

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JULIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA DE ARAÇATUBA**  
**DEPARTAMENTO DE CLÍNICA, CIRURGIA E REPRODUÇÃO ANIMAL**

**FÁBIO CASTILHO NAVARRO**

**PERFIL CRISTALÚRICO EM OVINOS**  
**SUPLEMENTADOS COM CLORETO DE AMÔNIO**

**ARAÇATUBA-SP**

**2021**

**FÁBIO CASTILHO NAVARRO**

**PERFIL CRISTALÚRICO EM OVINOS  
SUPLEMENTADOS COM CLORETO DE AMÔNIO**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Cláudio Nogueira Mendes

**ARAÇATUBA-SP**

**2021**

N322p      Navarro, Fábio Castilho  
             Perfil cristalúrico em ovinos suplementados com  
             cloreto de amônio / Fábio Castilho Navarro. --  
             Araçatuba, 2021  
             46 f. : tabs., fotos

             Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista  
             (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária,  
             Araçatuba  
             Orientador: Luiz Cláudio Nogueira Mendes

             1. Urina análise. 2. Sais de amônio. 3. Cristais. 4.  
             Urina. 5. Urolitíase. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.  
Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba. Dados  
fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**Título:** PERFIL CRISTALÚRICO EM OVINOS SUPLEMENTADOS COM CLORETO DE AMÔNIO

**AUTOR:** FABIO CASTILHO NAVARRO

**ORIENTADOR:** LUIZ CLAUDIO NOGUEIRA MENDES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em CIÊNCIA ANIMAL, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. LUIZ CLAUDIO NOGUEIRA MENDES (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dra. FLAVIA DE ALMEIDA LUCAS (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dr. FRANCISCO LEYDSON FORMIGA FEITOSA (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dr. JOSE PAES DE OLIVEIRA FILHO (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica Veterinária / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Câmpus de Botucatu/UNESP

Prof. Dra. BIANCA PAOLA SANTAROSA (Participação Virtual)  
Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - Campus Unaí

Araçatuba, 15 de outubro de 2021.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**Título:** PERFIL CRISTALÚRICO EM OVINOS SUPLEMENTADOS COM CLORETO DE AMÔNIO

**AUTOR:** FABIO CASTILHO NAVARRO  
**ORIENTADOR:** LUIZ CLAUDIO NOGUEIRA MENDES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em CIÊNCIA ANIMAL, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. LUIZ CLAUDIO NOGUEIRA MENDES (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dra. FLAVIA DE ALMEIDA LUCAS (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dr. FRANCISCO LEYDSON FORMIGA FEITOSA (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dr. JOSE PAES DE OLIVEIRA FILHO (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica Veterinária / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Câmpus de Botucatu/UNESP

Prof. Dra. BIANCA PADLA SANTAROSA (Participação Virtual)  
Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - Campus Unaí

Araçatuba, 15 de outubro de 2021.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: PERFIL CRISTALÚRICO EM OVINOS SUPLEMENTADOS COM CLORETO DE AMÔNIO

AUTOR: FABIO CASTILHO NAVARRO  
ORIENTADOR: LUIZ CLAUDIO NOGUEIRA MENDES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em CIÊNCIA ANIMAL, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. LUIZ CLAUDIO NOGUEIRA MENDES (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Profa. Dra. FLAVIA DE ALMEIDA LUCAS (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dr. FRANCISCO LEYDSON FORMIGA FEITOSA (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dr. JOSÉ PAES DE OLIVEIRA FILHO (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica Veterinária / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Câmpus de Botucatu/UNESP

Profa. Dra. BIANCA PAOLA SANTAROSA (Participação Virtual)  
Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - Campus Unaí

Araçatuba, 15 de outubro de 2021.





UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

Título: PERFIL CRISTALÚRICO EM OVINOS SUPLEMENTADOS COM CLORETO DE AMÔNIO

AUTOR: FABIO CASTILHO NAVARRO

ORIENTADOR: LUIZ CLAUDIO NOGUEIRA MENDES


Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em CIÊNCIA ANIMAL, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. LUIZ CLAUDIO NOGUEIRA MENDES (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Profa. Dra. FLAVIA DE ALMEIDA LUCAS (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dr. FRANCISCO LEYDSON FORMIGA FEITOSA (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dr. JOSE PAES DE OLIVEIRA FILHO (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica Veterinária / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Câmpus de Botucatu/UNESP

  
Profa. Dra. BIANCA PADLA SANTAROSA (Participação Virtual)  
Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - Campus Unaí

Araçatuba, 15 de outubro de 2021.

## **AGRADECIMENTOS / DEDICATÓRIA**

*Aos meus pais, Carlos Adalberto Navarro (in memorian) e Vera Lúcia Castilho Navarro por cada passo em minha vida, pelos incentivos e dedicação irrestrita.*

*Ao meu orientador, Professor Luiz Cláudio Nogueira Mendes, pela crença no meu trabalho e por todo apoio prestado durante esses últimos tempos para realização deste sonho.*

*À minha esposa Maria Luiza Raffani Gabriel Navarro pela paciência e aos meus filhos, Gustavo e Guilherme, pelos momentos de ausência em prol de algo maior que é a realização deste sonho, para que se lembrem no futuro que a ausência tinha um motivo, a realização desta obra.*

*Às minhas irmãs, Mayra e Aline, companheiras em todos momentos.*

*Ao Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal e Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP – Campus de Araçatuba, por proporcionar a estrutura e a oportunidade para realização deste trabalho.*

*Ao grande amigo Leonardo Bentin, grande incentivador deste estudo, o meu agradecimento.*

*Ao tio Rafael e tia Luci, grandes companheiros de tantas jornadas, apoiadores incessantes do meu crescimento profissional.*

*Aos Drs. José Eduardo de O. Zanon, Fernanda Bovino, Rafaela S.Baptista, Mariana A.S.J. Pereira, Joao Pedro B. Barbosa, Marcela Da Coll de Camargo, Matheus O.S.Castro, Mariana M. B. Rossetti e a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram com seu esforço para realização deste trabalho.*

*“Um dia... Pronto! Me acabo. Pois seja o que tem de ser.*

*Morrer: Que me importa? O diabo é deixar de viver”*

*Mario Quintana*

Navarro, F.C. **Perfil cristalúrico em ovinos suplementados com cloreto de amônio**. 2021. 46f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2021.

## RESUMO

Apesar de cristais urinários serem componentes habituais, a formação de urolitíase é sempre precedida destas concreções. O estudo objetivou identificar a mudança do perfil cristalúrico em ovinos suplementados com cloreto de amônio. Foram utilizados 25 ovinos, machos, com idade de três meses, confinados e distribuídos aleatoriamente em três grupos: GRUPO GC (Controle) (n=5) não recebeu Cloreto de Amônio; GRUPO G200 (n=10) (200 mg/Kg) de Cloreto de Amônio por 56 dias consecutivos; Grupo G500 (n=10) (500 mg/Kg) de Cloreto de Amônio por 56 dias consecutivos, administrados diariamente por via oral. Os Momentos (M) de colheita de amostras e avaliação clínica foram realizados com intervalo de sete dias, sendo M0 (imediatamente antes da administração do Cloreto de Amônio), M1 (sete dias após) até M8, totalizando 70 dias de confinamento. As amostras de urina foram analisadas para se identificar a presença, o tipo e a quantidade de cristais. Houve aumento da cristalúria em todos os grupos em relação ao tempo por influência dietética, principalmente no Grupo Controle, que apresentou mais cristais de fosfato de cálcio amorfo e oxalato de cálcio. Além disso, o Grupo G500 apresentou maior presença de cristais de urato/ácido úrico após acidificação urinária, estando estes intimamente relacionados ao pH urinário.

**Palavras-chave:** Urina análise. Sais de Amônio. Cristais. Urina. Urolitíase.

Navarro, F.C. **Crystallurgical profile in sheep after ammonium chloride supplementation**. 2021. 46f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2021.

## SUMMARY

Although urinary crystals are habitual components, urolithiasis formation is always preceded by these concretions. We aimed to identify the change in the crystalline profile in sheep supplemented with ammonium chloride. Twenty-five male sheep, aged three months, feedlot and randomly distributed into three groups were used: CG Group (n = 5) did not receive Ammonium Chloride; G200 Group (n=10) (200 mg / kg) of Ammonium Chloride for 56 consecutive days; G500 Group (n=10) (500 mg / kg) of Ammonium Chloride for 56 consecutive days, administered daily orally. Sampling times and clinical evaluation were performed at seven days, with M0 (immediately before Ammonium Chloride), M1 (seven days after) until M8, totaling 70 days of feedlot. Urine samples were performed to identify the presence, type and quantity of crystals. There was an increase in crystalluria in all groups in relation to time due to dietary influence, mainly in the Control Group, which presented more crystals of amorphous calcium phosphate and calcium oxalate. In addition, the G500 Group presented a higher presence of urate/uric acid crystals after urinary acidification, which are closely related to urinary pH.

**Key Words:** Urine analysis. Ammonium's salts. Crystals. Urine. Urolithiasis.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1A</b>	Cristais de oxalato de cálcio monohidratado (whewellita) .....	24
<b>Figura 1B</b>	Cristais de oxalato de cálcio dihidratado (weddelita).....	24
<b>Figura 2A</b>	Cristais de fosfato de cálcio amorfo.....	25
<b>Figura 2B</b>	Cristais de fosfato de cálcio dihidratado (brushita).....	25
<b>Figura 3</b>	Cristais de fosfato amônio magnesiano (estruvita).....	26
<b>Figura 4A</b>	Cristais de ácido úrico.....	27
<b>Figura 4B</b>	Cristais de ácido úrico amorfo.....	27
<b>Figura 4C</b>	Cristais de ácido úrico.....	27
<b>Figura 5</b>	Porcentagem das amostras com cristais urinários durante os momentos (M) nos grupos experimentais, grupo controle (GC), grupo recebendo 200 mg/Kg (G200) e grupo com administração de 500 mg/Kg (G500) .....	37
<b>Figura 6</b>	Porcentagem e tipos de cristais nas amostras urinárias durante os momentos (M) no grupo controle GC.....	37
<b>Figura 7</b>	Porcentagem e tipos de cristais nas amostras urinárias durante os momentos (M) no grupo G500.....	40

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Composição dos cristais, grau de dependência do pH urinário e sua birrefringência .....22
<b>Tabela 2</b>	Médias ( <i>m</i> ), desvios-padrão ( <i>s</i> ) e medianas ( <i>md</i> ) do pH urinário de ovinos durante os momentos (M) nos grupos experimentais (GC, G200 e G500)..... 35

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>CA</b>	Cloreto de amônio;
<b>Ca</b>	Cálcio;
<b>P</b>	Fósforo;
<b>DCAD</b>	Diferença cátion-aniônica da dieta
<b>Na</b>	Sódio;
<b>H</b>	Hidrogênio;
<b>K</b>	Potássio;
<b>GC</b>	Grupo Controle
<b>G200</b>	Grupo de Estudo submetido ao uso de 200 mg/Kg/dia de Cloreto de Amônio via oral
<b>G500</b>	Grupo de Estudo submetido ao uso de 500 mg/Kg/dia de Cloreto de Amônio via oral
<b>M0</b>	Imediatamente antes do início da ingestão de Cloreto de Amônio (14 dias de confinamento);
<b>M1</b>	7 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (21 dias de confinamento);
<b>M2</b>	14 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (28 dias de confinamento);
<b>M3</b>	21 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (35 dias de confinamento);
<b>M4</b>	28 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (42 dias de confinamento);
<b>M5</b>	35 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (49 dias de confinamento);
<b>M6</b>	42 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (56 dias de confinamento);
<b>M7</b>	49 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (63 dias de confinamento);
<b>M8</b>	56 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (70 dias de confinamento) e fim do confinamento.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	18
2 REVISÃO DA LITERATURA .....	20
2.1 Cristalúria.....	20
2.2 Composição mineral dos cristais urinários .....	22
2.2.1 Cristais de cálcio .....	22
2.2.1.1 Oxalato de cálcio .....	23
2.2.1.2 Fosfato de cálcio .....	24
2.2.2 Fosfato de amônio magnésiano .....	25
2.2.3 Ácido úrico .....	26
2.3 Cloreto de amônio .....	27
2.4 Urinálise .....	29
3 HIPÓTESE .....	30
4 MATERIAIS E MÉTODOS .....	30
4.1 Grupos experimentais e protocolo experimental.....	31
4.2 Colheita de amostras de urina .....	33
4.3 Exame ultrassonográfico .....	33
4.4 Necropsia dos animais .....	34
4.5 Análise estatística .....	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	34
6 CONCLUSÕES .....	42
REFERÊNCIAS .....	43

## 1 INTRODUÇÃO

Há trinta anos era impossível imaginar a criação de ovinos como um negócio organizado e rentável no Brasil. Na época a produção de pequenos ruminantes era vista como atividade secundária (AQUINO NETO et al., 2007). Hoje estima-se que haja um rebanho em torno de 18,9 milhões de cabeças em nosso país.

A intensificação da produção, aliada à comercialização de animais de alto valor genético acarretou profundas alterações no manejo alimentar dos ovinos, desencadeando aumento da ocorrência de doenças nutricionais e metabólicas, e entre as principais se destaca a urolitíase obstrutiva (GUIMARÃES et al., 2012). Considerada como enfermidade de maior importância do trato urinário de ruminantes, afeta particularmente machos, e causa sérios prejuízos econômicos relacionados à saída prematura dos animais da reprodução, gastos com tratamento, morte dos animais afetados e condenação da carcaça em abate emergencial (GUIMARÃES et al., 2012).

O processo patológico caracterizado pela presença de cálculos ou concreções no sistema urinário é denominado urolitíase. A doença torna-se importante clinicamente em ruminantes quando os cálculos causam obstrução do trato urinário, que normalmente ocorre na uretra (CONSTABLE et al., 2016). A ruptura da uretra ou da bexiga ocorrerá em 2-3 dias se a obstrução não for aliviada. Os urólitos ocorrem em animais de qualquer sexo, mas a obstrução raramente ocorre em fêmeas devido à uretra curta, sem flexões e de maior diâmetro. A flexura sigmóide, a curvatura isquiática e o processo uretral dos ovinos e caprinos constituem os locais mais comuns para os urólitos se alojarem e causar obstrução. Ovinos e caprinos castrados em idade precoce são mais susceptíveis, por terem menor desenvolvimento da uretra, que é de menor calibre que a uretra de animais não castrados.

Todas as raças de ovinos são suscetíveis (VAN METRE; DIVERS, 2006), contudo, os ovinos da raça Texel são particularmente eficientes na absorção e excreção de minerais, quando comparados com as raças Suffolk e Blackface,

sendo mais predispostos à urolitíase devido à elevada concentração de minerais na urina (GUIMARÃES et al., 2012).

Os primeiros sinais da urolitíase são anorexia e meteorismo, dor abdominal, fraqueza muscular, apatia, anúria ou disúria com passagem de algumas gotas de urina com sangue (hematúria) após esforço para urinar, dor à palpação da região inguinal, taquicardia, taquipnéia e vasos espisclerais ingurgitados (VAN METRE; DIVERS, 2006). A obstrução uretral não é um resultado da formação de cálculo, mas é predisposta por fatores anatômicos. Após o aparecimento dos sinais clínicos a reversão do quadro é difícil, podendo ser necessário tratamento cirúrgico quando, na grande maioria dos casos, os animais tornam-se inaptos para a reprodução. Tais limitações econômicas, devido à prolongada terapia clínica e ao difícil acesso cirúrgico, frequentemente fazem com que o animal seja descartado. Isto implica em prejuízo econômico ao produtor, pois além do animal, perde-se também material genético de alto valor zootécnico (AQUINO NETO et al., 2007)

Cristais são componentes frequentes do trato urinário e a formação de cálculos é invariavelmente precedida por estas substâncias, podendo levar a obstruções urinárias e consequente necessidade de tratamentos invasivos, com risco de perda renal e óbito (FROCHOT; DAUDON, 2016). Nesse sentido, a prevenção da cristalogênese se torna importante para manutenção da integridade reprodutiva do animal (VAN METRE; DIVERS, 2006; EWOLDT; JONES; MIESNER, 2008).

A utilização do Cloreto de Amônio (CA) em ovinos tem por finalidade promover acidificação urinária e, portanto, diminuir a incidência de urolitíase, já que esses animais desenvolvem urólitos, em decorrência do pH alcalino, sendo, os mesmos, influenciados pela dieta, localização geográfica, restrição hídrica, temperatura, entre outros (VIDELA; VAN AMSTEL, 2016).

A urinálise é um exame barato e acessível, devendo ser realizado por profissional habilitado e em condições ideais, utilizando-se preferencialmente de microscópio com luz polarizada (DAUDON; FROCHOT, 2015).

Hipotetiza-se que a acidificação urinária em ovinos suplementados com CA possa levar a mudanças do perfil cristalúrico, principalmente quanto à presença, o tipo e a quantidade de cristais.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Cristalúria

Cristalúria é um achado frequente durante a urinálise, ocorrendo tanto em condições normais quanto em indivíduos doentes e a sua etiologia pode ser devido a doenças herdadas (cistinúria, hiperoxalúria primária, etc), doenças metabólicas (hipercalcúria, hipocitratúria, etc), uso de determinadas drogas (como antirretrovirais), podendo haver, como consequência, lesão renal aguda ou crônica (DAUDON; FROCHOT, 2015). Além disso, ela fornece indicação natural da propensão à formação de cálculos, justificando dessa forma sua avaliação, principalmente quando há probabilidade de recidiva do urólito e também como forma de controle da eficácia de tratamento prévio.

A urina contém diversos íons e moléculas que formam complexos e mantem a estabilidade urinária, havendo equilíbrio entre solubilização e cristalização. A patogênese da cristalúria envolve desequilíbrio entre substâncias promotoras e inibidoras da cristalização, associada à alteração do pH urinário (SAKHAE; MAALOUF; SINNOTT, 2012). Os principais inibidores são o citrato, pirofosfato, magnésio, glicosaminoglicanas e a proteína de *Tamm-Horsfall*. Já os promotores são substâncias excretadas pelos rins, como cálcio, oxalato, urato e fosfato (HOLMES; ASSIMOS, 2004), cuja concentração excede a capacidade da urina de mantê-los como moléculas solúveis.

Nesse aspecto, o conceito de supersaturação é fundamental - a precipitação dos sais em uma solução supersaturada, associada à atuação ineficiente dos inibidores de agregação, faz com que ocorra nucleação, agregação e crescimento do cristal (SAKHAE; MAALOUF; SINNOTT, 2012), impedindo, dessa forma, que os cristais sejam eliminados pelo fluxo urinário. Associado a isso, pode-se ter formação de cristais de forma heterogênea, com

deposição de diversas substâncias e íons, fenômeno esse extremamente frequente. A agregação, por outro lado, pode ocorrer entre cristais ou entre cristais e a matriz glicoproteica, sendo influenciado principalmente pelo pH e pela saturação urinária.

Se por um lado a formação de cálculos é sempre precedida por cristalúria, o oposto nem sempre é verdadeiro; portanto, pode-se ter cristalúria sem litogênese (WILLIANS et al., 2021). Sabe-se que até 20% de humanos saudáveis apresentam cristalúria sem relevância clínica, portanto não sendo possível diferenciar por si só estes indivíduos daqueles formadores de cálculos (ROBERT et al., 1998). Apesar disso, um grupo de consenso da medicina humana se reuniu recentemente e concluiu que as análises de urina e cálculos devem ser rotineiras no diagnóstico e tratamento de doenças de urólitos, especialmente naqueles indivíduos que apresentam urolitíase de repetição, sendo que atualmente, a urina de 24 h é extremamente utilizada para uma avaliação completa (WILLIANS et al., 2021).

Cristais devem ser examinados utilizando, preferencialmente, um microscópio ótico com luz polarizada para se identificar a sua birrefringência característica e ter sua caracterização correta, especialmente em casos de morfologias incomuns. A técnica empregada na análise é amplamente difundida e de baixo custo, facilitando a rotina diária em grandes laboratórios e centros de pesquisa (DAUDON; FROCHOT, 2015).

O pH da urina é extremamente importante na indução ou na proteção da urolitíase (Tabela 1). Quando alcalino, como em ovinos, variando, o pH, entre 6,0 a 8,8, de acordo com Hendrix (2005) pode favorecer a formação de cálculos de carbonato, fosfato amorfo ou fosfato de cálcio (apatita) e fosfato triplo amônio magnésiano (estruvita), sendo estes os mais frequentes, principalmente pela dieta de animais em sistema de manejo intensivo, que são ricas em grãos que contém magnésio e fósforo (CONSTABLE et al., 2016). Quando ácido, pode favorecer a formação de cristais de ácido úrico.

Outro exemplo de litogênese em pH urinário ácido é o caso da cistina, ocorrendo devido a sua menor solubilidade nessas condições. Desta forma, pode-se adotar a mudança do pH urinário como forma de tratamento, no intuito

de se promover a dissolução química do urólito, através da promoção de maior solubilidade e sua eliminação pelo fluxo urinário. Em humanos, os cristais mais prevalentes são, nesta ordem: oxalato de cálcio, fosfato de cálcio, cálculos de ácido úrico, fosfato amônio magnésiano, cistina, entre outros (SAKHAEI; MAALOUF; SINNOTT, 2012)

**TABELA 1 – Composição dos cristais, grau de dependência do pH urinário e sua birrefringência.**

CRISTAIS	Dependência do pH urinário	pH médio (int.)	Birrefringência (%)
Oxalato de cálcio	Baixa	5.9 (4.8-7.5)	100
Monohidratado	Baixa	5.8 (4.8-7.5)	25
Dihidratado			
Fosfato de cálcio	Alta	6.7 (6.0-8.5)	100
Ortofosfato de cálcio	Alta	6.5 (5.9-8.0)	
Brushite			
Ácido úrico	Moderada	5.5 (4.7-6.5)	100
Ácido úrico amorfo	Alta	5.2 (4.7-6.1)	100
Ácido úrico anidro	Alta	5.2 (4.7-6.3)	
Ácido úrico monohidratado	Alta	5.2 (4.7-6.3)	
Ácido úrico dihidratado			
Uratos			
Urato hidrogênio e amônio	Moderada	7.2 (6.4-9.0)	
Fosfato amônia magnésio			
Estruvite	Alta	7.7 (6.8-9.0)	
Purinas			
Xantina	Moderada	5.6 (4.8-7.2)	
2,8-dihidroxiadenina	Muito baixa	6.2 (4.8-9.0)	
Aminoácidos			
Cistina	Moderada	6.8 (5.0-7.8)	

Daudon M, Frochet V. Crystalluria. Clin Chem Lab Med, 2015

## 2.2 Composição mineral dos cristais urinários

### 2.2.1 Cristais de cálcio

Diversas alterações dietéticas e metabólicas podem levar à cristalúria. Dentre essas alterações existem a hipocitratúria, hiperossalúria, a hiperuricosúria

e a hipercalciúria, sendo esta última podendo ser absorviva, renal, reabsorviva ou idiopática (ROBERT et al., 1998).

A formação dos cálculos de cálcio ocorre pela supersaturação na urina de fosfato ou oxalato associado a algum outro fenômeno indutor de agregação. O principal deles é devido ao depósito de fosfato de cálcio presente no interstício renal, que quando exposto a urina (devido à perda de revestimento urotelial da papila renal), associa-se aos restos proteicos e celulares, dando origem a um núcleo central, com conseqüente agregação e seu desenvolvimento. Esta teoria é a mais aceita atualmente e foi descrita em 1940 por Randall, segundo Garcia-Navarro (2005). Outras hipóteses são mencionadas:

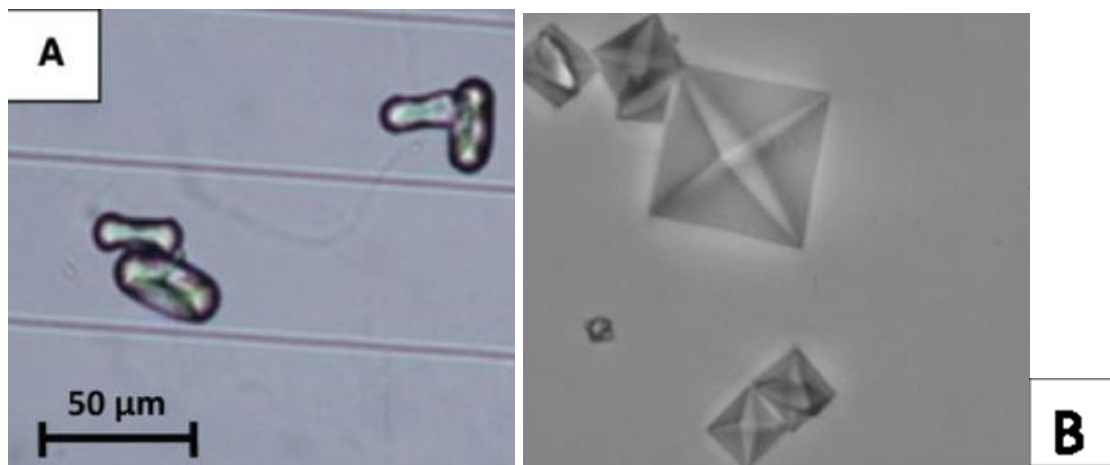
a) Teoria da Partícula Livre, que em casos de supersaturação, os cristais presentes nos túbulos renais se agregariam, obstruindo o ducto coletor e promovendo sua extrusão para a via excretora;

b) Teoria da Partícula Fixa, que se formaria um núcleo no ducto coletor, com migração para sua porção distal, dando origem ao cálculo.

O citrato, por sua vez, atua como componente protetor e quando abundante na urina tem efeito alcalinizante, promovendo solubilização e eliminação dos cristais (ROBERT et al., 1998). A hipocitratúria ocorre em até 60% dos formadores de cálculos de cálcio e pode ser ocasionada por várias condições, como acidose tubular renal distal, bicarbonato e potássio séricos baixo, estados diarreicos crônicos, ingesta proteica elevada e uso crônico de diuréticos (SAKHAE; MAALOUF; SINNOTT, 2012)

### **2.2.1.1 Oxalato de cálcio**

Cristais de oxalato de cálcio monoidratado (whewellita) (Figura 1A) estão frequentemente associados à alta concentração de oxalato, podendo ocorrer com níveis de cálcio normal ou baixo (FROCHOT; DAUDON, 2016). Eles possuem formato oval ou de sino. Por outro lado, cristais de oxalato de cálcio diidratado (weddelita) (Figura 1B), são geralmente associados a hipercalciúria e têm formato bipiramidal (octoedro), sendo estes últimos de dureza maior.



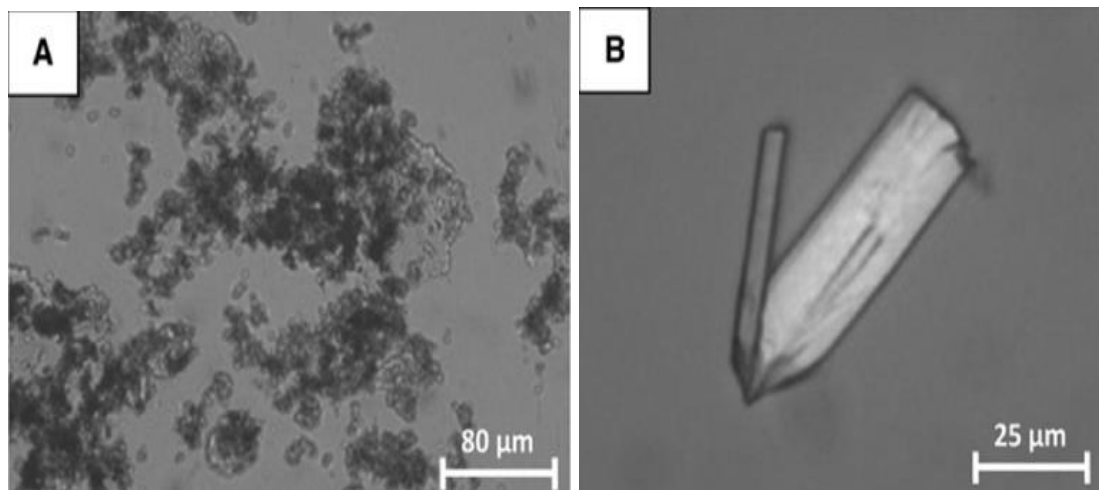
Fonte: Frochot e Daudon, 2016.

**Figura 1. Cristais de oxalato de Cálcio: (A) – Monoidratado (whewellita), (B) – Diidratado (weddelita)**

O oxalato, principal formador de cristais em humanos, é dependente da interação com o cálcio no intestino. Habitualmente, ocorre uma ligação oxalato-cálcio e sua consequente eliminação nas fezes (HOLMES; ASSIMOS, 2004). Em caso de restrição dietética de cálcio, estados diarreicos e *by-pass* intestinal, há maior absorção de oxalato e, consequente, maior excreção urinária, levando à cristalúria (HOLMES; ASSIMOS, 2004).

#### 2.2.1.2 Fosfato de cálcio

A formação de cristais de fosfatos de cálcio (carbonato-apatita e hidroxiapatita – em granulações) (Figura 2A) e brushita (Fosfato de cálcio diidratado – em formato de vara assimétrica) (Figura 2B) são dependes do pH urinário, especialmente quando acima de 6,5.



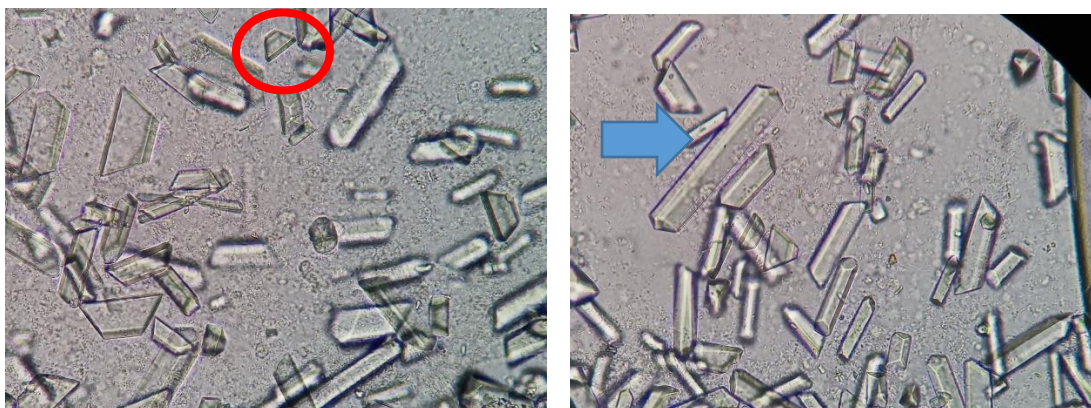
Fonte: Frochot e Daudon, 2016.

**Figura 2. Cristais de Fosfato de Cálcio: (A) – Amorfo, (B) – diidratado (brushita)**

### **2.2.2 Fosfato amônio magnésiano**

Conhecidos como estruvita, são associados ao alto teor de amônio, condição na qual pode estar habitado por bactérias produtoras de urease, como *Proteus sp.*, *E. coli*, *Klebsiella sp.* e *Pseudomonas sp.* resultando na produção de urina alcalina e amônia, mantendo o pH urinário alcalino e proporcionando o desenvolvimento de urólitos que podem ocupar toda a pelve renal, sendo conhecidos como cálculos coraliformes (HEALY; OGAN, 2007). Habitualmente descrito como em formato de tampa de caixa, este tipo de cristal urinário deve ser avaliado sob diversos ângulos para se fazer seu correto diagnóstico microscópico (Figura 3).

A estruvita ganha importância pela sua alta morbidade e dificuldade de tratamento, sendo em geral cirúrgico (HEALY; OGAN, 2007). A incidência de perda renal e óbito é alta, principalmente em imunossuprimidos e diabéticos. Em geral, são cálculos associados a fosfato de cálcio, mas podem se associar a cristais de ácido úrico, mesmo em pH básico (HEALY; OGAN, 2007).

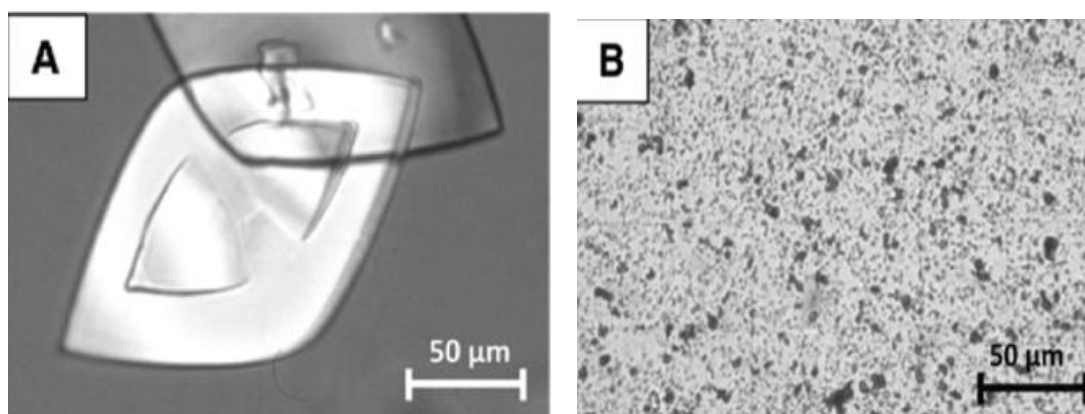


Fonte: Elaborado pelo autor

**Figura 3. Cristais de Fosfato Amônio Magnésiano (Fosfato Triplo ou Estruvita): visão transversal (círculo vermelho), visão longitudinal (seta azul)**

### 2.2.3 Ácido úrico

Estes cristais são altamente dependentes de urina ácida. As formas mais comuns são o diidrato (Figuras 4A e 4C), que assumem forma de losango e o de ácido úrico amorfo (Figura 4B), sendo diferenciado do fosfato amorfo pela sua birrefringência e pelo pH urinário ácido.



Fonte: Frochot e Daudon, 2016.

**C**

Fonte: Elaborado pelo autor

**Figura 4. Cristais de ácido úrico: (A) (C) – diidratado, (B) – amorfo**

### 2.3 Cloreto de amônio

O CA é um sal utilizado frequentemente em ovinos como forma de acidificação urinária e prevenção de urólitos e suas complicações (CONSTABLE, 2016). Ele é convertido em ureia e ácido clorídrico no fígado, havendo maior liberação de íons H<sup>+</sup>, podendo provocar acidose metabólica, sendo excretado nos túbulos renais como forma de compensação da acidemia ou se ligar ao bicarbonato, levando a formação de um ácido instável (ácido carbônico), dissociando-se em água e gás carbônico, que é expelido pela respiração (CONSTABLE, 2016). O cloreto restante e a ureia provocam acidúria, aumento da ingestão de água e diurese osmótica, sendo eliminado na forma de cloreto de sódio (JONES; STREETER; GOAD, 2009).

Além disso, Riet-Correa, Simões e Vasconcelos (2008), sugeriram oferta abundante e fácil acesso à água, associado à frequente limpeza dos cochos, como forma de favorecer a palatabilidade do CA e estimular o consumo pelos animais, além da diminuição da administração de sal mineral em animais

alimentados com grãos, para que se diminua a possibilidade de urolitíase obstrutiva.

O sal mineral contido na dieta pode levar a alteração do pH urinário, levando a litogênese, devendo desta forma ser de uso ocasional e controlado (RIET-CORREA; SIMÕES; VASCONCELOS, 2008). Como alternativa, o CA pode ser utilizado na quantidade de 0,5 a 1% de matéria seca diária, promovendo a redução do pH e tornando minerais calculogênicos mais solúveis na urina, através da promoção de uma dieta aniônica, como proposta por outros autores (STRATTON-PHELPS; HOUSE, 2004).

DCAD é definido como a diferença entre cátions e ânions na dieta (STRATTON-PHELPS; HOUSE, 2004). A adição de ânions pode levar a acidose metabólica pelo aumento compensatório de íons hidrogênio no meio extracelular, que é secretado na urina para manutenção da homeostase (STRATTON-PHELPS; HOUSE, 2004). Jones, Streeter e Goad (2009) estudaram a DCAD em caprinos e obtiveram acidificação urinária com a suplementação do CA, tanto naqueles animais com dieta rica em ânions e até mesmo na dieta sem diferença iônica. Como forma de se diminuir o risco de acidose metabólica, estes autores sugeriram a utilização desta última.

Navarro et al. (2021) utilizaram uma dose de 500 mg/Kg de CA, obtiveram acidificação urinária duradoura a partir de 42 dias de uso, sem apresentar quadro de acidose metabólica (avaliado pela gasometria venosa), nem mesmo urolitíase. Desta forma, o CA se mostrou seguro como forma de prevenção de urolitíase em ovinos, principalmente em cálculos de estruvita e apatita, que são os mais frequentes (VAN METRE; FUBINI, 2006; EWOLDT; JONES; MIESNER, 2008). Como forma de prevenção de complicações, deve-se evitar pH urinário menor de 5,5, principalmente quando utilizado a longo prazo, aumentando a chance de cálculos de pH ácido, como oxalato de cálcio e ácido úrico (STRATTON-PHELPS; HOUSE, 2004).

Por outro lado, Ferreira et al. (2014) induziram a formação de litíase em ovinos tanto no grupo controle, bem como no grupo de estudo com dose de 400 mg/Kg/dia de CA na ração. Apesar disso, os animais que utilizaram o CA

apresentaram menor porcentagem de urólitos quando comparados ao grupo controle e não houve ocorrência de urolitíase obstrutiva em nenhum dos grupos.

## 2.4 Urinálise

A urinálise é um exame que pode demonstrar sinais que sugerem litíase. A coloração da urina, a presença de hemácias, proteínas e a leucocitúria podem ser sinais desta enfermidade (GARCIA-NAVARRO, 2005; CONSTABLE et al., 2016). A presença de cilindros pode significar lesão tubular decorrente da presença de litíase, podendo alterar o pH e o sedimento decorrente da descamação celular (STOCKHAM; SCOTT, 2008).

A colheita da urina pode ser por punção supra-púbica (geralmente em humanos), cateterização ou micção natural. Deve-se avaliar volume, cor, odor, aspecto e densidade no exame físico. O volume pode ser alterado de acordo com o grau de hidratação do animal. A coloração em geral é amarelada por conta de pigmentos urinários, porém pode estar alterada por presença de hemácias ou então esverdeada pela presença de sais biliares. O odor urinário é classificado como *sui generis*, podendo estar alterado em caso de infecção urinária e o aspecto límpido é o mais usual, estando alterado com a presença de cilindros, células de descamação ou mesmos cristais. A densidade urinária é importante como forma de se avaliar a capacidade de concentração renal, podendo estar alterada em casos de injúria, doença renal ou uso de medicamentos, como diuréticos, devendo ser avaliada sempre em conjunto com outros fatores (GARCIA-NAVARRO, 2005).

No exame químico são avaliados pH, presença de proteínas, glicose, cetonas, sangue oculto e pigmentos biliares. O pH dos herbívoros é alcalino, podendo estar ácido em caso de infecção urinária, acidose metabólica, respiratória ou administração de CA. As proteínas em geral são repelidas pela sua carga negativa no glomérulo, porém algumas de baixo peso molecular passam em direção aos túbulos renais e são reabsorvidas. Em caso de enfermidades como a pielonefrite ou doença renal crônica, há presença de proteínas abundantes na urina (STOCKHAM; SCOTT, 2008).

A glicose é reabsorvida nos túbulos renais, porém pode estar presente na urina em situações que há hiperglicemia ou déficit na absorção tubular. Em ovinos, pode haver glicosúria, aumento da densidade urinária e acidúria devidos à acidose láctica rumenal (ARAÚJO et al., 2009).

A hemoglobinúria pode decorrer de obstrução urinária ou lesão glomerular, podendo ser diferenciada pela presença de cilindros hemáticos ou então pelo dismorfismo eritrocitário. Ela pode também estar presente devido aos processos inflamatórios do prepúcio, bem como os leucócitos, que em quantidade exacerbada, se suspeita de infecção do trato urinário, devendo-se realizar punção vesical asséptica para realização de urocultura confirmatória (GARCIA-NAVARRO, 2005).

Os cilindros podem ser hialinos pela deposição de proteínas nos túbulos renais, leucocitário ou hemáticos. Os hialinos podem estar presentes na urina e não necessariamente significar doenças, porém os outros frequentemente indicam alteração urinária. A cristalúria é definida como a presença de cristais no sedimento urinário e podem ser úteis, principalmente quando em grande quantidade, para suspeição de litíase urinária. Esses cristais urinários dependem do pH urinário e da presença de determinadas substâncias, como o ácido úrico (ARAÚJO et al., 2009).

### **3 HIPÓTESE**

A acidificação urinária em ovinos suplementados com Cloreto de Amônio (CA) promove mudanças do perfil cristalúrico, principalmente quanto à presença, o tipo e à quantidade de cristais urinários?

### **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP de Araçatuba, processo FOA nº. 2015-00635–CEUA. Foram utilizados 25 ovinos, machos, não castrados, das raças Dorper, Santa Inês e Morada Nova, com idade aproximada

de três meses, confinados, distribuídos de forma aleatória em três grupos: GC (n=5) controle, G200 (n=10) 200 mg/Kg de CA/animal/dia e G500 (n=10) 500 mg/Kg de CA/animal/dia ao longo de 56 dias.

Os Grupos experimentais (G200, G500 e GC) foram avaliados quanto à incidência de cristais durante todo o experimento de acordo com o protocolo abaixo, divididos nos seguintes momentos (M), a saber:

**M0** - Antes do início da ingestão de CA (14 dias de confinamento);

**M1** - 7 dias de ingestão de CA nos grupos G200 e G500 (21 dias de confinamento);

**M2** - 14 dias de ingestão de CA nos grupos G200 e G500 (28 dias de confinamento);

**M3** - 21 dias de ingestão de CA nos grupos G200 e G500 (35 dias de confinamento);

**M4** - 28 dias de ingestão de CA nos grupos G200 e G500 (42 dias de confinamento);

**M5** - 35 dias de ingestão de CA nos grupos G200 e G500 (49 dias de confinamento);

**M6** - 42 dias de ingestão de CA nos grupos G200 e G500 (56 dias de confinamento);

**M7** - 49 dias de ingestão de CA nos grupos G200 e G500 (63 dias de confinamento);

**M8** - 56 dias de ingestão de CA nos grupos G200 e G500 (70 dias de confinamento);

#### **4.1 Animais e ambiente de experimentação**

Utilizou-se o modelo desenvolvido por Ferreira et al. (2014), sendo modificado nos seguintes aspectos, tais como: administração individual de CA; maior dose administrada; não fornecimento de sal mineral à dieta, evitando-se, com isso, alteração ou influência no pH urinário aferido; e, por fim, maior tempo de avaliação (56 dias).

Todos os animais foram desverminados (vermifugados)<sup>1</sup> e vacinados contra clostridioses<sup>2</sup>. Previamente, foram adaptados ao ambiente no qual ocorreria o desenvolvimento do trabalho (região noroeste do Estado de São Paulo) por cerca de 14 dias, quer seja em relação às condições de umidade, temperatura e luminosidade, por período total de 70 dias de confinamento. A área do local era de 730 metros quadrados, correspondendo a 29,2 metros quadrados por animal, com limpeza diária do local

Às terças-feiras foram realizadas a pesagem dos animais visando estabelecer a quantidade de CA que seria administrado na semana, bem como o exame físico de todos os animais, tais como frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura retal (TR) e movimentos ruminais (MR), visando avaliar o estado de higidez dos animais, segundo as recomendações de Feitosa (2020). Às quartas-feiras foram colhidas amostras de urina e sangue de todos os animais, sendo as amostras mantidas e armazenadas em ambiente refrigerado, com posterior (e imediata) entrega ao laboratório para realização das análises. Às quintas-feiras foram realizadas a avaliação ultrassonográfica de todos os animais. O CA foi administrado por via oral diariamente, baseado no peso e no grupo estudado, sendo diluído em 20 mL de água destilada. Os animais do GC receberam, tão somente, 20 mL de água destilada.

A alimentação era fornecida diariamente pela manhã em uma proporção de 0,5m de cocho/animal. Não foi fornecido sal mineral. A água era disponibilizada em dois cochos, *ad libitum*, sendo proveniente da empresa SAMAR (Soluções Ambientais de Araçatuba).

Foi utilizada ração comercial (LB Dieta total para ovinos) e amostrada conforme orientação da empresa de análise (ARASOLO – [www.arasolo.com.br](http://www.arasolo.com.br)), que foi submetida à análise bromatológica, sendo caracterizada pelos seguintes níveis em MS: 16,19% de proteína bruta, 3,27% de extrato etéreo, 15,67% de fibra bruta e 5,87% de minerais. Foram realizadas análise dos minerais da ração total utilizada no experimento. As dosagens de cálcio e fósforo foram de 12.900 ppm e 2.400 ppm de MS, respectivamente, o que

<sup>1</sup> Zolvix, Novartis Saúde Animal. <sup>2</sup> Glanvac 6, Fort Dodge Saúde Animal, Campinas-SP

resultou em uma proporção de Ca:P de 5:1. O consumo médio diário de ração foi de 3% do PV, com média durante todo o período experimental de 1,15kg de ração total/dia/animal.

Procedia-se à avaliação clínica, laboratorial (sangue e urina) e ultrassonográfica semanal, sempre no período das 7h às 9h da manhã.

## **4.2 Colheita de amostras de urina**

Foram realizadas com micção natural ou forçada, interrompendo-se a respiração com oclusão das narinas durante 10 a 20 segundos, conforme descrito por Garcia-Navarro (2005). As amostras eram acondicionadas em frascos estéreis, armazenadas em refrigeração de 4 a 8°C por até 2h após a sua colheita e processadas em sempre pelo mesmo pesquisador.

Foram avaliados volume (mL), cor, odor, aspecto, densidade, pH, proteínas, glicose, acetona, urobilinogênio, sangue oculto e sais biliares através de fita reagente. A urina (5mL) era centrifugada a 7000 rotações por minuto por cinco minutos, desprezando o sobrenadante, restando 0,5 mL de urina para análise do sedimento, incluindo identificação de células do trato urinário, hemácias e leucócitos, além de cilindros, cristais, bactérias e muco, através de microscopia ótica com luz polarizada, com aumento de 400 vezes.

Os cristais urinários encontrados foram classificados de acordo com a sua quantidade em: raros (inferior a 10 cristais por campo), frequentes (10 a 30 cristais por campo) e numerosos (acima de 30 cristais por campo) e identificados de acordo com sua birrefringência e formato.

## **4.3 Exame Ultrassonográfico**

Foi utilizado aparelho de ultrassom portátil DP-2200 Vet Mindray, com transdutor convexo e frequência de 5,0 MHz, em maca veterinária, após contenção manual, em decúbito contralateral ao rim avaliado, assumindo posição dorsal quando da avaliação da bexiga e com os membros pélvicos abduzidos (STOCKHAM; SCOTT, 2008). Caso houvesse suspeita de obstrução

uretral, nova avaliação era realizada. Utilizou-se gel condutor no transdutor para melhor avaliação. As imagens foram gravadas e analisadas no momento e posteriormente de forma rigorosa.

#### **4.4 Necropsia dos animais**

Os animais, amostrados em cada grupo, em número de três, foram necropsiados após o período de estudo, visando, preferencialmente, verificar, ou não, alterações do sistema urinário. O protocolo utilizado foi: 0,2mg/kg de xilazina, via intravenosa, para a sedação. Após entrar em decúbito, fez-se 10mg/kg de tiopental (solução a 5%), via intravenosa. Em seguida injetou-se 1mL/kg de cloreto de potássio (ampola de KCl a 19,1%, 2,5mEq/mL), via intravenosa.

#### **4.5 Análise Estatística**

Os dados da urinálise foram analisados pelo Software Action 2.7 (Portal Action – Estaticamp), com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

Seguindo o trabalho de Ferreira et al. (2014), utilizaram-se os mesmos testes estatísticos. As variáveis contínuas eram analisadas pelo teste de Kruskal-Wallis para identificar diferenças entre os grupos dentro do mesmo momento de colheita (M) e, quando houvesse diferença estatisticamente significativa, verificada através do teste post-hoc de Dunn. As medianas foram avaliadas pelo teste de Friedman ao longo dos oito momentos, a saber: Urinálise: volume, densidade e pH. As variáveis categóricas foram avaliadas pelo teste do Qui-quadrado: Urinálise: cor, aspecto, proteína, sangue, bactérias, cristais, cilindros, muco, hemácias e leucócitos.

### **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os dados do presente estudo foram colhetados do experimento realizado anteriormente (NAVARRO, 2016) e publicado recentemente

(NAVARRO et al., 2021). Os animais se mantiveram durante todo o experimento sem alterações ao exame físico (FC, FR, MV e TR), excetuando-se um animal que foi a óbito do G500, no M6. Este cordeiro iniciou com ataxia, redução de motilidade rumenal, apatia e foi submetido à administração de Vitamina B1 e B12, associado à dexametasona, devido à hipótese diagnóstica de poliencefalomalácia, e não respondeu à terapia. Foi submetido à necropsia (N313-16) com laudo de pneumonia aguda, enterite subaguda e necrose tubular multifocal discreta a moderada.

A média de ganho de peso diário se manteve dentro do habitual em todos os grupos experimentais, sem interferência mesmo no grupo que recebeu a dose de 500 mg/Kg por dia/animal, corroborando estudos prévios (FERREIRA et al., 2014).

Todos os parâmetros urinários analisados se mantiveram dentro dos limites da normalidade em todos os grupos, com pequenas variações e sem significância estatística, exceto o pH urinário (Tabela 2), a contagem e os tipos de cristais urinários.

**TABELA 2. Médias (*m*), desvios-padrão (*s*) e medianas (*md*) do pH urinário de ovinos durante os momentos (M) nos grupos experimentais, grupo controle (GC), grupo recebendo 200 mg/Kg (G200) e grupo com administração de 500 mg/Kg (G500).**

	GC (n=5)		G200 (n=10)		G500 (n=10)	
	<i>m</i> ± <i>s</i>	<i>Md</i>	<i>m</i> ± <i>s</i>	<i>Md</i>	<i>m</i> ± <i>s</i>	<i>Md</i>
<b>M0</b>	9,0 ± 0,00	9,0 <sup>Aa</sup>	8,7 ± 0,95	9,0 <sup>Aa</sup>	8,6 ± 1,26	9,0 <sup>Aa</sup>
<b>M1</b>	8,5 ± 1,11	9,0 <sup>Aa</sup>	8,1 ± 1,00	8,0 <sup>Aa</sup>	7,0 ± 1,70	6,8 <sup>Bb</sup>
<b>M2</b>	9,0 ± 0,00	9,0 <sup>Aa</sup>	9,0 ± 0,00	9,0 <sup>Aa</sup>	8,5 ± 1,30	9,0 <sup>Aa</sup>
<b>M3</b>	9,0 ± 0,00	9,0 <sup>Aa</sup>	6,3 ± 1,70	5,5 <sup>Bb</sup>	6,3 ± 1,49	6,0 <sup>Bb</sup>
<b>M4</b>	9,0 ± 0,00	9,0 <sup>Aa</sup>	8,7 ± 0,90	9,0 <sup>Aa</sup>	8,6 ± 1,30	9,0 <sup>Aa</sup>
<b>M5</b>	9,0 ± 0,00	9,0 <sup>Aa</sup>	9,0 ± 0,00	9,0 <sup>Aa</sup>	8,3 ± 1,49	9,0 <sup>Aa</sup>
<b>M6</b>	8,1 ± 0,41	8,0 <sup>Aa</sup>	8,2 ± 0,35	8,5 <sup>Aa</sup>	6,6 ± 1,05	6,2 <sup>Bb</sup>
<b>M7</b>	8,1 ± 0,22	8,0 <sup>Aa</sup>	7,4 ± 0,95	7,7 <sup>Ba</sup>	6,2 ± 1,06	6,0 <sup>Bb</sup>
<b>M8</b>	8,7 ± 0,62	9,0 <sup>Aa</sup>	8,5 ± 0,54	9,0 <sup>Aa</sup>	6,3 ± 1,80	5,0 <sup>Bb</sup>

<sup>ab</sup> Diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos, no mesmo momento.

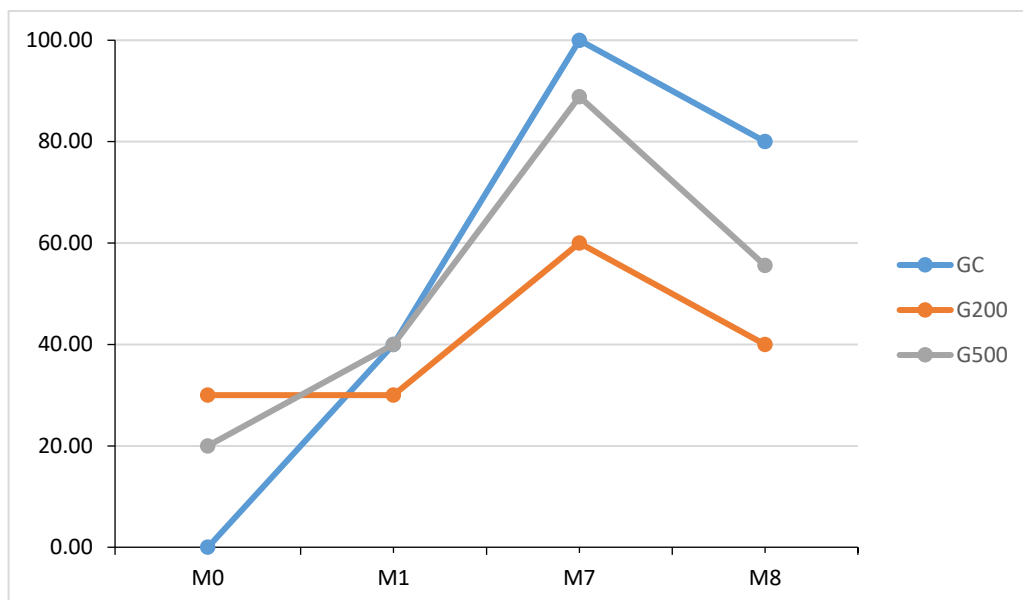
<sup>AB</sup> Diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os momentos, no mesmo grupo.

O pH urinário do GC apresentou com pouca variação durante todo o estudo, ao contrário do que ocorreu com os G200 e G500. No início do

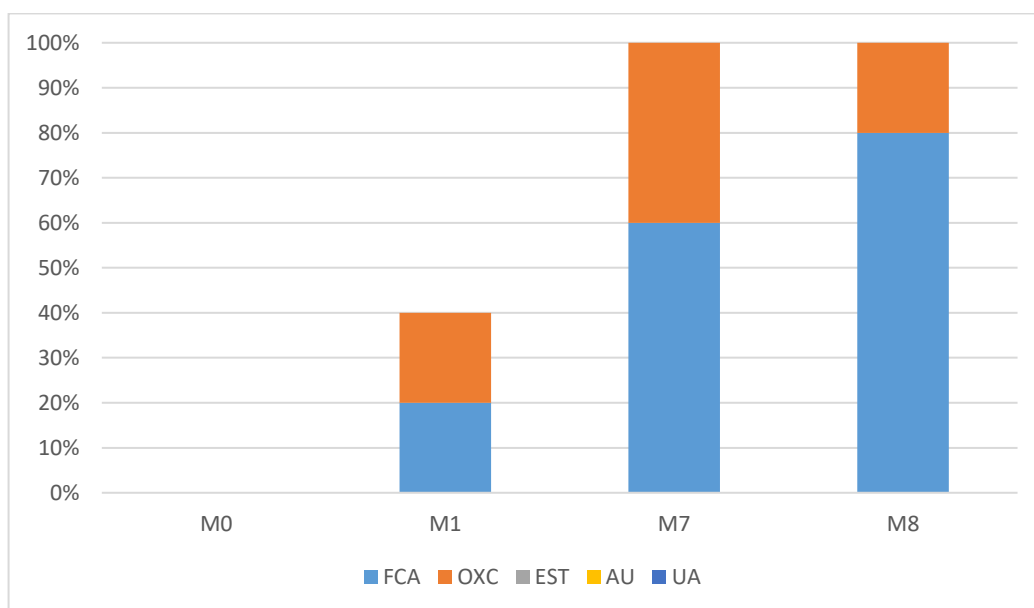
experimento e sem a administração do CA foi observado o pH alcalino da urina em todos os grupos, que é o habitual em ovinos. No M1 do G500 houve acidificação urinária e durante o M3, o G200 e o G500 apresentaram acidificação urinária, porém sem manutenção, cujos motivos carecem de maior investigação. Houve acidificação urinária permanente no G500 a partir do M6, tendo-se mantido comportamento similar até final do experimento, corroborando com os achados de Mavangira et al. (2010), que encontraram acidificação urinária por mais de 24 horas com a utilização dessa dose.

Foi observado aumento do número de cristais urinários em todos os grupos ao longo do estudo (Figura 5), especialmente no Grupo Controle, que iniciou o experimento sem a presença de cristais, tendo evoluído para até 100% dos animais acometidos (M7) e terminando o estudo com 80% deles com cristais (Figura 6), principalmente de Fosfato de Cálcio Amorfo (80% no M8) e de oxalato de cálcio (20% no M8). A presença e o tipo de cristais, bem como a interferência do meio urinário (ácido ou alcalino), podem determinar a formação de litíase (GARCIA-NAVARRO, 2005). Nesse aspecto, a dieta principalmente pela ingestão de proteínas e sal, pode influenciar o tipo de cristais. Esse aumento da quantidade de cristais deve ter ocorrido provavelmente pelo desequilíbrio encontrado na análise bromatológica da dieta fornecida, já que apresentava relação Ca:P – 5:1, muito além do recomendado, podendo levar à calciúria e conseqüentemente à formação de cristais dependentes dos níveis de cálcio, como no caso dos animais do GC, tendo apresentado cristais de cálcio em todos os animais ao final do estudo.

**FIGURA 5. Porcentagem das amostras de urina com cristais em ovinos durante os momentos (M) nos grupos experimentais, grupo controle (GC), grupo recebendo 200 mg/Kg (G200) e grupo com administração de 500 mg/Kg (G500).**



**FIGURA 6. Porcentagem e tipos de cristais nas amostras urinárias de ovinos durante os momentos (M) no grupo controle (GC)**



Legenda: FCA – Fosfato de Cálcio Amorfo, OXC-Oxalato de Cálcio, EST-Estruvita, AU-Ácido Úrico, UA-Urato Amorfo

Quando se utiliza de dietas ricas em grãos e fósforo, pode-se haver aumento de urólitos de estruvita. Jones, Roussel e Ramsey (2015), desenvolveram um modelo experimental em cabras comprovando essa afirmação, utilizando-se de uma proporção de 1:1.5 Ca:P. Santarosa et al. (2016) também encontraram uma predominância de cristais de estruvita nas amostras de urina do grupo controle quando comparado ao grupo que recebeu CA. Apesar da relação Ca:P ser favorável a indução de urólitos deste tipo (1:1,33), isto ocorreu apesar dos animais já terem iniciado o estudo com pH ácido. Este tipo de cristal foi visualizado em 7,5% (21/280) das amostras de urina dos animais do grupo CA e em 25,7% (36/140) do grupo controle, sugerindo efeito protetor do CA. Mavangira et al. (2010) também observaram maior quantidade de cristais (estruvita e oxalato de cálcio) em animais que não receberam o CA (27% X 8%), demonstrando efeito protetor na cristalogênese nos animais suplementados. Além disso, quando analisada a quantidade de cristais nas amostras, apenas o grupo controle obteve-se numerosos cristais na urina. No entanto, os autores não realizaram a avaliação das amostras de urina pré-tratamento, dificultando sua interpretação.

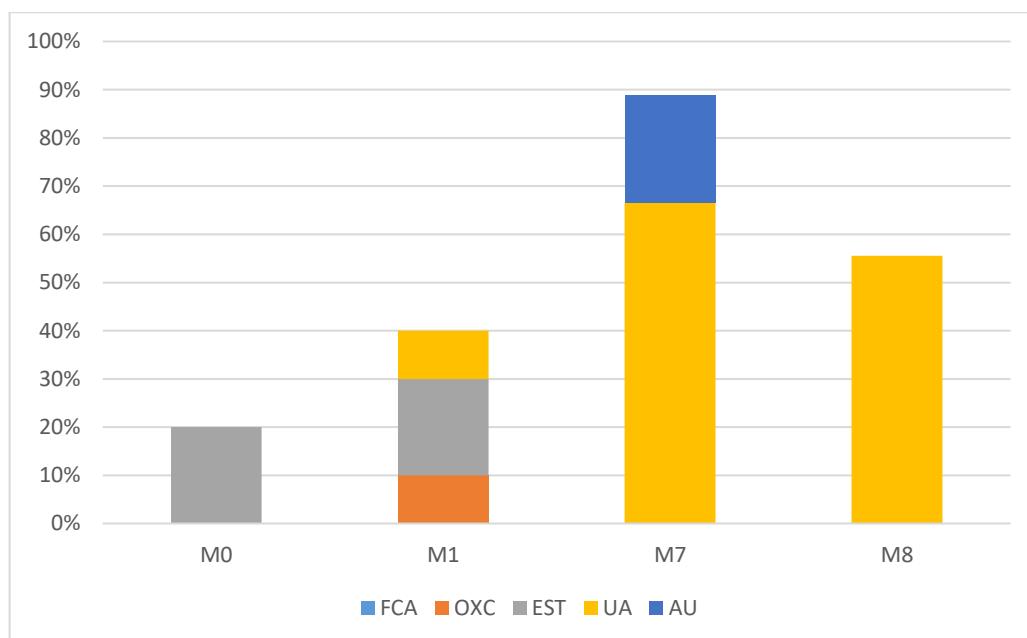
Riet-Correa, Simões e Vasconcelos (2008) sugeriram a utilização de CA como forma de acidificar a urina, além de evitar a precipitação de fosfatos, devendo porém, haver uma relação em torno de Ca:P 2:1. Adicionalmente, o cloreto de sódio pode ser utilizado em proporção de até 4% da ração, como forma de estimular a diurese, devendo-se, entretanto, evitar a utilização de sal mineral pela alta concentração de fósforo e magnésio. A acidificação da dieta aumenta a produção de urina diluída e diminuição da concentração de precursores na mesma, principalmente como forma de prevenir cálculos de estruvita e fosfato de cálcio (EWOLDT; JONES; MIESNER, 2008). Stratton-Phelps, House (2004) e Jones, Streeter e Goad (2009) têm adotado estratégias de modificação dietética, utilizando-se de dieta aniônica como forma de acidificação urinária, principalmente considerando a frequência de cálculos de estruvita.

Ocorre, porém, que essa estratégia predispõe ao aumento da calciúria e, conseqüentemente, maior risco de cálculos de cálcio (STRATTON-PHELPS; HOUSE, 2004; MAVANGIRA et al., 2010). Esses últimos obtiveram pH urinário menor de 6,5 em caprinos com dose de 450mg/Kg de CA/dia e observaram maior excreção de cálcio urinário nesses animais, o que sugere que possa ter ocorrido também no presente estudo pela associação do CA à dieta com proporção Ca:P aumentada, porém não foi observado o aparecimento de cristais de cálcio no G500, provavelmente pelo efeito da acidificação urinária. Em estudo recente, Jones et al. (2017) analisaram a composição química de urólitos de cabras e ovinos com urolitíase obstrutiva através de cristalografia ótica e espectroscopia infravermelha e descobriram alta associação de cálcio a cálculos de estruvita (13/36). A presença de cálcio em cálculos que inicialmente se esperava ser apenas de estruvita, a composição mais comumente relatada em obstrução urinária de pequenos ruminantes que consomem dieta rica em grãos pode promover mudanças na tomada de decisão terapêutica em tais casos, principalmente em termos de mudança de pH urinário (CONSTABLE et al., 2016). Desta forma, sugere-se que a acidificação seja monitorizada com urinálise de repetição e por período determinado para se diminuir as chances de complicações.

No início deste estudo, antes da administração do CA, 20% dos animais do G500 apresentavam cristais de estruvita (Figura 7), que são comuns em meio alcalino, tendo desaparecidos ao final do estudo, quando foram constatados cristais de ácido úrico e urato amorfo em abundância nesse grupo após a acidificação urinária. Esses cristais são extremamente dependentes do pH ácido, sendo, desta forma, raros em ovinos. Se por um lado essa estratégia contribuiu para profilaxia dos cristais mais comuns em ovinos (estruvita, fosfato) (MAVANGIRA et al., 2010; FERREIRA et al., 2014), pode-se incorrer no desenvolvimento de cristais baseados em urato/ácido úrico e, potencialmente, se desenvolverem cálculos levando aos quadros obstrutivos urinários. De acordo com este estudo, sugere-se fortemente que a partir da indução de pH ácido, haja monitoramento de rotina da urina por meio de urinálise (principalmente de ovinos em confinamento, com dieta rica em grãos

e história de formação de cálculos) para que a acidificação seja imediatamente interrompida caso se identifique potenciais prejuízos, atuando de forma profilática. Além disso, sugere-se que a acidificação urinária deva ser realizada por período breve, diminuindo a chance de complicações dessa terapêutica. De qualquer forma, estudos adicionais de longo prazo são necessários para confirmação dessa hipótese.

**FIGURA 7. Porcentagem e tipos de cristais nas amostras urinárias de ovinos durante os momentos (M) no grupo G500.**



Legenda: FCA – Fosfato de Cálcio Amorfo, OXC-Oxalato de Cálcio, EST-Estruvita, AU-Ácido Úrico, UA-Urato Amorfo

No estudo em tela não se observou formação de urólitos nos rins e vias urinárias, avaliados por ultrassonografia e nem mesmo pela necropsia por amostragem de animais de todos os grupos. Diferentes achados tiveram Ferreira et al. (2014) que observaram a formação de cálculos nos três grupos (23/100 dos casos), sendo percentualmente maior no grupo controle, demonstrando maior proteção com o uso do CA na prevenção de urolitíase. Deve-se ressaltar que foi obtida acidificação urinária desde o início do experimento em todos os grupos, provavelmente provocada pela dieta rica em

grãos, com pouco volumoso e a utilização de sal mineral *ad libitum*. Além disso, a análise química dos cálculos encontrados em necropsia demonstrou grande quantidade de cálcio nas amostras, apesar de ter sido identificada grande quantidade de cristais de estruvita. Esse fato infere a possibilidade de litíase mista, corroborando os achados de Jones et al. (2017).

A prevenção de urólitos e suas complicações é medida de extrema importância. Para tanto, deve-se utilizar a urinálise e a avaliação da presença de cristais, bem como do seu tipo e da sua quantidade. Entretanto, a presença de cristais isoladamente não é diagnóstico conclusivo da presença de litíase, pois alguns pacientes sem cálculos têm cristais na urina (ROBERT et al., 1998), embora esses cristais, sejam relatados como menores e menos agregados quando comparados aos encontrados nas amostras de urina de formadores de cálculos de repetição. Um estudo em humanos avaliou 188 pacientes com múltiplas amostras de urina e mostrou que ter 50% ou mais amostras de urina com cristais era preditivo de recidiva de cálculo com sensibilidade de 88% e uma especificidade de 84% (DAUDON et al., 2005). Esses autores propuseram um “índice de cristalúria” definido como a razão do número de amostras de urina contendo cristais sob o número total de amostras examinadas em um determinado paciente. Um índice de cristalúria  $> 0,50$  pode ser um indicativo de persistente atividade litogênica e risco de recorrência de litíase. Mesmo porque, em pacientes formadores de cálculos, o desaparecimento da cristalúria indica que a atividade litogênica está sob controle, principalmente em urólitos de cálcio ou ácido úrico (DAUDON; FROCHOT, 2015). Nessas condições, diminuição na quantidade de cristais presentes em amostras de urina muitas vezes é suficiente para reduzir o processo litogênico.

A presença de cristais na urina evidencia que o equilíbrio entre solutos e promotores de um lado e os inibidores da cristalização do outro, tem inclinado para a precipitação. Como tal, a cristalúria pode fornecer evidências da propensão da urina para formação de litíase (FROCHOT; DAUDON, 2016). Daudon et al. (2005) estudaram em humanos a presença de cristalúria em amostra de urina de rotina em pacientes com nefrolitíase assintomáticos com aqueles que já tinham apresentado ao menos um quadro de crise renal e

mostraram maior incidência de cristais nesses últimos, sugerindo que a busca em série por cristais deve ser ferramenta útil nesses casos. Além disso, a investigação de cristalúria é uma ferramenta barata e valiosa para a detecção e monitoramento de doenças herdadas e adquiridas associadas à formação de urólitos ou comprometimento da função renal aguda ou crônica e devido a precipitação de cristais (FROCHOT; DAUDON, 2016). Desta forma, a pesquisa sobre novos métodos (como a automatização da contagem de cristais), a padronização de critérios de notificação e de como aplicar resultados de exames para diagnóstico e tratamento do paciente serão importantes para difusão da determinação cristalúrica no tratamento da litíase (WILLIANS et al., 2021).

Dessa forma, houve a confirmação da hipótese que nas condições do presente estudo naqueles animais suplementados (G500) após acidificação urinária quanto à mudança do tipo e a quantidade de cristais. Como fatores limitantes pode-se citar as três diferentes raças de ovinos estudados, a acidificação urinária isolada no G200 e G500 no M3, sem uma explicação tão evidente e a obtenção da acidificação apenas após 42 dias da ingestão de CA.

## **6 CONCLUSÕES**

- 1) Constatou-se aumento da incidência de cristais urinários em relação ao tempo em todos os grupos estudados, principalmente no GC;
- 2) O grupo 200 (G200) não apresentou acidificação urinária permanente;
- 3) A acidificação urinária obtida pela suplementação de cloreto de amônio no G500 promoveu maior formação de cristais, em decorrência do pH ácido, como ácido úrico e urato.

## REFERÊNCIAS

AQUINO NETO, H.M.; FACURY FILHO, E.J.; CARVALHO, A.U.; SOUZA, F.A.; JORDÃO, L.R. Urolitíase obstrutiva em ovinos: revisão de literatura. **Vet. Foco**, v.4, n.2, 2007.

ARAÚJO, P.B.; PEREIRA, D.S.; TEIXEIRA, M.N.; COELHO, M.C.O.C.; ALENCAR, S.P. Urinálise como instrumento auxiliar no diagnóstico de enfermidades em pequenos ruminantes. **Med Vet**, Recife, v.3, n.2, p.30-38, 2009.

CONSTABLE, P.D.; HINCHCLIFF, K.W.; DONE, S.H.; GRUENBERG, W. **Veterinary Medicine**. 11ed. Philadelphia: Saunders, 2016. 2278 p.

DAUDON, M.; HENNEQUIN, C.; BOUJELBEN, G.; LACOUR, B.; JUNGERS, P. Serial crystalluria determination and the risk of recurrence in calcium stone formers. **Kidney Int**. v. 67, p.1934-43, 2005.

DAUDON, M.; FROCHOT, V. Crystalluria. **Clin Chem Lab Med**. v. 53 Suppl 2, p.1479-87, 2015.

EWOLDT, J.M.; JONES, M.L.; MIESNER, M.D. Surgery of Obstructive Urolithiasis in Ruminants. **Vet Clin Food Anim**, v. 24, p. 455-465, 2008.

FEITOSA, F.L.F. Semiologia Veterinária – A Arte do Diagnóstico. São Paulo: Editora Roca, 2020, 644p.

FERREIRA, D.O.L.; SANTAROSA, B.P.; SACCO, S.R.; DIAS, A.; AMORIM, R.M.; CHIACCHIO, S.B.; LISBOA, J.A.N.; GONÇALVES, R.C. Efeito da suplementação de cloreto de amônio sobre o equilíbrio ácido-básico e o pH urinário de ovinos confinados. **Pesq Vet Bras**. v. 34, p. 797-804, 2014.

FROCHOT V.; DAUDON M. Clinical value of crystalluria and quantitative morphoconstitutional analysis of urinary calculi. **Int J Surg.** v.36, p. 624-632, 2016.

GARCIA-NAVARRO, C.E.K. **Manual de Urin Vet.** São Paulo: Varela, 2005, 95p.

GUIMARÃES, J.A.; MENDONÇA, C.L.; GUARANÁ, E.L.S.; DANTAS, A.C.; COSTA, N.A.; CÂMARA, A.C.L.; FARIAS, C.C.; AFONSO, J.A.B. Estudo retrospectivo de 66 casos de urolitíase obstrutiva em ovinos. **Pesq. Vet. Bras.** v.32, p.824-830, 2012.

HEALY, K.A.; OGAN, K. Pathophysiology and management of infectious staghorn calculi. **Urol Clin North Am.** v. 34, p. 363-74, 2007.

HENDRIX C.M. 2005. Procedimentos Laboratoriais para Tecnicos Veterinários. 4th ed. Rocca, São Paulo. 568p

HOLMES, R.P.; ASSIMOS, D.G. The impact of dietary oxalate on kidney stone formation. **Urol Res.** v. 32, p. 311-6, 2004.

JONES, M.L.; STREETER, R.N.; GOAD, C.L. Use of dietary cation anion difference for control of urolithiasis risk factors in goats. **AJVR**, v.70, n.1, p. 149-155, 2009.

JONES, M.L.; ROUSSEL, A.J.; RAMSEY, W.S. Development of a zinc implant-based model for urolithiasis in goats. **Small Ruminant Research** v.127, p 97-101, 2015.

JONES, M.L.; GIBBONS, P.M.; ROUSSEL, A.J.; DOMINGUEZ, B.J. Mineral Composition of Uroliths Obtained from Sheep and Goats with Obstructive Urolithiasis. **J Vet Intern Med.** v. 31, p.1202-1208, 2017.

MAVANGIRA, V.; CORNISH, J.M.; ANGELOS, J.A. Effect of ammonium chloride supplementation on urine pH and urinary fractional excretion of electrolytes in goats. **J. Am. Vet. Med. Ass.**, v.237, p. 1299-1304, 2010.

NAVARRO, F.C. **Utilização do Cloreto de Amônio na prevenção de urolitíase em ovinos**. 2016. 70f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2016.

NAVARRO, F.C.; BENTIN, L.A.T.; BOVINO, F.; BAPTISTA, R.S.; FEITOSA, F.L.F.; PEIRÓ, J.R.; MENDES, L.C.N. Use of ammonium chloride to prevent urolithiasis in sheep. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.73, n.4, p.834-842, 2021.

RIET-CORREA, F.; SIMÕES, S.V.D.; VASCONCELOS, J.S. Urolitíase em caprinos e ovinos. **Pesq. Vet. Bras.**, v.28, n.6, p. 319-322, 2008.

ROBERT, M.; BOULARAN, A.M.; DELBOS, O; GUITER, J; DESCOMPS, B. Study of calcium oxalate crystalluria on renal and vesical urines in stone formers and normal subjects. **Urol Int.** v. 60, p. 41-6, 1998.

SANTAROSA, B.P.; FERREIRA, D.O.L.; RODRIGUES, M.M.P.; DANTAS, G.N.; SACCO, S.R.; LOPES, R.S.; DIAS A. & GONÇALVES, R.C. Avaliação clínica, laboratorial e anatomopatológica do sistema urinário de ovinos confinados com ou sem suplementação de cloreto de amônio. **Pesq. Vet. Bras.** v. 36, p. 1-12, 2016.

SAKHAEI, K; MAALOUF, N.M.; SINNOTT, B.; Clinical review. Kidney stones 2012: pathogenesis, diagnosis, and management. **J Clin Endocrinol Metab.** v. 97, p. 1847-60, 2012.

STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. Urinary System. In: STOCKHAM, S.L., SCOTT, M.A. **Fund Vet Clin Pat.** 2a ed. Iowa: Blackwell, p. 908, 2008.

STRATTON-PHELPS, M.; HOUSE, J.K. Effect of a commercial anion dietary supplement on acid-base balance, urine volume and urinary ion excretion in male goats fed oat or grass hay diets. **AJVR**. v.65, n.10, p. 1391-1397, 2004.

VAN METRE, D.C.; DIVERS, T. J. Urolitíase. In: SMITH, B. P. **Med Int Gr Anim**. 3.ed. Barueri: Manole, 2006, p.853-860.

VAN METRE, D.C.; FUBINI, S.L. Ovine and Caprine Urolithiasis. Another Piece of the Puzzle Veterinary Surgery. **Veterinary Surgery**. v.35, p.413–416, 2006.

VIDELA, R; VAN AMSTEL, S. Urolithiasis. **Vet Clin North Am Food Anim Pract**. v. 32, p. 687-700, 2016.

WILLIAMS, J.C. JR.; GAMBARO, G.; RODGERS, A.; ASPLIN, J.; BONNY, O.; COSTA-BAUZÁ, A.; FERRARO, P.M.; FOGAZZI, G.; FUSTER, D.G.; GOLDFARB, D.S.; GRASES, F.; HEILBERG, I.P.; KOK, D.; LETAVERNIER, E.; LIPPI, G.; MARANGELLA, M.; NOUVENNE, A.; PETRARULO, M.; SIENER, R.; TISELIUS, H.G.; TRAXER, O.; TRINCHIERI, A.; CROPPI, E.; ROBERTSON, W.G. Urine and stone analysis for the investigation of the renal stone former: a consensus conference. **Urolithiasis**. v. 49, p. 1-16, 2021.