutuamente exclusivos. Então, para formar a amostra devemos organizar estratos, sub-categorias conforme sua homogeneidade, e deles sortear as unidades para compor a amostra;
- Conglomerados ou Agrupamentos: neste caso, são escolhidos grupos e não indivíduos. No grupo, todos os indivíduos farão parte da amostra. Neste caso os grupos já estão pré-formados sem a interferência do pesquisador, como pode ser o caso de bovinos pertencentes a uma associação de criadores;

- Sistemática: quando o número de amostras pré-determinada, por exemplo cinco, em uma população de cem, sorteia-se o primeiro, e vai-se selecionado de vinte em vinte indivíduos ou elementos.

O segundo critério de formação de amostra é o não-probabilístico. Tanto este quanto o critério probabilístico tem o mesmo status científico. Ao contrário do que ouve-se falar com frequência, o critério não-probabilístico não caracteriza um “viés” na formação da amostra, posto que conforme o caso é a escolha tecnicamente correta. Por exemplo, quando a generalização dos resultados não for desejada, ou no estudo de sinais patognomônicos de enfermidades a amostra formada precisa ser a não-probabilística, do tipo intencional. Podem ocorrer vieses nos resultados tanto devido à formação da amostra quanto devido à escolha do modelo de amostra.

Os tipos de amostras não-probabilística:

- Acidental, ou por Conveniência: a possibilidade de escolher certo elemento no universo população é desconhecido. Os indivíduos ou elementos são escolhidos por serem mais acessíveis ou então por serem mais fáceis de serem avaliados;
- Intencional, por julgamento: quando os indivíduos, ou mesmo grupos, são escolhidos para comporem a amostra por que são mais característicos, melhor adequados para o estudo em questão;
- Por Cotas: neste caso a população é dividida em sub-populações, conforme a importância atribuída (pode ser pela idade zootécnica), e cada uma delas recebe uma cota percentual;
- Sistemática: aqui diferente da probabilística quando o primeiro indivíduo não for sorteado.

Outro passo importante nesta secção é especificar os instrumentos de coleta de informações, como:

- revisão de fichas clínicas;
- dados obtidos em arquivos da vigilância epidemiológica;
- entrevistas, questionários;
- indicadores sanguíneos: antígenos x anticorpo; níveis hormonais, glicêmicos, etc...
- isolamento de microrganismos;
- verificação anátomo-patológica;
- sinais clínicos, etc....

Também deve estar prevista a avaliação matemática dos dados, como é o caso da estatística descritiva ou analítica.

Para projetos que utilizam animais ou seres humanos na observação e experimentação, se faz necessária a aprovação dos procedimentos por uma comissão de ética ou de regulação do uso de animais na pesquisa.

## **Referências**

Notifica as fontes onde as informações utilizadas na formulação do projeto foram obtidas.

### **Cronograma**

Indica a data de início e finalização do projeto, bem como a distribuição temporal – semanal ou mensal, das atividades e procedimentos necessários à sua execução.

### **Orçamento**

Geralmente dividido por recursos necessários à aquisição dos materiais de custeio e permanentes, que se aparecem como última secção do projeto nem por isso é a menos importante.

As secções aparecem no projeto em ordem de apresentação que obedecem uma lógica de comunicação. Mas nenhuma é mais importante que outra. Se o projeto é um modo de planeamento, ele pressupõe a sua exequibilidade. Portanto, mesmo que o orçamento seja apresentado como último item não significa que deva ser o último a ser considerado na projeção, posto que desde o início pode ser o fator limitador na execução do trabalho.

Assim também com o tempo disponível. Por exemplo uma tese de doutoramento, que mesmo tendo a necessidade de uma complexidade maior no aprofundamentos do tema proposto permite algumas correções de rumo no desenvolvimento do trabalho planejado posto que tem também maior tempo na sua execução. Já uma monografia de conclusão de um curso de especialização, a margem para correção de rumo caso o planeamento de alguma das secções não tenha sido bem elaborada, é muito menor.

Sintetizando e reforçando, todas as secções do projeto devem estar encadeadas de modo que permitam a construção de dados com o rigor exigido pelas características científicas.

### **O levantamento bibliográfico**

Uma vez definido o tema sobre o qual versará o trabalho, é chegado o momento de organizar-se em relação aos suportes bibliográficos que tornarão possível a sua realização, embasado em uma bibliografia básica cuja função é orientar o pesquisador na estruturação dos tópicos, a partir do problema exposto, na coleta, análise e interpretação dos dados a serem relatados na monografia, podendo utilizá-lo como roteiro para sua execução.

O levantamento bibliográfico consiste na busca e obtenção das informações pertinentes, através dos suportes oferecidos pelas tecnologias da informação e a utilização adequada das ferramentas inerentes.

A informação científica tais como artigos de periódicos, livros, capítulos de livros, teses de doutorado, dissertações de mestrado, é reunida e armazenada pelos profissionais da informação, de forma sistemática e organizada, de maneira a possibilitar sua recuperação com a finalidade de consulta e leitura, atuando como suporte à pesquisa. A esta recuperação de documentos chamamos levantamento bibliográfico.

Atualmente, as mais utilizadas são as fontes de informações eletrônicas (que utilizam os computadores como suporte - *hardware e software*), dada a facilidade com que são disseminadas, resultando em agilidade na obtenção dos documentos, além de oferecer recursos multimídia, *links* para artigos relacionados e outros que possam enriquecer a busca do pesquisador. Embora os recursos e bases oferecidos pela *internet* sejam incontáveis, serão abordados a seguir aqueles mais comumente utilizados para a elaboração de trabalhos acadêmicos.

Nesse contexto, os periódicos científicos tendem, na atualidade, a figurarem como a principal fonte de difusão do conhecimento científico devido, justamente, à periodicidade da publicação, tendo como característica atualidade da informação e à confiabilidade, uma vez que os trabalhos publicados são avaliados pelos seus pares, pesquisadores, e passam pelo crivo de uma comissão editorial especialista na área.

As bases de dados que contemplam textos, podem ser apresentadas na forma referencial e texto completo e podem conter, além de artigos de periódicos científicos, teses de doutorado, dissertações de mestrado, livros, trabalhos apresentados em congressos e outros documentos de cunho científico.

As bases de dados referencias são aquelas que, quando da busca do material, fornece apenas a referência do documento, ou seja: autor, título e/ou publicação e outros elementos que permitam localizar o documento. Estas bases, seguidamente, fornecem também os resumos dos documentos, facilitando ao pesquisador determinar a importância do documento para o seu trabalho. A partir destes dados, é feita a busca para saber onde está armazenado o documento impresso (em bibliotecas ou centros de informação do Brasil e do mundo) para que possa ser providenciada sua chegada às mãos do interessado.

As bases de dados de texto completo fornecem o texto na íntegra, permitindo sua leitura direto na tela do computador, bem como imprimi-lo ou enviá-lo por e-mail para leitura posterior. Podem ser de acesso gratuito ou mediante pagamento (assinatura ou acesso pago a um único artigo).

Algumas bases de dados, mesmo tidas como referenciais, fornecem, através de *links*, o acesso ao texto completo, podendo este ser gratuito ou solicitar senha de assinatura ou, ainda, pagamento para acesso ao documento na íntegra.

Com o levantamento bibliográfico em mãos, é hora de buscar os documentos cujo acesso não foi imediato. Os catálogos de bibliotecas acadêmicas próximas podem e devem ser consultados nessa busca pois pode haver redução de ônus em relação a tempo e custo.

Apesar da Internet oferecer ferramentas de busca de documentos como o Google, Yahoo, Cadê, esses são recursos cuja recomendação é de que sejam utilizados com parcimônia, pois, considerando a facilidade com que qualquer indivíduo pode postar informações na *internet*, sua confiabilidade pode ser prejudicada.

### **Organização do material**

Uma vez selecionado o material de interesse, o próximo passo é organizar aquele que será utilizado na elaboração do trabalho. A partir da leitura dos textos, selecionam-se aqueles que, pelo seu conteúdo, serão utilizados na fundamentação teórica do trabalho e, dada a quantidade de material que é reunida no decorrer da tarefa, urge que os mesmos sejam organizados facilitando sua posterior recuperação.

É momento de colocar-se em prática as fichas de leitura. Organizam-se fichas que contenham um cabeçalho, para a referência do documento consultado, espaço para resumo e observações importantes e espaço para outras notas relevantes, tencionando recuperar a informação caso haja necessidade. Este espaço pode conter, por exemplo, a biblioteca em que se encontra o material.

É importante enfatizar que, no decorrer do trabalho, outras bibliografias interessantes podem surgir e, para manter-se organizado, não deve ser desconsiderada a prática das fichas.

Exemplo de ficha bibliográfica:

|   |                |
|---|----------------|
| <b>Assunto:</b>   | <b>Ficha 1</b> |
| <b>Referência:</b>                                      |                |
| <b>Resumo:</b>  |                |
| <b>O original pode ser encontrado na Biblioteca ...</b> |                |
| <b>Endereço:</b>  |                |

### **O documento monográfico**

#### **Redação do Trabalho**

A recomendação é de que o trabalho (elementos textuais) siga uma redação fluente, concatenada, primando pela clareza, objetividade e impessoalidade, e, conquanto varie o estilo, dependendo da área, não deve distanciar-se da objetividade, optando pelas idéias concisas e evitando-se redundâncias. A monografia deve ser considerada como um estudo que leve a conclusões pertinentes e passíveis de contribuições teóricas e/ou práticas nos campos científicos, sociais e tecnológicos relevantes. A atenção e exigência com o trabalho proposto,

parte da utilização da norma culta para sua redação e segue, até sua conclusão, com a acuidade técnica quando da sua formatação final.

Quando da adoção de fórmulas e/ou termos específicos de determinadas áreas, recomenda-se a adoção daqueles utilizados por fontes autorizadas.

As siglas, na redação do texto devem ser evitadas, entretanto, optando-se por este formato, na sua primeira alusão no texto, coloca-se o nome por extenso, seguido da sigla entre parênteses, podendo, então, as alusões subseqüentes valerem-se somente da sigla.

Exemplo:

Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT)

A estrutura do trabalho científico segue as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas, Comitê de Informação e Documentação (ABNT).

A ABNT é o órgão responsável por elaborar e revisar, periodicamente, normas visando normalizar tecnicamente procedimentos nas diversas áreas, no Brasil, contribuindo, enquanto fornecedor oficial das bases necessárias ao desenvolvimento tecnológico do País. Na área da documentação, delibera sobre quesitos que englobam disposição, seqüência e estilo, visando a uniformização e enquadramento formal dos trabalhos acadêmicos, desde a sua forma de apresentação estrutural, até a elaboração das referências bibliográficas. Tais deliberações visam a facilitar a leitura, consulta e recuperação de informações ali contidas. Sendo assim, uma monografia, enquanto trabalho científico, deve segui-la quando da sua elaboração e disposição.

Segundo a Norma da ABNT para Trabalhos acadêmicos – Apresentação (2002), o trabalho científico é composto de elementos pré-textuais, textuais e pós-textuais sendo estruturados e dispostos conforme o Quadro 1.

### **Elementos pré-textuais**

Constituem-se em elementos que antecedem o corpo do trabalho.

### **Elementos Textuais**

Os elementos textuais são subdivididos em capítulos ou seções, de acordo com a necessidade apresentada.

#### **Introdução**

O primeiro capítulo (ou seção) é a Introdução, que deve expor, sucintamente, a natureza da pesquisa, abordando de forma geral as informações que se seguirão e a intencionalidade do trabalho, tendo o cuidado de evitar já no princípio, aprofundar-se ou estender-se em demasia no tema, bem como se distanciar da temática proposta.

#### **Desenvolvimento**

Os capítulos subseqüentes (Desenvolvimento) devem conter os objetivos do trabalho; revisão de literatura, onde o autor exporá seu ponto de vista e abordará outras pesquisas e

investigações realizadas na área, estabelecendo comparações com o seu trabalho de investigação e fazendo considerações pertinentes; materiais e métodos; resultados; discussão e conclusões.

Quadro 1. Estrutura e disposição dos elementos na monografia.

| <b>Estrutura</b> | <b>Elemento</b>              | <b>Obrigatório</b> | <b>Opcional</b> |
|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------|
| Pré-textuais     | Capa                         | X                  |                 |
|                  | Lombada                      |                    | X               |
|                  | Folha de rosto               | X                  |                 |
|                  | Errata                       |                    | X               |
|                  | Folha de aprovação           | X                  |                 |
|                  | Dedicatória                  |                    | X               |
|                  | Agradecimentos               |                    | X               |
|                  | Epígrafe                     |                    | X               |
|                  | Resumo na língua vernácula   | X                  |                 |
|                  | Resumo em língua estrangeira | X                  |                 |
|                  | Lista de ilustrações         |                    | X               |
|                  | Lista de tabelas             |                    | X               |
|                  | Lista de abreviaturas        |                    | X               |
|                  | Lista de símbolos            |                    | X               |
|                  | Sumário                      | X                  |                 |
| Textuais         | Introdução                   | X                  |                 |
|                  | Desenvolvimento              | X                  |                 |
|                  | Conclusão                    | X                  |                 |
| Pós-textuais     | Referências                  | X                  |                 |
|                  | Glossário                    |                    | X               |
|                  | Apêndice(s)                  |                    | X               |
|                  | Anexo(s)                     |                    | X               |
|                  | Índice(s)                    |                    | X               |

A revisão bibliográfica, por sua natureza, fará uso das citações onde, mais uma vez a ABNT deve ser seguida, através da sua norma de citações de documentos, evitando a cópia ou apropriação indevida de idéias. Toda e qualquer idéia, específica, retirada de um documento, deve ter sua fonte devidamente citada, no corpo do trabalho e referenciada ao final deste. Entretanto, esta prática não impede que o autor contraponha seu ponto de vista ou concorde com o exposto por outro autor ou autores consultados, ao contrário, esta é a maneira adequada quando da elaboração do trabalho.

As divisões dos capítulos (ou secções) e destes em subcapítulos (ou secções secundárias, terciárias etc.), ficam a critério do autor, de acordo com a necessidade apresentada

pelo trabalho visando sua melhor concatenação. Regra esta, que excetua a introdução e a conclusão ou conclusões, que não comportam subdivisões.

### Conclusões

As conclusões devem abordar, de forma sintética, o conteúdo pesquisado abordando informações relevantes e apontando diretrizes presentes ou futuras relacionadas à problemática levantada.

### Elementos pós-textuais

Normalmente contém as referências, mas pode conter outros elementos que não se adaptem ao corpo do trabalho.

### Citações bibliográficas

As citações bibliográficas, presentes na revisão de literatura, devem seguir a NBR 10520 de agosto de 2002, que recomenda o seguinte:

“Nas citações, as chamadas pelo sobrenome do autor, pela instituição responsável ou título incluído na sentença devem ser em letras maiúsculas e minúsculas, e quando estiverem entre parênteses, devem ser em letras maiúsculas” (ABNT, 2002).

As citações podem ser diretas ou indiretas. As citações diretas são caracterizadas pela transcrição de parte do texto, transcrevendo-se as palavras do autor consultado; as citações indiretas, não utilizam as palavras do autor, apenas a(s) idéia(s).

Sistema de chamada das citações:

Quanto ao sistema de chamada das citações, é recomendado seu emprego segundo os exemplos que seguem:

- a) quando o nome do autor estiver incluído na sentença, indica-se somente o ano entre parênteses. O nome do autor é grafado somente com a primeira letra em maiúscula.

Exemplo: Segundo Morais (1998) ....

- b) quando o nome do autor não estiver incluído na sentença, indica-se o autor seguido da data de publicação, separados por vírgula e entre parênteses. O nome do autor é grafado todo em maiúsculas.

Exemplo: Em um estudo recente revelou-se que, nos bebês, a capacidade de realizar cálculos numéricos é inata (MARTINEZ; ARGIBAY, 2007).

Até três autores, a pontuação de separação entre os nomes dos autores deve ser de ponto e vírgula (;). Mais de três autores, coloca-se o primeiro seguido da expressão latina *et al.*



Exemplos: (MUNHOZ; SCAVONE, 2007, p. 26)

(BRANDÃO *et al.* 2003)

- c) As citações de diversos documentos de um mesmo autor, publicados em um mesmo ano, são distinguidas pelo acréscimo de letras minúsculas do alfabeto, após a data e sem espaçamentos.

Exemplo: Resende (1979a), Resende (1979b)

- d) quando for necessário especificar no texto a(s) página(s) ou seção(es) da obra consultada, esta(s) deverá(o) seguir a data, separada(s) por vírgula e precedida(s) pelo designativo que a(s) caracteriza(m). Especifica-se a página, quando a transcrição do trecho em questão for *ipsis literis*, ou seja, tal como está escrito na obra original. São as chamadas citações diretas.

Exemplos:

Conforme Munhoz e Scavone (2007, p. 35) “[...] o estresse pode ser definido, de maneira mais precisa, como qualquer mudança fisiológica ou psicológica que altera a homeostasia do organismo.”

ou

“[...] o estresse pode ser definido, de maneira mais precisa, como qualquer mudança fisiológica ou psicológica que altera a homeostasia do organismo.” (MUNHOZ; SCAVONE, 2007, p. 35).

- e) Ainda sobre as citações diretas:

- até três linhas, devem estar contidas entre aspas duplas. Citações no interior da citação, utilizam-se aspas simples;

Exemplo:

De acordo com o pensamento de Assis (2003, p. 36) “Quando falamos em ciência, precisamos ter em mente onde ela acontece e a que interesse atende. Na perspectiva de um país periférico, ciência é um luxo, exercida em universidades e em centros de pesquisa, e visa basicamente à formação de pessoal.”

ou

“Quando falamos em ciência, precisamos ter em mente onde ela acontece e a que interesse atende. Na perspectiva de um país periférico, ciência é um luxo, exercida em universidades e em centros de pesquisa, e visa basicamente à formação de pessoal” (ASSIS 2003, p. 36).

- mais de três linhas, as citações devem obedecer a um recuo de 4 cm da margem esquerda, espaço simples, letra tamanho 11 e sem aspas.

Exemplo:

O estudo das funções cerebrais, porém, nem sempre é possível pela simples análise estrutural. Surgem, então, as neuroimagens

funcionais, que procuram mostrar o cérebro em ação. Além de possibilitar o estudo de vários processos cerebrais, o uso de neuroimagens funcionais também é importante para o tratamento de pacientes, em especial os que serão submetidos a cirurgias. (ARAÚJO et al., 2003, p. 28).

ou

Segundo Araújo et al. (2003, p.28),

O estudo das funções cerebrais, porém, nem sempre é possível pela simples análise estrutural. Surgem, então, as neuroimagens funcionais, que procuram mostrar o cérebro em ação. Além de possibilitar o estudo de vários processos cerebrais, o uso de neuroimagens funcionais também é importante para o tratamento de pacientes, em especial os que serão submetidos a cirurgias

As citações utilizadas no texto de uma obra, devem ter sua referência completa, nas REFERÊNCIAS (Elemento pós-textual). As citações de uma mesma obra, devem ser referenciadas de forma abreviada, utilizando as seguintes expressões latinas:

a) apud – citado por;

Usa-se para citações de citações.

Ex: (SILVA apud PESSOA, 1965)

Segundo Silva (1993 apud ABREU, 1999, p.3) diz ser [...]

Segundo Anastasi (1977 apud ARRAES; RUIZ, 1983)

Segundo Cesarino (1990, apud SOUZA et al., 1994, p.482)

Referências utilizadas nos exemplos das citações

ARAÚJO, Dráulio Barros de *et al.* Imagens do cérebro em ação. **Ciência Hoje**, São Paulo, v. 33, n. 197, p. 28-35, set. 2003.

ASSIS, Jesus de Paula. Dialética da fraude. **Ciência Hoje**, São Paulo, v. 32, n. 192, p. 32-39. abr. 2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Comitê Brasileiro de Finanças, Bancos, Seguros, Comércio, Administração e Documentação. **Informação e documentação – Citações em documentos - Apresentação : NBR 10520**. Rio de Janeiro, 2002. 7 p.

BRANDÃO, Cláudia Valéria Seullner et al. Linfedema secundário em cão: relato de caso. **Nosso Clínico: Medicina Veterinária para animais de companhia**, São Paulo, v. 6, n. 32, p. 24-26, mar./abr. 2003.

MARTINEZ, Julia; ARGIBAY, Pablo. O aprendizado da matemática e o cérebro. **Ciência Hoje**, São Paulo, v. 41, n. 243, p. 27-31, nov. 2007.

MUNHOZ, Carolina Demarchi; SCAVONE, Cristóforo. Controle do estresse: arma no combate à inflamação. **Ciência Hoje**, São Paulo, v. 40, n. 237, p. 24-29, maio 2007.

## Referências bibliográficas

- ALVES-MAZZOTTI, Alda Judith, GEWANDSZNAJDER, Fernando. **O método nas ciências naturais e sociais**: pesquisa quantitativa e qualitativa. São Paulo : Pioneira, 1998.
- BARRETO, Alcyrus Vieira Pinto; HONORATO, Cezar de Freitas. **Manual de sobrevivência na selva acadêmica**. Rio de Janeiro: Objeto Direto, 1998.
- BARROS, Aidil de Jesus Paes de; LEHFELD, Neide Aparecida de Souza. **Projeto de pesquisa**: propostas metodológicas. 4<sup>a</sup> ed. Petrópolis : Vozes, 1990.
- D'ONOFRIO, Salvatori. **Metodologia do trabalho intelectual**. São Paulo : Atlas, 2000.
- FERREIRA, Luiz Gonzaga R. **Redação científica**: como escrever artigos, monografias, dissertações e teses. Fortaleza : EUFC, 1994.
- GOLDIN, José Roberto. **Manual de iniciação à pesquisa em saúde**. Porto Alegre : Da Casa, 1997.
- LAKATOS, Eva Maria; MARCONI, Marina de Andrade. **Técnicas de pesquisa**: planejamento e execução de pesquisas, amostragens e técnicas de pesquisas, elaboração e interpretação de dados. 3<sup>a</sup> ed. São Paulo : Atlas, 1996.
- PAULI, Evaldo. **Manual de metodologia científica**. São Paulo : Editora Resenha Universitária, 1976.
- RICHARDSON, Roberto Jarry et al. **Pesquisa social: métodos e técnicas**. São Paulo : Atlas, 1999.
- RUDIO, Franz Victor. **Introdução ao projeto de pesquisa científico**. 32<sup>a</sup> ed. Petrópolis : Vozes, 1986.
- SACCARO, Renata.. **Ante-projeto de pesquisa** apresentado no Curso de Especialização em Análises Clínicas Veterinárias. Faculdade de Veterinária/UFRGS, 2007. (mimeo).
- SALOMON, Délcio Vieira. **Como fazer uma monografia**. São Paulo : Martins Fonte, 2001.
- TOBAR, Frederico; YALOUR, Margot Romano. **Como fazer teses em saúde pública**. Rio de Janeiro : Editora Fiocruz, 2001.