

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

AVALIAÇÃO CLÍNICA, LABORATORIAL E
ANATOMOPATOLÓGICA DO SISTEMA URINÁRIO DE OVINOS
CONFINADOS COM E SEM SUPLEMENTAÇÃO DE CLORETO DE
AMÔNIO.

BIANCA PAOLA SANTAROSA

Botucatu-SP

Fevereiro 2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

AVALIAÇÃO CLÍNICA, LABORATORIAL E
ANATOMOPATOLÓGICA DO SISTEMA URINÁRIO DE OVINOS
CONFINADOS COM E SEM SUPLEMENTAÇÃO DE CLORETO DE
AMÔNIO.

BIANCA PAOLA SANTAROSA

Dissertação apresentada junto ao Programa de
Pós-Graduação em Medicina Veterinária para o
obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Adj. Roberto Calderon Gonçalves.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Santarosa, Bianca Paola.

Avaliação clínica, laboratorial e anatomopatológica do sistema urinário de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio / Bianca Paola Santarosa. - Botucatu, 2015

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Roberto Calderon Gonçalves

Capes: 50501003

1. Aparelho urinário - Cálculos. 2. Cálculos (Patologia). 3. Ovino - Doenças. 4. Amônio. 5. Histopatologia veterinária.

Palavras-chave: Acidificante urinário ; Histopatologia; Pequenos ruminantes; Sistema urinário ; Urolitíase.

Bianca Paola Santarosa

**AVALIAÇÃO CLÍNICA, LABORATORIAL E ANATOMOPATOLÓGICA DO
SISTEMA URINÁRIO DE OVINOS CONFINADOS COM E SEM
SUPLEMENTAÇÃO DE CLORETO DE AMÔNIO.**

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Adj. Roberto Calderon Gonçalves

Presidente e Orientador

Departamento de Clínica Veterinária – FMVZ/UNESP – Botucatu-SP.

Prof. Ass. Dr. Simone Biagio Chiacchio

Membro

Departamento de Clínica Veterinária – FMVZ/UNESP - Botucatu-SP.

Prof. Adj. Júlio Augusto Naylor Lisboa

Membro

Departamento de Clínicas Veterinárias – UEL - Londrina-PR.

Data da Defesa da Dissertação: 20 de fevereiro de 2015.

À minha mãe, Maria Regina Sargiolato, meu eterno exemplo de amor, amizade, dedicação e compreensão. Tenho certeza de que cada passo que dei nesta e outras trajetórias tem muito dela! Sempre seremos uma só alma!

Aos animais.

"Pensando bem... Ser veterinário não é só cuidar de animais. É, sobretudo, amá-los, não ficando somente nos padrões éticos de uma ciência médica. Ser veterinário é acreditar na imortalidade da natureza e querer preservá-la sempre mais bela. Ser veterinário não é só ouvir miados, mugidos, balidos, relinchos e latidos, mas principalmente entendê-los e amenizá-los. É gostar de terra molhada, de mato fechado, de luas e chuvas. Ser veterinário é não importar se os animais pensam, mas sim que sofrem. É dedicar parte do seu ser à arte de salvar vidas. Ser veterinário é aproximar-se de instintos. É perder medos. É ganhar amigos de pelos e penas, que jamais irão decepcioná-lo. Ser veterinário é ter ódio de gaiolas, jaulas e correntes. É perder um tempo enorme apreciando rebanhos e voos de gaivotas. É permanecer descobrindo, através de animais, a si mesmo. Ser veterinário é ser o único capaz de entender rabos abanando, arranhões carinhosos e mordidas de afeto. É sentir cheiro de pelo molhado, cheiro de almofada com essência de gato, cheiro de baias, de curral, de esterco. Ser veterinário é ter coragem de entrar num mundo diferente e ser igual. É ter capacidade de compreender gratidões mudas, mas sem dúvida alguma, as únicas verdadeiras. É aliviar olhares, é lembrar de seu tempo de criança e querer levar para casa todos os cães vadios e sem dono. Ser veterinário é conviver lado a lado com ensinamentos profundos de amor e vida".

(Autor Desconhecido)

A Deus, primeiramente, pois sem Ele nada seria possível. E também a Nossa Senhora da Aparecida, que sempre guiou meus caminhos.

A minha mãe e eterna melhor amiga, Maria Regina Sargiolato, que é a professora de Língua Portuguesa mais apaixonada por aquilo que faz que eu conheço! Apesar de ter sido também minha professora no Ensino Fundamental e Médio, sempre me ensinou muito mais do que regras gramaticais e literatura! Educou-me para enfrentar a vida, seja para ultrapassar os obstáculos ou para aproveitar os bons momentos. Pude compreender o sentido real da frase: "Não se pode falar em educação sem amor" (Paulo Freire). Nunca esquecerei da música que cantava para mim quando criança: "Você é meu amorzinho, você é meu amorzão, você é o tijolinho que faltava na minha construção...", sei que sou o amor da vida dela, pois sempre me senti muito amada. Eu a amo infinitamente!

Ao meu irmão, Marco Bianco Santarosa, meu médico preferido, meu primeiro amigo, cúmplice, exemplo de determinação, garra e força! Nossos laços de amor e carinho, com certeza, ultrapassam o parentesco sanguíneo! Eu o amo para sempre!

A minha cunhada, Bruna Riedo Zanetti Santarosa, que também está na pós-graduação e por isso vive as mesmas angústias deste período acadêmico. Agradeço pelas nossas conversas, seu apoio, incentivo, por amar o meu irmão e também por me acolher na casa deles, em Ribeirão Preto, nos últimos tempos, durante minhas consultas na Oftalmologia do HC-USP.

A minha tia, Maria Aparecida Sargiolato, minha melhor "teacher". Agradeço muito mais do que pelas traduções de trabalhos que já fez, por todos os presentes recebidos, agradeço, sobretudo, pelo seu amor e carinho. Somos tão próximas que por pouco não nasci no dia do seu aniversário. Sei que sou e sempre serei sua sobrinha preferida! Jamais me esquecerei de um cartão, que me entregou em um aniversário, com os dizeres: "You are my north, my south, my east and west, my working week and my Sunday rest" (W.H. Auden). "Thanks, I love her"!

Aos meus avós maternos, Natalina Fogale Sargiolato e José Sargiolato (*in memoriam*). Sei que estão me protegendo e torcendo pelo meu sucesso. Sou eternamente grata por todo amor e carinho que recebi. Apesar de toda simplicidade, foram capazes de transmitir os valores mais dignos de um ser humano: bondade, honestidade, humildade e compaixão. SAUDADE!

Ao meu grande companheiro, Danilo Otávio Laurenti Ferreira, por todos os bons momentos que vivemos. Acredito que seja impossível separar nossa história da Medicina Veterinária. Isso porque nos conhecemos dentro da faculdade, onde passei a aprender com ele e admirá-lo. Jamais me esquecerei do primeiro parto de ovelha que acompanhei ao lado dele durante a graduação. A cada nova atividade profissional, tive mais certeza de que havia escolhido a profissão correta. Aos poucos, foi assumindo, em minha vida, diversos papéis: amigo, namorado, irmão e futuro marido. Nosso amor se fundiu com o amor pela nossa profissão e isso nos tornou muito melhores e mais fortes. O profissionalismo, seriedade e comprometimento com seu trabalho sempre me ensinaram demais. Agradeço por tantas oportunidades. Este e outros trabalhos, como seu mestrado e doutorado, foram

concluídos com nossa força e determinação. Agradeço pela paciência e por me fazer acreditar que a vitória é muito mais gratificante depois de lutar arduamente pelos objetivos. Juntos, estou certa de que nos tornamos melhores.

À Herminia Genoveva Laurenti Querubin, que já a considero minha tia também, pelo carinho e ajuda na formatação deste trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Adj. Roberto Calderon Gonçalves, pelos ensinamentos, pela credibilidade e confiança. A minha admiração pelo seu dom de ensinar começou ainda no primeiro ano da graduação, em 2006, e só aumentou conforme me tornei sua orientada de iniciação científica. Com certeza isso me estimulou para meu crescimento profissional e desenvolvimento na área acadêmica. Nem sempre as soluções para os problemas foram passadas de forma fácil, mas me ensinou a buscá-las. "Ensinar não é transferir conhecimento, mas criar as possibilidades para sua produção ou criação" (Paulo Freire). Em vários momentos se transformou em figura paterna, amiga e conselheira, sempre me ajudando a traçar o melhor caminho. Talvez eu nunca possa retribuir, entretanto serei eternamente grata.

Ao Prof. Ass. Dr. Simone Biagio Chiacchio, do Departamento de Clínica Veterinária da FMVZ/UNESP-Botucatu, pela orientação e sabedoria transmitidas desde o primeiro estágio na Clínica de Grandes Animais durante a graduação, na minha segunda iniciação científica e nos dois anos de residência. Agradeço pelas risadas, amizade e também pelo apoio nos momentos difíceis. Continuaremos trabalhando juntos!

À Profa. Maria Lúcia Gomes Lourenço, do Departamento de Clínica Veterinária da FMVZ/UNESP-Botucatu, pelos ensinamentos, carinho e atenção prestados. Realmente me tornei uma "orientada agregada" ao seu grupo de pesquisa e sou muito feliz por isso. Acredito que, em breve, vamos comemorar os frutos dos nossos trabalhos. Os artigos sobre Mini-horse que o digam! Com certeza ainda vamos desenvolver muitos outros projetos de pesquisa juntas!

Ao Prof. Ass. Dr. Rogério Martins Amorim, do Departamento de Clínica Veterinária da FMVZ/UNESP-Botucatu, pelos ensinamentos desde a graduação, residência e também no mestrado. Agradeço a orientação enquanto diretora do Grupo de Estudos de Caprinos e Ovinos (GECO). A participação nesse grupo aprimorou meus conhecimentos e minha paixão pela ovinocultura.

À Profa. Adj. Regina Kiomí Takahira e ao Prof. Adj. Raimundo Souza Lopes do Laboratório Clínico Veterinário FMVZ/UNESP-Botucatu, pela colaboração, orientação do processamento dos exames laboratoriais de bioquímica sérica, além dos esclarecimentos de dúvidas que surgiram durante as análises.

À Dra. Soraya Regina Sacco pela realização dos exames bioquímicos, auxílio na interpretação dos resultados e, sobretudo, pela dedicação e amizade.

À Dra. Marcela Marcondes Pinto Rodrigues, Pós-doutoranda da área de Patologia Veterinária da FMVZ/UNESP-Botucatu, pela ajuda na leitura das lâminas de histopatologia do sistema urinário dos ovinos deste trabalho. Agradeço pela paciência em me ensinar a visualizar as alterações no microscópio!

À Gabriela Nascimento Dantas, que começou como minha companheira de residência na Clínica de Grandes Animais e se tornou minha grande amiga e colega de pós-graduação. Dividimos o mesmo orientador e muitos bons momentos de descontração, mas também de dificuldades. Juntas, conseguimos aprender e produzir muito mais. Desejo-lhe muito sucesso!

As minhas amigas da pós-graduação Alexandra Frey Belotta, Carla Maria Vela Ulian, Daniela Sponchiado, Luciana Campos Moura Pardini pela companhia nas disciplinas, compartilhamento de aflições e convivência em diversos momentos da pós-graduação.

À Médica Veterinária Anna Paula Vitirito Maurelio, minha querida amiga, por todo o apoio e incentivo. Nossa amizade é eterna! Agradeço também pelos esclarecimentos de dúvidas com pequenos animais.

À Profa. Dra. Andreza Amaral da Silva da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), por me ensinar muitos detalhes da vida acadêmica e sempre me incentivar a continuar nesta trajetória. Ela é um exemplo de sucesso e competência naquilo que faz.

Ao Prof. Dr. Adriano Dias da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), UNESP-Botucatu, pela realização das análises estatísticas e esclarecimentos das dúvidas.

Aos Funcionários da FMVZ/UNESP-Botucatu, Marco Antônio Simão da Silva e José Jairo Zucari, por estarem sempre prontos para ajudar nos momentos de coleta e cuidados com os animais. Ambos me mostraram o valor do trabalho em equipe na fase experimental.

Às secretárias do Departamento de Clínica Veterinária da FMVZ/UNESP-Botucatu, Marlene Dias Camargo e Izabel Cristina Castro, pela amizade e serviços prestados sempre que solicitado.

Ao Departamento de Clínica Veterinária e à FMVZ/UNESP-Botucatu, pela estrutura fornecida, que foi fundamental para minha formação, lugar onde, realmente, sinto-me em casa!

Ao Prof. Dr. Júlio Augusto Naylor Lisboa do Departamento Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina (UEL), pela participação na banca examinadora deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa de estudos concedida permitindo minha dedicação ao mestrado (Processo 2014/24985-4)

A todos que, direta ou indiretamente, fizeram parte desta história.

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original”.

(Albert Einstein)

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.”

(Cora Coralina)

LISTA DE TABELAS

| | | |
|----------|--|----|
| Tabela 1 | - Médias (\bar{x}), desvios-padrão (s) e medianas (Md) da frequência cardíaca (bpm), nos diferentes momentos (M) de colheita, de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (GI e GII)..... | 27 |
| Tabela 2 | - Médias (\bar{x}), desvios-padrão (s) e medianas (Md) da frequência respiratória (mpm), nos diferentes momentos (M) de colheita, de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (GI e GII)..... | 28 |
| Tabela 3 | - Médias (\bar{x}), desvios-padrão (s) e medianas (Md) da frequência de movimentos ruminais (MR), nos diferentes momentos (M) de colheita, de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (GI e GII)..... | 29 |
| Tabela 4 | - Médias (\bar{x}), desvios-padrão (s) e medianas (Md) da temperatura retal, nos diferentes momentos (M) de colheita, de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (GI e GII)..... | 29 |
| Tabela 5 | - Médias (\bar{x}), desvios-padrão (s) e medianas (Md) de creatinina (mg/dL) sérica, nos diferentes momentos de colheita, de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (GI e GII)..... | 31 |
| Tabela 6 | - Médias (\bar{x}), desvios-padrão (s) e medianas (Md) de creatinina (mg/dL) sérica, nos diferentes momentos de colheita, de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (GI e GII)..... | 32 |
| Tabela 7 | - Alterações macroscópicas do sistema urinário no <i>post-mortem</i> de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (GI e GII)..... | 34 |
| Tabela 8 | - Alterações microscópicas renais de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (GI e GII)..... | 38 |
| Tabela 9 | - Alterações microscópicas vesicais de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (GI e GII).. | 40 |

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Rim de um ovino do GI, apresentando congestão da medular e pequenos cálculos..... 35
- Figura 2 - Presença de cálculos na pelve e medular do rim de um ovino do GI, e amostra de cálculo..... 35
- Figura 3 - Rim direito de um ovino do GII apresentando dilatação do ureter devido à presença de cálculos. Nota-se o aumento de volume renal..... 35
- Figura 4 - Rim direito de um ovino do GII apresentando dilatação da pelve renal e cálculos..... 36
- Figura 5 - Cortes histológicos do sistema urinário de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio. A) Rim. Congestão vascular, HE (20x). B e C) Acentuada dilatação tubular, HE (2,5x e 20x). D) Rim. Infiltrado inflamatório mononuclear (linfocítico), HE (20x). E) Rim. Degeneração tubular (seta), HE (40x). F) Rim. Necrose tubular (seta), HE (20x)..... 43
- Figura 6 - Cortes histológicos do sistema urinário de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio. A) Rim. Necrose tubular, HE (40x). B e C) Rim. Fibrose, HE (10x e 40x). D) Rim. Proteína na luz tubular (material amorfo eosinofílico), HE (40x). E) Rim. Sinéquia e esclerose glomerular, HE (40x). F) Bexiga. Congestão vascular, HE (40x)..... 44

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| RESUMO..... | 01 |
| ABSTRACT..... | 03 |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 05 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA..... | 07 |
| 3. OBJETIVOS..... | 20 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS..... | 21 |
| 4.1 Animais e ambiente de experimentação..... | 21 |
| 4.2 Grupos experimentais..... | 23 |
| 4.3 Sequência e protocolo experimental..... | 23 |
| 4.4 Análise da ração total (bromatológica e mineral)..... | 24 |
| 4.5 Colheita das amostras..... | 24 |
| 4.6 Análise estatística..... | 26 |
| 4.7 Aspectos éticos..... | 26 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 27 |
| 5.1 Exame físico..... | 27 |
| 5.2 Exames bioquímicos (ureia e creatinina)..... | 30 |
| 5.3 Alterações macroscópicas do sistema urinário..... | 34 |
| 5.4 Alterações microscópicas do sistema urinário..... | 37 |
| 6. CONCLUSÕES..... | 45 |
| 7. BIBLIOGRAFIA..... | 46 |
| 8. ARTIGO CIENTÍFICO..... | 58 |
| ANEXOS..... | 82 |

SANTAROSA, B.P. **Avaliação clínica, laboratorial e anatomopatológica do sistema urinário de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio**. Botucatu, 2015. 87p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

Na ovinocultura, a incidência da urolitíase é elevada, principalmente em machos criados sob manejo intensivo. A acidificação urinária com cloreto de amônio é um método eficiente para prevenção dessa doença. Os objetivos deste estudo com ovinos confinados recebendo dieta concentrada com elevado teor proteico, suplementados ou não com cloreto de amônio, foram: verificar o efeito da dieta fornecida no confinamento, rica em concentrado, sobre a formação de urólitos e desenvolvimento de urolitíase obstrutiva; analisar as características macroscópicas e histopatológicas do sistema urinário; relacionar os achados clínicos, os exames laboratoriais de função renal (ureia e creatinina) e necroscópicos com a presença de urólitos. Utilizaram-se 60 ovinos machos, mestiços Ile de France X White Dorper, com três a quatro meses de idade, distribuídos aleatoriamente em dois grupos: Grupo I (n=40), que recebeu 400mg/kg de cloreto de amônio/animal/dia, por via oral, por 42 dias consecutivos; Grupo II (n=20), não tratado com cloreto de amônio. A alimentação constituiu-se de 85% de concentrado, 15% de feno, sal mineral e água à vontade. Momentos (M) de avaliação clínica e colheita de sangue para dosagem sérica de ureia e creatinina foram determinados como: M0, imediatamente antes do início do experimento e em intervalos de sete dias nos momentos M1; M2; M3; M4; M5 e M6, totalizando 56 dias de confinamento. Após o período de confinamento, os animais foram sacrificados, realizou-se necropsia e o sistema urinário foi colhido para exame macro e microscópico. Os animais foram observados diariamente para verificar a incidência de urolitíase nos dois grupos, durante todo o período experimental, porém nenhum animal apresentou sintomatologia de urolitíase obstrutiva. Os valores da concentração sérica de creatinina estiveram abaixo e os valores de ureia ficaram acima do padrão de normalidade para a espécie. Encontraram-se

microcálculos na pelve renal em cinco animais de ambos os grupos. Além disso, outras alterações foram encontradas como congestão da região medular renal e hidronefrose. As lesões renais microscópicas com maior predominância e relevância foram congestão vascular e necrose tubular em ambos os grupos experimentais, além de sinéquias glomerulares, degeneração e dilatação tubular, presença de proteína na luz tubular e infiltração de células inflamatórias mononucleares. A análise histopatológica da bexiga revelou apenas congestão e infiltrado inflamatório em poucos animais. Concluiu-se que a dieta rica em concentrado provocou lesão renal em ambos os grupos, embora não tenha alterado a função renal. Os animais do GII, não suplementados com cloreto de amônio, tiveram maior comprometimento renal pelo consumo da dieta rica em grãos ao exame histopatológico renal, comprovado pela alta incidência de necrose tubular (80%).

Palavras-chave: acidificante urinário, histopatologia, pequenos ruminantes, sistema urinário, urolitíase.

SANTAROSA, B.P. **Clinical, laboratory and anatomopathological evaluation of the urinary system of feedlot sheep with and without ammonium chloride supplementation.** Botucatu, 2015. 87p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

The incidence of urolithiasis is high in sheep raising, especially in males raised under intensive management. The urinary acidification with ammonium chloride is an effective method to prevent this disease. The objectives of this study with feedlot lambs getting concentrated diet with high protein content, supplemented or not with ammonium chloride, were to verify the effect of diet fed in confinement, rich in concentrated on the formation of uroliths and development of urolithiasis; analyzing the macroscopic and histopathological characteristics of the urinary system; relate the clinical findings, laboratory tests of renal function (urea and creatinine) and necropsy in the presence of uroliths. It was used 60 male sheep, crossbred Ile de France X White Dorper, three to four months old, randomly divided into two groups: Group I (n=40) received 400 mg/kg of ammonium chloride/animal/day orally, for 42 consecutive days; Group II (n=20) was not treated with ammonium chloride. The diet consisted of 85% concentrate, 15% hay, mineral salt and water ad libitum. Moments (M) for clinical evaluation and collection of blood for measurement of serum urea and creatinine were determined as M0, immediately prior to the beginning of the experiment and at intervals of seven days in moments M1, M2, M3, M4, M5 and M6, totaling 56 days of confinement. After the confinement period, the animals were sacrificed, necropsy was performed and their urinary systems were collected for macroscopic and microscopic examination. The animals were observed daily throughout the experimental period, but no animal showed symptoms of obstructive urolithiasis. The values of serum creatinine concentration were below the standard of normality and the values of urea remained above it. Microcalculi were found in the renal pelvis of five animals in both groups. In addition, other changes were found, such as congestion of the renal medullary region and hydronephrosis. The microscopic renal lesions

with greater prevalence and relevance were tubular necrosis and vascular congestion in both experimental groups, besides glomerular synechias, tubular degeneration and dilation, presence of protein in the tubular lumen and infiltration of mononuclear inflammatory cells. The histopathological analysis of the bladder revealed only congestion and inflammatory infiltration in a few animals. It was concluded that a diet high in concentrate caused renal injury in both groups, although without changing the renal function proven by laboratory tests of urea and creatinine. The animals of GII, not supplemented with ammonium chloride, had greater renal impairment by consumption of a diet rich in grains to the renal histopathological examination, evidenced by the high incidence of tubular necrosis (80%).

Key words: urinary acidifier, histopathology, small ruminants, urinary system, urolithiasis.

1. INTRODUÇÃO

Desde a década de 1970, o interesse pela produção de ovinos apresenta aumento gradativo no Brasil. Em 2011, o rebanho efetivo brasileiro de ovinos era de 17,6 milhões de cabeças, representando aumento de 1,6% sobre o número registrado em 2010. No estado de São Paulo, a população ovina é cerca de 700 mil cabeças, o que reflete a relevância crescente que esta espécie apresenta na pecuária paulista, especialmente na produção de carne e comercialização de material genético (IBGE, 2011).

A intensificação da produção, aliada à comercialização de animais de alto valor genético, acarretou profundas alterações no manejo alimentar dos ovinos, desencadeando o aumento da ocorrência de doenças nutricionais e metabólicas, e entre as principais se destaca a urolitíase (RIET-CORREA et al., 2008; KANNAN & LAWRENCE, 2010). 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 (ORTOLANI, 1996; ANTONELLI et al., 2012; GUIMARÃES et al., 2012).

Os melhores resultados são obtidos com a prevenção da doença, antes que se inicie a formação do cálculo, visando à integridade produtiva do animal (VAN METRE & FUBINI, 2006; EWOLDT et al., 2008). Para isso, deve-se conhecer a composição química dos urólitos e corrigir todos os possíveis fatores que podem estar relacionados à sua formação (FREEMAN et al., 2010). Dentre os métodos de prevenção, a acidificação urinária com cloreto de amônio é uma alternativa eficiente (STEWART et al., 1991, MAVANGIRA et al., 2010; FERREIRA et al., 2014a).

Ferreira (2009) estudou o efeito da administração de cloreto de amônio e vitamina C na acidificação urinária em ovinos. Ambos os produtos apresentaram resultados na acidificação, porém foi notória a eficácia com que o cloreto de amônio diminuiu o pH da urina, mantendo a acidificação até o final do experimento, ao contrário do ácido ascórbico que não estabilizou o pH da urina abaixo de sete.

Embora a acidificação urinária seja um método preventivo e eficaz para diminuir a incidência da urolitíase obstrutiva, a alimentação rica em grãos pode provocar lesões inflamatórias no trato urinário que, pelo aumento de proteínas e restos celulares na urina, facilitam a formação do núcleo dos urólitos. Em animais confinados e destinados ao abate para comercialização da carne, muitas vezes não se notam sinais clínicos da urolitíase, pois o tempo para a terminação do animal é curto, porém estudos anteriores (FERREIRA, 2009; FERREIRA, 2013) mostraram a possibilidade da dieta altamente proteica ocasionar lesão renal e a formação de cálculos. Assim, este trabalho estudou o sistema urinário de cordeiros alimentados com alto conteúdo de grãos suplementados ou não com cloreto de amônio.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A urolitíase obstrutiva é caracterizada por formação de cálculos no trato urinário, que impedem o fluxo da urina. É uma doença amplamente discutida na literatura, acomete animais e humanos, e se relaciona com o manejo nutricional em todas as espécies (ROBINSON et al., 2008). Ocorre com maior frequência e importância econômica em cordeiros, cabritos, garrotes e animais de elite confinados (ANGUS, 1990; AQUINO NETO et al., 2007). Em ovinos, há trabalhos descritos na literatura desde a década de 30 (EVELETH & MILLEN, 1939).

Além da predisposição anatômica do pênis dos ruminantes, a castração precoce pode induzir a hipoplasia uretral e peniana, com consequente diminuição do diâmetro da uretra (PARKER, 1981; WOLF, 2006; NAVARRE, 2007; JANKE et al., 2009). Todas as raças de ovinos são suscetíveis (VAN METRE & DIVERS, 2006). Os ovinos da raça Texel são particularmente eficientes na absorção e excreção de minerais, quando comparados com as raças Sulffok e Blackface, sendo mais predispostos à urolitíase devido à elevada concentração de minerais na urina (GUIMARÃES et al., 2012).

A urolitíase ocorre com maior frequência em sistemas de manejo intensivo, em que a dieta é formada basicamente de grãos (SOUSA et al., 2011). Esse alimento, de modo geral, tem elevado teor de fósforo e de magnésio, mas baixo teor de cálcio, dessa forma, a proporção de Ca e P varia de 1:4 a 1:6, enquanto que a relação ideal seria de 1:1 a 2:1. O desequilíbrio sanguíneo de Ca:P resulta em elevada excreção de fósforo pela urina, sendo importante fator para a gênese dos urólitos (RIET-CORREA et al., 2004; BELKNAP & PUGH, 2005; FREEMAN et al., 2010). A urina dos ruminantes é alcalina (pH 7,6 – 8,4), o que torna o fósforo insolúvel, precipitando-o e formando cristais com o cálcio e o magnésio (AQUINO NETO et al., 2007).

Outro aspecto a ser considerado é a quantidade e qualidade da água consumida. A pouca ingestão de água leva à maior concentração da urina, aumentando a densidade, que pode predispor à doença. O problema é agravado em pastagens, onde os animais não conhecem os acessos à água, ou não há água disponível de boa qualidade, e em confinamentos, onde há

superlotação. A dureza da água depende de íons presentes, principalmente o cálcio e magnésio, na forma de carbonato. Autores correlacionaram positivamente a dureza da água consumida com a incidência da urolitíase (SAHINDURAN et al., 2007; SACCO & LOPES, 2011).

Sacco & Lopes (2011) estudaram a ocorrência de urolitíase obstrutiva em bovinos Guzerá provenientes de duas fazendas de criação semi-intensiva no interior paulista, uma com a enfermidade confirmada e outra sem sintomatologia da doença. Os bovinos do grupo urolitíase consumiam água com dureza total na concentração de 166mg CaCO₃/L, valor 13 vezes maior que o observado na fazenda sem sinais da doença, além da maior concentração de fósforo na dieta e relação Ca:P inadequada. A concentração sérica de magnésio também foi maior no grupo com urolitíase. Packett et al. (1968) afirmaram que a hipermagnesemia é achado frequente no sangue de ovinos acometidos por urolitíase.

Os principais fatores que contribuem para o desenvolvimento da urolitíase são os que auxiliam o desenvolvimento da matriz orgânica, aqueles que facilitam a precipitação de solutos no núcleo e os que favorecem a concreção dos sais precipitados para a formação do cálculo (RADOSTITS et al., 2007). A etiologia do cálculo é complexa e multifatorial. Influências geográficas e sazonais, fatores dietéticos, ambientais, hormonais e doenças infecciosas do sistema urinário têm sido descritas como fatores predisponentes à formação de urólitos (SOUSA et al., 2011.).

A estase urinária resultante de infecções e processos inflamatórios do trato urinário favorecem o aparecimento de cálculos, pois o acúmulo de proteína e restos celulares alteram o pH da urina, formam compostos salinos insolúveis, produzem coloides estranhos à urina (pus e sangue), proporcionando a formação do núcleo ou matriz orgânica (LORETTI et al, 2003). O uso de estrogênio é outro fator predisponente, pois aumenta a descamação do epitélio urinário e a produção de muco, favorecendo a formação da matriz orgânica (RIET-CORREA et al., 2008).

O risco de obstrução do fluxo urinário é maior em animais mais jovens e castrados precocemente devido ao menor diâmetro uretral (PARKER, 1981; ANGUS, 1990). Os locais mais comuns de obstrução incluem o processo

uretral (apêndice vermiforme) e a flexura sigmóide distal, embora o trigono vesical, a bexiga e a pelve renal também sejam locais de grande acúmulo de cálculos (RADOSTITS et al., 2007; GUIMARÃES et al., 2012).

Os cálculos são compostos por uma fração orgânica e outra inorgânica. A solubilidade de alguns sais é influenciada pelo pH da urina, sendo que o pH alcalino favorece a formação de cálculos de fosfato, estruvita e carbonato (SUN et al., 2010).

Animais confinados são predispostos à formação de cálculos de fosfato, pois geralmente recebem dietas ricas em grãos que são ricos em fósforo (EMERICK & EMBRY, 1963). O urólito de magnésio forma-se em dietas que apresentam teor de magnésio acima de 0,6% da ração, principalmente em substitutos do leite bovino (PACKETT & HAUSCHILD, 1964). Cálculos de carbonato de cálcio podem ser formados a partir da ingestão de plantas com alto teor de ácido oxálico. Esses cálculos podem se formar tanto em pH alcalino quanto ácido (BELKNAP & PUGH, 2005; RADOSTITS et al., 2007). O urólito de sílica é formado quando há grande eliminação de ácido silícico pelos rins. Esse tipo de cálculo é mais frequente em animais que se alimentam de plantas que crescem em solos arenosos ou que ingerem água que contém alto teor de sílica (BAILEY, 1981), sendo de pouca importância nos animais criados em regime intensivo.

Animais confinados são predispostos à formação de cálculos de fosfato, pois geralmente recebem dietas ricas em grãos com alto teor de fósforo (P) e baixo teor de cálcio (Ca), resultando em desbalanço da proporção Ca:P. Assim, o animal apresenta hiperfosfatemia e conseqüentemente eleva a excreção renal de fosfatos (BELKNAP & PUGH, 2005; FREEMAN et al., 2010). A saliva é importante, também, no metabolismo do fósforo, pois apresenta uma concentração de fósforo 12 a 16 vezes maior do que o sangue. Os ruminantes removem o fósforo do organismo pela sua excreção pela saliva e daí para o rúmen e fezes. Normalmente, cerca de 60% do P que chega ao rúmen é proveniente da saliva e os 40% restantes vêm da dieta. Dietas altas em concentrados e baixas em volumosos diminuem a formação de saliva, em conseqüência mais fósforo deve ser eliminado pelo rim e excretado na urina aumentando o risco de urolitíase (RIET-CORREA et al., 2008).

No confinamento de animais para produção de carne, as manifestações clínicas de obstrução do trato urinário muitas vezes não são observadas, pois o ciclo de produção, compreendido entre o nascimento e abate do cordeiro, é muito curto (ZUNDT et al., 2002). Ferreira (2013), porém, mostrou que há possibilidade da dieta com alto teor proteico causar lesão renal e a formação de cálculos por observação macroscópica de lesões no sistema urinário, especialmente nos rins.

Os primeiros sinais clínicos manifestados pelos animais com urolitíase obstrutiva estão relacionados à dor (OEHME, 1965). Os animais que desenvolvem urolitíase podem apresentar polaciúria, disúria, hematúria, piúria e hipertermia (GUIMARÃES et al., 2012). Os sinais clínicos característicos de obstrução uretral são desconforto abdominal, escoiceamento do abdome, manoteio, balançar da cauda, decúbito intermitente com inquietação, anorexia, dificuldade de andar, marcha rígida, podendo estar presente, também, a exposição do pênis (WOLF, 2006; NAVARRE, 2007). Geralmente, o animal faz esforço para urinar, adotando postura de micção, com contração espasmódica do pênis, sendo visível a movimentação do prepúcio. Pode haver grunhidos e ranger de dentes. Esses esforços podem resultar na saída de poucas gotas de urina, normalmente de coloração avermelhada devido à presença de sangue e podem predispor ao prolapso retal. À palpação retal digital nota-se aumento de sensibilidade, no local da obstrução, e pulsação da uretra (ORTOLANI, 1996; THOMPSON, 2001).

Nos casos de necrose da uretra e ruptura da bexiga há extravasamento de urina para o tecido conjuntivo da parede abdominal ventral e prepúcio ou cavidade abdominal causando irritação do tecido, necrose, reabsorção de urina e uremia. A ruptura da bexiga com liberação de grande volume de urina no abdome é evidenciada por diminuição da dor à princípio, e distensão do abdome, o qual torna-se abaulado ventralmente ocorrendo em seguida sinais de desidratação e uremia (RIET-CÔRREA et al., 2008).

Para o diagnóstico, o exame clínico pode ser complementado por exames laboratoriais. Segundo Van Metre & Divers (2006), para que haja insuficiência renal é necessário que, aproximadamente, 75% dos néfrons de ambos os rins

sejam perdidos, provocando inadequada excreção de ureia e creatinina, proteinúria, glicosúria e aumento da celularidade do sedimento urinário.

A bioquímica sérica revela azotemia pós-renal, que se relaciona à estase urinária e conseqüente reabsorção desses compostos (WOLF, 2006). Os níveis de creatinina plasmática refletem a taxa de filtração renal, de forma que os altos níveis indicam deficiência na funcionalidade renal (COLES, 1984; KOZLOSKI et al., 2005; KIRSZTAJN, 2007). Os níveis séricos de ureia são influenciados pela nutrição (BRAUN et al., 2010), visto que a concentração sérica e excreção se elevam com o aumento do teor de proteína da dieta. Em dietas com baixos níveis de proteína bruta, a maioria da ureia é reciclada e muito pouco se perde na urina (RABINOWITZ et al., 1973; RENNÓ et al., 2000).

Nenhum desses dois testes, no entanto, é sensível ao diagnóstico precoce de doença renal devido à grande reserva funcional dos rins. Além disso, as variações da ureia e creatinina não são proporcionais ao número de néfrons funcionais. Observou-se, por exemplo, aumento médio de 85% de creatinina e 140% de ureia após redução de duas vezes da taxa de filtração glomerular e obtiveram-se valores próximos ao limite máximo do intervalo de referência (LEFEBVRE et al., 1999).

George et al. (2007) estudaram 107 casos de urolitíase em caprinos e detectaram hipofosfatemia associada à azotemia. Hipocloremia, hipercalemia e acidose metabólica foram pouco frequentes, enquanto quadros de alcalose metabólica foram mais comuns nos casos de obstrução uretral.

Donecker & Bellamy (1982) compararam as alterações bioquímicas sanguíneas em bovinos com ruptura de uretra e bexiga devido à urolitíase. Constatou-se que animais com urolitíase apresentaram azotemia, hiponatremia e hipocloremia mais acentuadas na ruptura vesical. Hiperfosfatemia foi evidenciada apenas nos casos de uroperitônio. O hemograma pode revelar desidratação com hemoconcentração e sinais de inflamação, como hiperfibrinogenemia e leucocitose com neutrofilia (NAVARRE, 2007; HUNTER et al., 2012).

Outros exames complementares de imagem, como radiografia, ultrassonografia (KINSLEY et al., 2013) e tomografia computadorizada (FREITAS et al., 2004) podem auxiliar no diagnóstico, confirmando a presença de urólitos nos rins, ureter, bexiga, e uretra. Dessa forma, pode-se intervir precocemente, pois a doença torna-se letal quando gera obstrução total da uretra (PALMER, 1998). Cálculos de estruvita não são visíveis na radiografia, já os urólitos de carbonato de cálcio são radiopacos e são detectados (WOLF, 2006; KANNAN & LAWRENCE, 2010). Técnicas de imagem com contraste também podem ser aplicadas, como a uretrocistografia, que permite a identificação de possível obstrução total da uretra, ruptura uretral e até o diagnóstico de ruptura de bexiga, caso o contraste extravase para o subcutâneo e para a cavidade abdominal (PALMER, 1998; KINSLEY et al., 2013).

O exame ultrassonográfico renal pode mostrar alterações de ecogenicidade do órgão, sugerindo outros problemas, como nefrite intersticial, pielonefrite e hidronefrose (SCOTT, 2012). Pode-se visibilizar bexiga repleta de urina, em casos de obstrução uretral, ou até líquido livre na cavidade abdominal em casos de ruptura vesical. Nem sempre se consegue identificar a presença de cálculos devido à ecogenicidade do material (WOLF, 2006; SCOTT & SARGISON, 2010; FERREIRA et al., 2014b).

A urolitíase obstrutiva, em pequenos ruminantes, ainda é um problema de difícil tratamento e, quando se consideram resultados em longo prazo, o tratamento cirúrgico torna-se imprescindível (HAVEN et al., 1993; VAN METRE et al., 1996). O tratamento utilizado depende do estágio da doença, da natureza e extensão dos cálculos presentes, da função do animal e, frequentemente, das questões financeiras. Quando a intervenção cirúrgica torna-se necessária, caso haja interesse de se manter o animal por longos períodos, o prognóstico varia de reservado a mau (DÓRIA et al., 2007).

O animal com urolitíase obstrutiva deve ser tratado como emergência (ERMÍLIO & SMITH, 2011). A primeira tentativa no tratamento da urolitíase pode ser realizada com o uso de relaxantes musculares, sendo que o objetivo primário do atendimento ao paciente obstruído é restabelecer o fluxo urinário. A hioscina, associada à dipirona, pode ser utilizada como relaxante e analgésico,

enquanto a xilazina deve ser evitada pela ação diurética. A acepromazina é o sedativo de escolha, pois tem melhor efeito antiespasmódico na uretra (NAVARRE, 2007).

A amputação do processo vermiforme deve ser feita antes da sondagem, pois se consegue restaurar o fluxo de urina em cerca de 70% dos pacientes, quando a obstrução for próxima à glândula (BELKNAP & PUGH, 2005). A amputação do processo uretral associada a fármacos pode promover alívio temporário, em no máximo 36 horas (HAVEN et al., 1993), no entanto deve-se monitorar o fluxo urinário do animal, pois é comum haver obstrução secundária na flexura sigmoide e a taxa de recorrência chega a 80% (PEARCE et al., 2003; VAN METRE & FUBINI, 2006; DÓRIA et al., 2007; FRANZ et al., 2008). Além disso, deve-se corrigir o desequilíbrio hidroeletrólítico do animal após desobstrução. Recomenda-se associar o uso de antibióticos de amplo espectro de ação de forma profilática e anti-inflamatórios não esteroides, importantes para controle da dor e redução dos sinais de inflamação (NAVARRE, 2007; EWOLDT et al., 2008).

Janke et al. (2009) relataram o uso de uma solução acidificante (pH 4,5) para o tratamento de 25 casos de urolitíase em caprinos, chamada Walpole, cuja composição é de 1,16% de acetato de sódio, 1,09% de ácido acético e 97,75% de água destilada. Esse produto tem sido usado para dissolução de cálculos de estruvita presentes no sistema urinário em várias espécies (NAVARRE, 2007; JANKE et al., 2009), porém os autores não conseguiram comprovar sua eficácia isolada nos animais estudados, visto que outros tratamentos foram utilizados, como administração de flunixin meglumine, dexametasona, cloreto de amônio e antibióticos.

Alguns casos têm indicação cirúrgica para manter a vida do animal, mas é muito provável a sua inutilização para a reprodução. A uretrotomia, com posterior desobstrução da uretra, a uretrotomia perineal ou a cistotomia com a implantação de sonda temporária podem ser utilizadas para a manutenção do fluxo urinário (HAVEN et al., 1993; VAN METRE et al., 1996; RAKESTRAW, 1995; PEARCE et al., 2003; DÓRIA et al., 2007; EWOLDT et al., 2008; FAZILI et al., 2010; KINSLEY et al., 2013; TOBIAS & VAN AMSTEL, 2013).

Cirurgias por laparoscopia já são bem estabelecidas na rotina de bovinos e equinos, porém seu uso em pequenos ruminantes é limitado às biotécnicas de reprodução, como inseminação artificial e transferência de embrião (HUNTER et al., 2012). Franz et al. (2008) avaliaram laparoscopia para implantação de cateter na bexiga pelo flanco direito em carneiro e constataram que essa técnica deve ser considerada como uma alternativa à laparotomia. Hunter et al. (2012) descreveram a técnica de marsupialização da bexiga por laparoscopia em casos de obstrução uretral recorrente, após uretostomia perineal em caprino.

Em vista da dificuldade de tratamento e das complicações da urolitíase, que levam, principalmente, à inutilização do macho para a reprodução e, conseqüentemente, à perda de grandes valores genéticos e econômicos, a doença deve ser prioritariamente prevenida (FERREIRA, 2009).

Os melhores resultados são obtidos com a prevenção da doença diante da alta letalidade, antes que se inicie a formação do cálculo, visando à integridade produtiva do animal (EWOLDT et al., 2008). Para isso, deve-se conhecer a composição química dos urólitos e corrigir todos os possíveis fatores que podem estar relacionados com a sua formação. O principal fator que deve ser corrigido é a relação Ca:P da dieta, evitando, assim, o excesso de fósforo na urina. Os animais não devem sofrer restrições hídricas, principalmente quando em locais estranhos, logo após períodos de viagem. Suplementação alimentar de cloreto de sódio em torno de 2 a 5% da dieta total auxilia na prevenção da urolitíase, pois aumenta o consumo de água provocando diurese (STRATTON-PHELPS & HOUSE, 2004; RIET-CORREA et al., 2008).

Animais confinados, que estiverem com deficiência de vitamina A, podem ser suplementados, o que evita a descamação excessiva do epitélio das vias urinárias (RADOSTITS et al., 2007), porém Lindley et al. (1953) não observaram interferência da vitamina A na incidência de urolitíase em carneiros.

O retardo na castração deve ser considerado, pois favorece maior diâmetro da uretra, o que facilita a excreção de cálculos menores (PARKER, 1981; VAN METRE & DIVERS, 2006). Sabe-se, porém, que na rotina de

confinamento de cordeiros não se adota esse procedimento, visto que os animais são abatidos precocemente (PIRES et al., 2000; PRADO et al., 2013).

Dentre os métodos de prevenção, a acidificação urinária com cloreto de amônio (STEWART et al., 1991; MAVANGIRA et al., 2010; FERREIRA et al., 2011) e vitamina C (NAVARRE, 2007) é uma alternativa eficiente. Pode ser realizada com a administração de dieta aniônica (GOMIDE et al., 2004; DEL CLARO et al., 2005; JONES et al., 2009) e o uso de substâncias que induzem a diminuição do pH urinário. O cloreto de amônio pode ser utilizado na prevenção de urólitos de estruvita e fosfato de cálcio, que são, preferencialmente, formados por pH alcalino (CROOKSHANK, 1970; STEWART et al., 1991; MAVANGIRA et al., 2010). Ele pode ser adicionado na alimentação para tornar-se palatável em 0,5% a 1,0% da dieta total ou 2% no concentrado (STRATTON-PHELPS & HOUSE, 2004). Quando administrado individualmente pode-se utilizar a dose de 5 a 10g/animal/dia (BELKNAP & PUGH, 2005; NAVARRE, 2007). Mavangira et al. (2010) obtiveram pH urinário menor 6,5 em caprinos com dose de 450mg/kg/PV de cloreto de amônio/dia, ou 2,25% da ingestão de MS.

Ferreira et al. (2014a) utilizaram a dose de 400mg/kg/animal/dia de cloreto de amônio e avaliaram a ação desse produto sobre o equilíbrio ácido-básico e eletrolítico de ovinos confinados. A acidificação urinária foi mantida enquanto houve a administração junto à dieta total. Os valores de Na^+ e K^+ permaneceram dentro da normalidade para a espécie. O cloreto de amônio provocou acidose metabólica hiperclorêmica compensada, comprovada pelos valores reduzidos de HCO_3^- , EB e SID, pelos valores elevados de Cl^- e pelo pH sanguíneo normal. Concluiu-se que o cloreto de amônio, apesar de provocar diminuição da reserva alcalina no organismo, não interferiu com o desenvolvimento dos animais, podendo ser empregado como agente preventivo da urolitíase obstrutiva em ovinos.

A adição de cloreto de amônio na dieta vem sendo utilizada para acidificação urinária em várias espécies, como cães, gatos, caprinos, bovinos, ovinos e equinos (CROOKSHANK, 1970; MAVANGIRA et al., 2010), além de ser empregado no estudo de urolitíase, como modelo experimental para humanos, em ratos (FAN et al., 1999; TOUHAMI et al., 2010).

Fan et al. (1999) avaliaram os efeitos do fornecimento de cloreto de amônio em ratos com urolitíase induzida experimentalmente com etileno glicol. Foi detectado cristalúria nos animais de laboratório com ingestão de 0,75% do produto na alimentação, com maior excreção de oxalato de cálcio, além da acidificação urinária. Esse fato concorda com as citações de maior excreção urinária de cálcio em animais suplementados com esse acidificante (TAKAGI & BLOCK, 1991; STRATTON-PHELPS & HOUSE, 2004; JONES et al., 2009).

Touhami et al. (2010) também realizaram a indução de urolitíase em ratos com etileno glicol (EG - 0,75%) e cloreto de amônio (AC - 2%) na água, como modelo experimental, porém, estudaram a prevenção da doença com a administração de suco de limão com a dose de 6µL/g/PV. Os animais apenas tratados com EG/AC tiveram maior excreção de cálcio comparado ao grupo controle, sendo que os animais tratados com EG/AC, 75% e 100% de suco de limão não apresentaram deposição de cálcio na análise histopatológica dos rins. Concluíram, portanto, que o suco de limão, promovendo acidificação da urina, preveniu a urolitíase nos animais estudados.

O cloreto de amônio induz acidose e diurese transitória por ser absorvido pelo trato gastrointestinal e ser convertido no fígado em ureia e ácido clorídrico (HCl), pela ornitina. No lúmen intestinal, os íons de hidrogênio (H^+) e o cloreto (Cl^-) podem ser absorvidos ou excretados, necessitando de íons bicarbonato (HCO_3^-) para neutralizar esses íons. O Cl^- age com um doador de H^+ , provocando acidose metabólica. O H^+ é excretado diretamente pelos túbulos renais para compensar a acidemia, produzindo urina ácida ou se combina com o HCO_3^- para formar ácido carbônico, que se dissocia em H_2O e CO_2 . O CO_2 , então, é expirado, restando o Cl^- e a ureia, que provocam diurese osmótica, com o cloreto sendo excretado como um sal com o sódio (Na) e volume equivalente de água (TATON, 1984; JONES et al., 2009; BEREND et al., 2012).

A utilização do cloreto de amônio na prevenção do cálculo de sílica é controversa. Radostits et al. (2007) afirmaram que não há influência desse composto na prevenção de urolitíase por sílica, no entanto Stewart et al. (1991) obtiveram bons resultados, em experimento controlado, com ovinos

alimentados com dieta básica de 50% de feno e 50% de aveia, contendo 3,3% de óxido de sílica.

A vitamina C (ácido ascórbico) é citada pela literatura com resultados satisfatórios quando administrados de 3 a 4mg/kg/dia (BELKNAP & PUGH, 2005; NAVARRE, 2007), embora tenha sido comprovado que o pH urinário não permanece constantemente ácido com seu uso (FERREIRA, 2009).

Na necropsia, os achados macroscópicos renais mais frequentes são pielonefrite e hidronefrose, sendo também encontrados nefrite difusa, pielonefrite supurativa e urólitos. Nos ureteres, pode haver inflamação e hidroureter. Na bexiga, geralmente, encontra-se cistite hemorrágica difusa e a presença de urólitos. Podem-se constatar alguns casos de cistite purulenta, presença de focos necróticos e ruptura vesical. Na uretra, a presença de cálculos e a uretrite hemorrágica difusa são achados de maior ocorrência, encontrando-se uretrite purulenta e necrosante, além de casos de ruptura (GUIMARÃES et al., 2012).

Diretamente ligados à localização anatômica dos urólitos estão os tipos de lesões secundárias ou consequências observadas no trato urinário. Consequências potenciais da urolitíase são danos ao endotélio tubular, infecção e obstrução do sistema urinário (ILKENMANN et al., 2012a). A cistite ocorre porque urólitos agredem mecanicamente a mucosa, o que leva à erosão, ulceração e hemorragia, e predispõe à invasão bacteriana da lâmina própria (MAXIE & NEWMAN, 2007). Necrose local por pressão, ulceração da mucosa uretral e uretrite hemorrágica também são achados frequentes (NEWMAN et al. 2007).

A obstrução completa do fluxo em associação à infecção do trato urinário pode resultar em rápida destruição do parênquima renal, caracterizando quadro de pielonefrite. Se a lesão progredir e afetar ambos os rins, poderá ocorrer uremia por insuficiência renal (ILKENMANN et al., 2012b). Histologicamente, observa-se infiltrado neutrofílico no tecido intersticial na fase aguda; em seguida, esse é substituído por infiltrado mononuclear, com macrófagos, plasmócitos e, posteriormente, linfócitos. O foco inflamatório, por fim, é trocado por cicatriz, caracterizada por atrofia dos túbulos, fibrose intersticial e infiltração

linfocítica, que se parece com aquelas produzidas por isquemia ou outras formas de lesão renal (MAXIE & NEWMAN, 2007).

Touhami et al. (2007) observaram, pela análise histopatológica, a deposição de cristais de oxalato de cálcio e formação de cálculos nos rins de ratos, porém os animais que receberam cloreto de amônio e suco de limão não apresentaram alterações nas células tubulares renais.

Loretti et al. (2003) descreveram presença de urólitos obstruindo a uretra na porção distal da flexura sigmoide, ruptura da bexiga com extravasamento de urina para a cavidade abdominal e peritonite fibrinosa difusa em bovinos confinados e castrados. Já no relato de Assis et al. (2009), foram visualizados cálculos no rim direito, na flexura sigmoide peniana e na saída da bexiga para a uretra, de garrotes não castrados.

Silva et al. (2008) descreveram os achados *post-mortem* de urolitíase em garrote Nelore não castrado. Os rins apresentavam-se aumentados, com a cápsula espessada e áreas de coloração avermelhada. A bexiga estava distendida com coloração vermelho escuro e áreas enegrecidas na serosa. A mucosa vesical apresentava-se cinza escura, a urina era avermelhada e continha cálculos arenosos. A uretra estava dilatada com presença de cálculos do mesmo aspecto dos existentes na bexiga. Através do exame histopatológico foi evidenciada nefrite intersticial. Observou-se extensa área de hemorragia intersticial, necrose tubular, presença de trombos e degeneração glomerular. A bexiga apresentou cistite ulcerativa associada à hemorragia. Foram observados destruição da mucosa e hemorragia profusa da parede do órgão, infiltrado inflamatório, congestão da submucosa e afastamento das fibras musculares.

Oliveira et al. (2013) também relataram um caso de ruptura uretral peniana em um touro Nelore. Havia necrose dos tecidos adjacentes à uretra e hemorragia. Os ureteres estavam dilatados. Nos rins, havia múltiplas áreas brancas não delimitadas da medula à região cortical. Na superfície de corte dos rins, foi evidenciada dilatação multifocal dos cálices renais, alguns deles repletos por cálculos urinários de diversos diâmetros. Descreveram-se áreas focalmente extensas de intenso infiltrado inflamatório intersticial composto principalmente por linfócitos, além de raros plasmócitos e macrófagos na

cortical renal. Nessas áreas, também havia fibrose periglomerular e peritubular com esclerose de ambos, além de dilatação acentuada de túbulos e acúmulo de material proteináceo no interior. Na região medular, observou-se deposição de colágeno intersticial. Na microscopia da uretra peniana, notou-se necrose de coagulação difusa acentuada da mucosa e submucosa com hemorragia e discreto infiltrado inflamatório neutrofílico.

Dória et al. (2007) descreveram vários casos de urolitíase obstrutiva em pequenos ruminantes. Após desobstrução das vias urinárias de um caprino, o animal voltou a apresentar apatia e hipotermia, veio a óbito e foi verificada a presença de cálculos obstruindo a uretra novamente. Ao exame necroscópico, foram observados tumefação e acúmulo de líquido nos tecidos subcutâneos da região perineal e abdome ventral, além da presença de 2L de líquido sanguinolento com odor de urina na cavidade abdominal. A bexiga apresentava regiões de ruptura de serosa e evaginação da mucosa e havia a presença de múltiplos cálculos em seu interior. O rim direito apresentava consistência levemente amolecida e tamanho reduzido em relação ao rim esquerdo, o qual apresentava-se congesto. O ureter direito estava envolvido por tecido adiposo entremeado por tecido gelatinoso, evidenciando edema. A mucosa dos ureteres apresentava área hemorrágica de 2cm, localizada em seu terço médio. À microscopia foram observados, nos rins, edema glomerular, degeneração tubular e presença de colônias bacterianas (DÓRIA et al., 2007).

Os achados de necropsia de um bovino Nelore, acometido por urolitíase obstrutiva, foram bexiga com urina turva, com desprendimento da serosa, espessamento da parede e mucosa hemorrágica. Cálculos foram visualizados no rim direito, na uretra da flexura sigmoide e na saída da bexiga para a uretra. Os achados histológicos revelaram tumefação das células epiteliais dos túbulos renais (ASSIS et al., 2009).

3. OBJETIVOS

Os objetivos deste estudo com ovinos confinados recebendo dieta concentrada com elevado teor proteico, suplementados ou não com cloreto de amônio, foram:

- Verificar o efeito da dieta fornecida no confinamento, rica em concentrado, sobre a formação de urólitos e desenvolvimento de urolitíase obstrutiva;
- Analisar as características macroscópicas e histopatológicas do sistema urinário;
- Relacionar os achados clínicos, os exames laboratoriais de função renal (ureia e creatinina) e necroscópicos com a presença de urólitos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais e ambiente de experimentação

Utilizaram-se 60 ovinos machos, não castrados, hípidos, mestiços das raças Ile de France X White Dorper, com três meses de idade. Os animais foram divididos em dois grupos, sendo que foi calculado o tamanho amostral de 40 animais para o Grupo I (GI) e 20 animais para o Grupo II (GII).

Os ovinos foram adquiridos de propriedade localizada no município de São Manuel-SP. Os cordeiros nasceram na pastagem, onde permaneceram junto com as ovelhas em tempo integral até 15 dias de idade. Depois disso foram confinados com disponibilidade de *creep-feeding* (20% PB e 75% NDT) e silagem de milho. A partir desta idade, realizou-se mamada controlada, quando as ovelhas eram submetidas ao manejo semi-intensivo, ficando a pasto durante o dia e recebendo suplementação de ração e silagem de milho à noite junto com os cordeiros. Esse manejo foi mantido até os cordeiros atingirem cerca de 20kg, com 70 a 90 dias de idade, quando foram desmamados. Em seguida foram transportados para o início do experimento, com peso médio inicial de 22kg.

Antes do início do experimento, todos os animais receberam vermífugo¹ (Moxidectina 1% injetável) e vacina contra Clostridioses². Depois disso, foram adaptados ao ambiente por 14 dias, alocados em baias coletivas de 4,0m x 3,0m (10 animais/baia) localizadas no Hospital Veterinário da FMVZ/UNESP-Botucatu. Todos os animais estiveram no mesmo ambiente em condições iguais de temperatura, umidade do ar e luminosidade. O piso de cimento da baia era revestido com maravalha, que era trocada, semanalmente, após lavagem e higienização das baias com solução de amônia quaternária.

A alimentação consistiu em ração total composta por 85% de ração comercial balanceada para terminação de cordeiros (milho, soja e trigo) e 15% de feno triturado de Coast-cross (cultivar *Cynodon dactylon*), fornecida em

¹ Cydectin®, Fort Dodge, Campinas-SP;

² Sintoxan Polivalente®, Merial, Campinas-SP

0,6m de cocho/animal. Forneceu-se sal mineral³, em cocho separado, e água *ad libitum*. A água era proveniente da SABESP (Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo) e era colocada, manualmente, duas vezes ao dia, em cocho de plástico de 100L.

A ração total foi fornecida à vontade, de forma farelada, favorecendo a mistura e homogeneização com o cloreto de amônio (CA), que era adicionado à alimentação no cocho. Para o cálculo do volume de CA, estabeleceu-se peso médio, a partir de pesagem semanal em balança, para o lote de animais de cada baia do Grupo GI, utilizando-se a dose de 400mg/kg/PV. Pela manhã, para garantir o consumo adequado de CA, limpava-se o cocho para retirar sobras do dia anterior e se fornecia pequena quantidade de ração total contendo a dose de CA para todos os cordeiros. Aguardava-se, portanto, o tempo necessário para que os animais ingerissem a ração suplementada com CA e somente depois disso que era adicionada ração à vontade.

Para a segurança experimental, a ração total foi submetida à análise bromatológica e foi caracterizada pelos seguintes níveis em matéria seca (MS): 20,34% de proteína bruta, 2,37% de extrato etéreo, 6,12% de fibra bruta e 4,41% de minerais. Realizou-se, também, análise dos minerais da ração total utilizada no experimento, e as dosagens de cálcio e fósforo foram de 4130ppm e 5515ppm de MS, respectivamente, o que resultou proporção Ca: P de 1:1,33. O consumo médio diário foi de 3% do peso vivo de MS, com média de 1,2kg de ração total durante o período experimental.

Iniciado o experimento, os animais foram identificados com colares cervicais numerados e distribuídos de forma aleatória para a constituição dos grupos, permanecendo nas respectivas baias por 56 dias, quando continuaram recebendo a mesma dieta do período de adaptação. O período experimental compreendeu o tempo usual de confinamento de cordeiros para abate, sendo desmamados com 60 a 80 dias de idade, com média de peso de 22kg e confinados por 60 dias, a fim de se atingir o peso médio final de 35 a 40kg de peso vivo com 150 dias de vida (PIRES et al., 2000; PRADO et al., 2013). Neste experimento o peso médio inicial dos cordeiros foi de 22,61 ± 4,19kg, e

³ Ovinofós com Monensina®, Tortuga Companhia Zootécnica Agrária, Mairinque-SP, Brasil.

no final do confinamento foi de $40,18 \pm 5,62$ kg, resultando em ganho de peso médio de 323g/dia.

4.2 Grupos experimentais

Constituíram-se dois grupos experimentais:

Grupo I – 40 animais, que receberam 400mg/kg/animal/dia de cloreto de amônio junto com a ração, durante todo o período experimental;

Grupo II – 20 animais, que não receberam cloreto de amônio.

Os animais foram observados diariamente e foi verificada a incidência de urolitíase nos dois grupos, durante todo o período experimental.

4.3 Sequência e protocolo experimental

Após o período de adaptação de 14 dias, os momentos (M) experimentais foram definidos como:

M0 - imediatamente antes do início da ingestão de CA no grupo GI (14 dias de confinamento);

M1 - sete dias após o início da ingestão de CA no grupo GI (21 dias de confinamento);

M2 – 14 dias após o início da ingestão de CA no grupo GI (28 dias de confinamento);

M3 – 21 dias após o início da ingestão de CA no grupo GI (35 dias de confinamento);

M4 – 28 dias após o início da ingestão de CA no grupo GI (42 dias de confinamento);

M5 – 35 dias após o início da ingestão de CA no grupo GI (49 dias de confinamento);

M6 – 42 dias após o início da ingestão de CA no grupo GI (56 dias de confinamento), e fim do confinamento.

Em todos os momentos, foram realizados exame físico (coloração das mucosas, palpação de linfonodos, aferição da temperatura retal, frequência cardíaca, respiratória e dos movimentos ruminais) e colhidas amostras de sangue total, para dosagem sérica de ureia e creatinina. Todas as colheitas de sangue foram procedidas no período da manhã, antes do fornecimento da alimentação, de forma padronizada quanto ao horário, sendo feitas das 6h às 8h.

Após 56 dias de confinamento recebendo a mesma dieta, os animais foram sacrificados e procedeu-se necropsia. O sistema urinário foi colhido para exame macro e microscópico imediatamente após o abate.

4.4 Análise da ração total (bromatológica e mineral)

A amostra de ração total, composta por 85% de ração comercial e 15% de feno, foi enviada ao Instituto Campineiro de Análise de Solo e Adubo (ICASA) para análise dos minerais P, Ca, Mg, S, Fe, Mn, Cu, Zn, Na, B e Mo através das leituras realizadas em Espectrofotômetro de Emissão por Plasma (ICP – Inductively Coupled Plasma). A análise bromatológica foi realizada pelo Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ/UNESP-Botucatu e determinou a Matéria Seca (MS), Proteína Bruta (PB), Extrato Etéreo (EE), Matéria Mineral (MM), Fibra Bruta (FB), Fibra em Detergente Ácido (FDA) e Fibra em Detergente Neutro (FDN).

4.5 Colheita das amostras

Os ovinos foram contidos em estação, manualmente, com o uso de cabresto, para a colheita de sangue e exame físico.

Para o exame bioquímico de ureia e creatinina, colheram-se amostras de sangue da veia jugular, com agulha⁴ 30x0,8mm, depositadas em tubos a vácuo, com gel ativador de coágulo⁴ e sem anticoagulante nos diferentes momentos.

As amostras foram centrifugadas⁵ a 2.000 x G por 10 minutos, o soro sanguíneo foi separado, armazenado em tubos⁶ de 2mL e congelados a -20°C. As alíquotas foram encaminhadas para análise no Serviço de Patologia Clínica do Departamento de Clínica Veterinária da FMVZ/UNESP-Botucatu. As amostras foram descongeladas e processadas em uma única vez. As dosagens foram feitas por *kits* comerciais⁷ pelos métodos: enzimático-colorimétrico, para a determinação da concentração de ureia, e método cinético-colorimétrico, para creatinina, com leitura em espectrofotômetro⁸.

O sistema urinário de cada animal foi analisado quanto às alterações macroscópicas e, posteriormente, foram colhidos fragmentos de cada órgão (rim, ureter, bexiga e uretra peniana), acondicionados em frascos e fixados em solução de formalina tamponada a 10%. Após 48 horas, as amostras foram transferidas para novos frascos contendo álcool etílico 70%. Em seguida, os fragmentos foram incluídos em parafina em cassetes para cortes histológicos de 5µm em micrótomo⁹, para confecção de lâminas, que foram coradas com Hematoxilina e Eosina (H.E.), no Serviço de Patologia Veterinária da FMVZ/UNESP-Botucatu. Todas as lâminas de histopatologia foram analisadas em microscópio óptico.

As alterações histopatológicas dos rins e da bexiga foram classificadas em ausentes, leves, moderadas e acentuadas de acordo com Guedes Jr. et al. (2012).

⁴ BD Vacutainer®, BD Medical, Curitiba-PR, Brasil.

⁵ Centrífuga Combate Celm® - Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos, Barueri-SP, Brasil.

⁶ Eppendorf do Brasil Ltda. São Paulo-SP, Brasil.

⁷ Katal® Biotecnológica Ind. Com. Ltda. Belo Horizonte-MG, Brasil

⁸ Aparelho SB-190 Celm® - Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos, Barueri-SP, Brasil.

⁹ RM2255 - Leica Biosystems. Leica do Brasil Importacao e Comércio Ltda. São Paulo-SP, Brasil.

4.6 Análise estatística

Os dados da bioquímica sérica (ureia e creatinina), dos parâmetros do exame físico (temperatura retal, frequência cardíaca, respiratória e dos movimentos ruminais), das alterações macro e microscópicas foram analisados pelo Software IBM SPSS Statistics, v.21, com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

As variáveis contínuas, parâmetros do exame físico (TC, FC, FR e MR) e os testes de bioquímica sérica (ureia e creatinina), em função da distribuição não normal das respostas, foram testadas entre os dois grupos experimentais (GI e GII) pelo teste de Mann-Whitney para identificar diferenças entre os grupos dentro do mesmo momento (M) de colheita. As medianas dessas variáveis também foram analisadas pelo teste de Friedman para identificar se havia alguma diferença ao longo dos sete momentos (M0 a M6), dentro de cada grupo. Quando houve diferença estatisticamente significativa, foi verificada através do teste *post-hoc* de Dunn.

As distribuições das variáveis categóricas, alterações macroscópicas e histopatológicas dos rins e bexiga foram avaliadas pelo teste do Qui-quadrado. A diferença estatística entre os grupos foi analisada pelo teste Z com correção de Bonferroni.

4.7 Aspectos éticos

Este projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FMVZ/UNESP-Botucatu, protocolo número 240/2012.– CEUA.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os animais, no início do experimento, estavam sadios, alerta, ativos e alimentando-se normalmente, mantendo-se nesse estado até o término do período experimental. Os animais dos grupos experimentais não apresentaram sinais clínicos de disúria, obstrução uretral, nem de ruptura de bexiga, por isso não foi necessário instituir tratamento conservativo, como a sondagem uretral para a técnica de hidropulsão retrógrada, nem cirúrgico, como a amputação do apêndice vermiforme, uretostomia perineal e cistotomia com colocação de catéter de "Foley".

5.1 Exame físico

Estão descritas, nas tabelas, as medianas, médias e desvio padrão das frequências cardíaca e respiratória, movimentos ruminais e temperatura retal dos animais (Tabelas 1, 2, 3, e 4). Os valores obtidos foram relacionados ao padrão de normalidade para a espécie ovina segundo Feitosa (2014).

TABELA 1. Médias (\bar{x}), desvios-padrão (s) e medianas (Md) da frequência cardíaca (bpm), nos diferentes momentos (M) de colheita, de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (GI e GII).

| M | GI (n=40) | | GII (n=20) | |
|-----------|-----------------|----------------------|-----------------|----------------------|
| | $\bar{x} \pm s$ | Md | $\bar{x} \pm s$ | Md |
| M0 | 116,30 ± 10,34 | 112,00 ^{Ba} | 108,40 ± 10,37 | 108,00 ^{Ba} |
| M1 | 118,80 ± 10,17 | 116,00 ^{Ba} | 109,40 ± 11,18 | 106,00 ^{Ba} |
| M2 | 101,1 ± 17,61 | 90,00 ^{ABa} | 92,80 ± 12,28 | 94,00 ^{ABa} |
| M3 | 86,40 ± 11,48 | 82,00 ^{Aa} | 91,00 ± 12,64 | 92,00 ^{ABa} |
| M4 | 87,90 ± 12,63 | 92,00 ^{ABa} | 82,40 ± 10,08 | 80,00 ^{Aa} |
| M5 | 82,60 ± 9,82 | 80,00 ^{Aa} | 90,20 ± 15,91 | 80,00 ^{Aa} |
| M6 | 83,60 ± 11,59 | 80,00 ^{Aa} | 89,60 ± 12,06 | 94,00 ^{ABb} |

^{a,b}Diferença estatística (p<0,05) entre os grupos, no mesmo momento.

^{A,B}Diferença estatística (p<0,05) entre os momentos, no mesmo grupo.

As medianas da FC permaneceram dentro do intervalo de referência para os ovinos jovens, 90 a 120bpm (FEITOSA, 2014), durante o experimento. Os valores de FC diferenciaram-se estatisticamente entre os grupos apenas no

M6, porém sem significado clínico, sendo que a mediana dos animais de GII apresentou maior FC que a dos animais do GI. Em ambos os grupos, existiram valores maiores nos primeiros momentos (M0 e M1) em relação às frequências mensuradas a partir do M3. No GI, os valores da FC, nos momentos M2 e M4, foram semelhantes tanto aos dos momentos M0 e M1, quanto aos demais. Já no GII, as medianas dos momentos M2, M3 e M6 foram similares aos demais estatisticamente. Isso pode ser explicado pelo comportamento dos animais (GONSALVES NETO et al., 2009), que, inicialmente, não estavam acostumados com a presença das pessoas e manipulação, como contenção, para realização de exame físico e colheita de sangue. Os cordeiros, portanto, ficavam muito agitados no início do período experimental e apresentavam FC mais elevada devido à agitação e movimentação dentro da baia.

TABELA 2. Médias (\bar{x}), desvios-padrão (s) e medianas (Md) da frequência respiratória (mpm), nos diferentes momentos (M) de colheita, de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (GI e GII).

| M | GI (n=40) | | GII (n=20) | |
|-----------|-----------------|---------------------|-----------------|---------------------|
| | $\bar{x} \pm s$ | Md | $\bar{x} \pm s$ | Md |
| M0 | 50,20 ± 13,06 | 48,00 ^{Aa} | 40,80 ± 8,66 | 42,00 ^{Aa} |
| M1 | 51,20 ± 13,68 | 48,00 ^{Aa} | 49,00 ± 12,96 | 46,00 ^{Aa} |
| M2 | 50,50 ± 13,21 | 46,00 ^{Aa} | 46,00 ± 10,09 | 44,00 ^{Aa} |
| M3 | 48,80 ± 13,16 | 44,00 ^{Aa} | 46,80 ± 11,90 | 44,00 ^{Aa} |
| M4 | 48,20 ± 12,21 | 44,00 ^{Aa} | 46,20 ± 12,34 | 42,00 ^{Aa} |
| M5 | 46,10 ± 9,96 | 44,00 ^{Aa} | 53,20 ± 13,74 | 56,00 ^{Bb} |
| M6 | 50,40 ± 14,05 | 46,00 ^{Aa} | 46,20 ± 10,81 | 44,00 ^{Aa} |

^{a,b}Diferença estatística (p<0,05) entre os grupos, no mesmo momento.

^{A,B}Diferença estatística (p<0,05) entre os momentos, no mesmo grupo.

As medianas da FR permaneceram dentro do intervalo de referência para os ovinos jovens 36 a 48mpm segundo Feitosa (2014) durante o experimento. Os valores da FR se mostraram semelhantes nos dois grupos experimentais. Houve diferença estatística entre os grupos apenas no M5, em que o GII apresentou maior FR que GI. No GII, a mediana em M5 se diferenciou das demais e ficou acima do considerado fisiológico para a espécie. No entanto, essas informações não apresentaram nenhum significado clínico.

TABELA 3. Médias (\bar{x}), desvios-padrão (s) e medianas (Md) da frequência dos movimentos ruminais (MR) em cinco minutos, nos diferentes momentos (M) de colheita, de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (GI e GII).

| M | GI (n=40) | | GII (n=40) | |
|-----------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|
| | $\bar{x} \pm s$ | Md | $\bar{x} \pm s$ | Md |
| M0 | 5,42 ± 1,23 | 5,00 ^{Aa} | 5,15 ± 0,93 | 5,00 ^{Aa} |
| M1 | 5,32 ± 1,16 | 5,00 ^{Aa} | 4,90 ± 0,96 | 5,00 ^{Aa} |
| M2 | 5,40 ± 1,18 | 5,00 ^{Aa} | 5,05 ± 1,14 | 5,00 ^{Aa} |
| M3 | 5,20 ± 1,01 | 5,00 ^{Aa} | 5,30 ± 1,12 | 5,00 ^{Aa} |
| M4 | 5,30 ± 1,09 | 5,00 ^{Aa} | 5,30 ± 0,92 | 5,00 ^{Aa} |
| M5 | 5,15 ± 0,89 | 5,00 ^{Aa} | 5,25 ± 0,96 | 5,00 ^{Aa} |
| M6 | 5,20 ± 0,99 | 5,00 ^{Aa} | 5,10 ± 0,85 | 5,00 ^{Aa} |

^{a,b}Diferença estatística (p<0,05) entre os grupos, no mesmo momento.

^{A,B}Diferença estatística (p<0,05) entre os momentos, no mesmo grupo.

Os valores de MR foram inferiores ao considerado normal para a espécie, de sete a 14 movimentos em cinco minutos (FEITOSA, 2014), e não apresentaram diferença estatística entre os grupos e momentos. Os valores das medianas de MR foram de cinco em cinco minutos e são justificados pelo tipo de alimentação farelada e composta, majoritariamente, por grãos, que era consumida pelos animais deste experimento. Segundo Feitosa (2014), alimentos ricos em fibras (feno, capim) provocam aumento na intensidade, duração e frequência dos ruídos e força dos movimentos ruminais; já produtos ricos em grãos (milho, soja, trigo) produzem MR reduzidos em ruídos e força de contração.

TABELA 4. Médias (\bar{x}), desvios-padrão (s) e medianas (Md) da temperatura retal, nos diferentes momentos (M) de colheita, de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (GI e GII).

| M | GI (n=40) | | GII (n=40) | |
|-----------|-----------------|---------------------|-----------------|---------------------|
| | $\bar{x} \pm s$ | Md | $\bar{x} \pm s$ | Md |
| M0 | 39,48 ± 0,45 | 39,45 ^{Aa} | 39,51 ± 0,44 | 39,50 ^{Aa} |
| M1 | 39,34 ± 0,35 | 39,30 ^{Aa} | 39,52 ± 0,36 | 39,55 ^{Aa} |
| M2 | 39,44 ± 0,55 | 39,50 ^{Aa} | 39,48 ± 0,22 | 39,55 ^{Aa} |
| M3 | 39,31 ± 0,66 | 39,50 ^{Aa} | 39,41 ± 0,34 | 39,40 ^{Aa} |
| M4 | 39,34 ± 0,40 | 39,40 ^{Aa} | 39,19 ± 0,35 | 39,10 ^{Aa} |
| M5 | 39,31 ± 0,44 | 39,25 ^{Aa} | 39,40 ± 0,34 | 39,40 ^{Aa} |
| M6 | 39,27 ± 0,33 | 39,25 ^{Aa} | 39,47 ± 0,29 | 39,40 ^{Aa} |

^{a,b}Diferença estatística (p<0,05) entre os grupos, no mesmo momento.

^{A,B}Diferença estatística (p<0,05) entre os momentos, no mesmo grupo.

A temperatura retal permaneceu dentro dos padrões de referência para ovinos jovens, considerando o intervalo de 39,0 a 40,5°C de acordo com Feitosa (2014), em todas as médias e medianas das aferições. Não houve manifestação clínica de hipertermia, nem de sinais compatíveis com síndrome febre, visto que os cordeiros se mantiveram saudáveis durante o período experimental.

Guimarães et al. (2012), em estudo retrospectivo de 66 casos de urolitíase obstrutiva em ovinos, descreveram que 93,34% dos animais apresentaram taquicardia; 84,13%, mucosas congestas; 83,87%, taquipneia; 59,02%, hipotonia ruminal, além de manifestações de dor e alteração de comportamento (apatia). Já Sousa et al. (2011) observaram mucosas pálidas, letargia, desidratação e disúria. De acordo com Riet-Correa et al. (2008), as primeiras manifestações clínicas da urolitíase obstrutiva são timpanismo ruminal e anorexia, o que pode confundir o clínico. Segundo Ortolani (1996), a manifestação de dor abdominal é proveniente da síndrome cólica devido à dificuldade de micção. A febre, taquicardia e taquipneia também podem estar relacionadas à dor, a qual desencadeia a liberação de prostaglandina, adrenalina e noradrenalina, que são os mediadores químicos desses processos (GUIMARÃES et al., 2012), porém esses sinais clínicos não foram observados neste estudo, porque, apesar da formação do cálculo, não houve obstrução urinária.

5.2 Exames bioquímicos (ureia e creatinina)

Os valores de creatinina (Tabela 5) permaneceram abaixo do intervalo de variação fisiológica para a espécie durante todo o experimento, segundo Kaneko et al. (2008), de 1,2 a 1,9mg/dL. Enquanto que os resultados da mensuração de ureia (Tabela 6) se mostraram maiores que a faixa de normalidade de 17,12 a 42,8mg/dL, em todos os grupos e momentos.

TABELA 5. Médias (\bar{x}), desvios-padrão (s) e medianas (Md) de creatinina (mg/dL) sérica, nos diferentes momentos de colheita, de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (GI e GII).

| M | GI (n=40) | | GII (n=20) | |
|-----------|-----------------|---------------------|-----------------|--------------------|
| | $\bar{x} \pm s$ | Md | $\bar{x} \pm s$ | Md |
| M0 | 1,10 ± 0,39 | 0,99 ^{Aa} | 0,98 ± 0,54 | 0,86 ^{Aa} |
| M1 | 1,11 ± 0,37 | 1,13 ^{Aa} | 0,87 ± 0,24 | 0,85 ^{Ab} |
| M2 | 0,85 ± 0,28 | 0,83 ^{ABa} | 0,73 ± 0,10 | 0,71 ^{Bb} |
| M3 | 0,96 ± 0,91 | 0,82 ^{ABa} | 0,73 ± 0,09 | 0,72 ^{Bb} |
| M4 | 0,75 ± 0,19 | 0,73 ^{Ba} | 0,69 ± 0,11 | 0,71 ^{Ba} |
| M5 | 0,76 ± 0,17 | 0,77 ^{Ba} | 0,75 ± 0,19 | 0,81 ^{Aa} |
| M6 | 0,80 ± 0,36 | 0,73 ^{Ba} | 0,73 ± 0,23 | 0,70 ^{Ba} |

^{a,b}Diferença estatística (p<0,05) entre os grupos, no mesmo momento.

^{A,B}Diferença estatística (p<0,05) entre os momentos, no mesmo grupo.

Embora todos os valores da dosagem sérica da creatinina tenham permanecido abaixo do intervalo de referência, houve diferença estatística entre os dois grupos nos momentos M1, M2 e M3. Nos três momentos, os valores medianos dos valores do GI foram maiores que GII. Isso se iniciou, exatamente, sete dias após o início do tratamento com cloreto de amônio (M1) no GI, promovendo alterações na fisiologia renal, como a diurese osmótica, já que resta o Cl⁻ e a ureia nos túbulos renais, sendo o Cl⁻ excretado como um sal com o Na e volume equivalente de água (TATON, 1984; BEREND et al., 2012), porém sem causar danos clinicamente detectáveis.

Existiu diferença estatística dentro dos dois grupos, ao longo dos momentos, fazendo com que os valores de creatinina tenham diminuído, provavelmente, por mecanismos compensatórios fisiológicos de adaptação à dieta e ao acidificante urinário no GI. No GI, os valores, nos momentos M0 e M1 foram semelhantes entre si, e maiores que os resultados dos demais momentos. As medianas dos momentos M2 e M3 foram similares aos valores de M0, M1, M4, M5 e M6. Os últimos três momentos apresentaram medianas menores que os anteriores. No GII, as medianas dos momentos M0, M1 e M5 foram semelhantes entre si e foram maiores que as medianas dos momentos M2, M3, M4 e M6.

Os resultados em GI foram menores após maior tempo de uso do cloreto de amônio, o que pode ser explicado pelo efeito diurético promovido por esse sal (STRATTON-PHELPS & HOUSE, 2004), porém o GII, que não recebeu o

tratamento, também mostrou valores mais baixos. Isso pode estar relacionado à maior ingestão de água observada durante o experimento devido à apresentação farelada da ração total. Além disso, segundo Araújo et al. (2009), quanto maior ingestão de proteína ou nitrogênio não-proteico maior será a ingestão de água, com aumento da produção urinária. Assim, os animais, provavelmente, urinaram maior volume, excretaram mais creatinina e, conseqüentemente, os níveis séricos diminuíram.

TABELA 6. Médias (\bar{x}), desvios-padrão (s) e medianas (Md) de ureia (mg/dL) sérica, nos diferentes momentos de colheita, de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (GI e GII).

| M | GI (n=40) | | GII (n=20) | |
|-----------|-----------------|----------------------|-----------------|----------------------|
| | $\bar{x} \pm s$ | Md | $\bar{x} \pm s$ | Md |
| M0 | 49,96 ± 23,53 | 44,18 ^{ABa} | 50,46 ± 37,26 | 43,20 ^{ABa} |
| M1 | 45,71 ± 19,32 | 39,50 ^{Aa} | 45,57 ± 12,46 | 44,95 ^{ABa} |
| M2 | 59,59 ± 16,77 | 56,10 ^{Ba} | 44,61 ± 12,98 | 45,70 ^{ABb} |
| M3 | 45,66 ± 15,84 | 44,90 ^{Aa} | 61,75 ± 26,93 | 62,70 ^{Ab} |
| M4 | 55,48 ± 16,73 | 53,75 ^{ABa} | 66,95 ± 18,16 | 68,80 ^{Bb} |
| M5 | 46,21 ± 17,12 | 42,35 ^{Aa} | 51,50 ± 21,47 | 46,55 ^{ABa} |
| M6 | 51,35 ± 23,31 | 47,55 ^{ABa} | 54,87 ± 25,38 | 48,10 ^{ABa} |

^{a,b}Diferença estatística ($p < 0,05$) entre os grupos, no mesmo momento.

^{A,B}Diferença estatística ($p < 0,05$) entre os momentos, no mesmo grupo.

As médias e medianas das concentrações da ureia sérica se mostraram maiores que o padrão de referência para a espécie, porém houve diferença estatística entre os grupos nos momentos M2, M3 e M4. No M2, GI apresentou mediana maior que GII, enquanto nos momentos M3 e M4 o GII mostrou valores maiores que GI. Os animais, porém, não apresentaram sintomatologia clínica de alteração da função renal. Se houvesse sinais de insuficiência ou alteração na funcionalidade renal seria observada diminuição de apetite, inicialmente, e, depois, alterações na frequência de micção. E em casos mais graves, surgiriam os sinais de uremia (LEFEBVRE et al., 1999). Os níveis aumentados de ureia, nesse caso, podem ser relacionados à alta ingestão proteica da dieta. Os animais foram alimentados durante o experimento com ração total que possuía 20% PB, correspondente ao nível indicado para

crescimento e terminação de cordeiros – de 12 a 24% PB (ZUNDT et al. 2002; PRADO et al. 2013).

Ao longo dos momentos, nos dois grupos, houve oscilação na concentração de ureia sérica, apresentando diferenças estatísticas. No GI, a mediana do M2 se diferiu dos momentos M1, M3 e M5. No GII, a mediana do M2 foi, estatisticamente, diferente de M4.

Grande parte da proteína verdadeira ingerida é convertida em amônia, aminoácidos e peptídeos no rúmen, sendo a amônia a fonte de nitrogênio preferida para a síntese de proteína microbiana. Quando a taxa de produção de amônia excede as necessidades microbianas, o excesso é absorvido pelo epitélio ruminal e convertido em ureia pelo fígado. Uma parte dessa ureia pode ser reciclada, retornando ao rúmen pela saliva, mas a maior parte vai para a circulação sanguínea e é eliminada pelos rins, por filtração glomerular e reabsorção tubular por processo passivo, secundário à reabsorção de fluidos. Assim, a quantidade de ureia excretada e a concentração sérica são influenciadas pela ingestão de PB (RENNÓ et al., 2000).

A creatinina é o marcador de lesão renal mais eficaz que a ureia, pois em animais sadios ela não é reabsorvida pelas células dos túbulos renais, além de não ser influenciada pela dieta (BRAUN et al., 2010). Embora a creatinina se mostre elevada apenas quando há comprometimento de mais de 70% dos néfrons (KOZLOSKI et al., 2005), a análise conjunta da ureia e a ausência do quadro clínico compatível com nefropatia dos animais permitiram excluir disfunções renais durante o experimento. Isso era esperado uma vez que não houve obstrução do fluxo urinário por cálculos.

Sacco & Lopes (2011) não observaram aumento nas concentrações séricas de creatinina (1,54mg/dL) no grupo de bovinos Guzerá com urolitíase devido à dureza da água, assim como Dória et al. (2007), que relataram um caso em carneiro, porém esse animal foi desobstruído apenas com tratamento com antiespasmódico. Já em outros dois caprinos, da raça Boer, houve aumento expressivo de ureia (442,95mg/dL) e creatinina (5,65mg/dL) (DÓRIA et al., 2007). Guimarães et al. (2012) detectaram azotemia nos 66 animais estudados com média de 4,71mg/dL de creatinina e 185,61mg/dL de ureia. Apesar das dosagens de ureia e creatinina atingirem valores elevados, esses

foram relacionados à estase urinária e consequente reabsorção desses compostos, o que caracteriza azotemia pós-renal e não propriamente uma insuficiência renal (GUIMARÃES et al., 2012).

George et al. (2007) notaram aumento de ureia e creatinina em 107 caprinos com urolitíase obstrutiva, com média de 73,2mg/dL e 6,3mg/dL, respectivamente. Observou-se azotemia (184,84mg/dL de ureia e 3,64mg/dL de creatinina) em um ovino, macho, com obstrução uretral, como descrito por Sousa et al. (2011). Streeter et al. (2002) também constataram aumento de creatinina (3,9mg/dL) em caprino de três meses de idade com urolitíase obstrutiva.

5.3 Alterações macroscópicas do sistema urinário

O exame macroscópico do sistema urinário dos ovinos dos dois grupos revelou cálculos de aspecto arenoso nos rins (Figura 1 e 2) em 16,67% (10/60) dos animais. Houve diferença estatística entre os grupos somente para a presença de cálculo, sendo significativamente maior no Grupo controle, com 25% (5/20) dos ovinos em relação ao Grupo CA com 12,5% (5/40) dos animais que apresentaram cálculos na pelve e cálices renais. Outras alterações patológicas macroscópicas foram encontradas como congestão de medular renal, alteração da definição córtico-medular renal, dilatação da pelve e hidronefrose com dilatação unilateral de ureter (Figuras 3 e 4; Tabela 7).

TABELA 7. Alterações macroscópicas do sistema urinário no *post-mortem* de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (GI e GII).

| Alterações | GI (n=40) | GII (n=20) |
|------------------------------------|---------------------------|-------------------------|
| Cálculos renais (pelve) | 12,5% (5/40) ^a | 25% (5/20) ^b |
| Dilatação da pelve renal | 7,5% (3/40) ^a | 5% (1/20) ^a |
| Perda da definição córtico-medular | 15% (6/40) ^a | 20% (4/20) ^a |
| Hidroureter e hidronefrose | 0% (0/40) ^a | 5% (1/20) ^a |
| Congestão da medular renal | 30% (12/40) ^a | 30% (6/20) ^a |

^{a,b}diferença estatística entre as porcentagens das colunas, pelo teste Z com correção de Bonferroni (p<0,05).



FIGURA 1. Rim de um ovino do G1, apresentando congestão da medular e pequenos cálculos (seta).

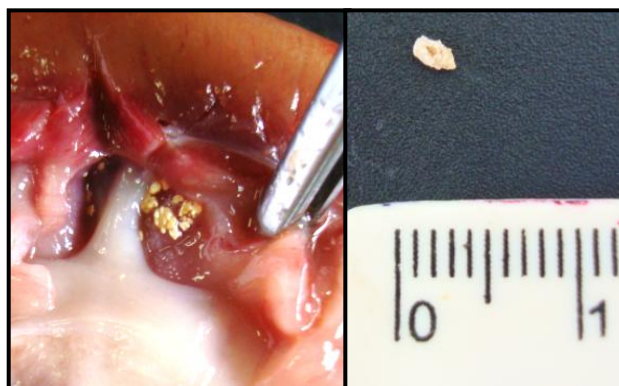


FIGURA 2. Presença de cálculos na pelve e medular do rim de um ovino do G1, e amostra de cálculo.



FIGURA 3. Rim direito de um ovino do GII apresentando dilatação do ureter devido à presença de cálculos. Nota-se o aumento de volume renal.



FIGURA 4. Rim direito de um ovino do GII apresentando dilatação da pelve renal e pequenos cálculos (seta).

Obstruções parcial ou total de ureter provocam dor intensa pela migração dos cálculos dos rins até a bexiga em qualquer espécie animal (EWOLDT et al., 2008). Apesar disso, um cordeiro do GII apresentou hidroureter e discreta hidronefrose no *post-mortem* (Figura 3), e não foi detectada manifestação dolorosa ou diminuição de apetite neste animal até o final do período de confinamento. Isso corrobora com descrição da manifestação clínica de caprinos após obstrução ureteral unilateral total e bilateral parcial experimental relatada por El-Kammar et al. (2012). Nesse estudo os autores referiram que os animais ficaram deprimidos, apresentaram tremores e arqueamento do dorso no primeiro dia após a obstrução experimental por ligadura cirúrgica do ureter, porém a partir do quarto dia, todos os caprinos passaram a se alimentar, tomar água, defecar e urinar normalmente. Assim, pode-se dizer que o cordeiro do presente trabalho possa ter apresentado dor entre os períodos de observação clínica diária nos últimos momentos de colheita do experimento enquanto ocorria o processo de obstrução parcial unilateral do ureter, entretanto seu comportamento estava normalizado nos dias anteriores à necropsia.

Com exceção dos achados de necropsia relacionados à obstrução ou ruptura uretral e ruptura vesical, as alterações macroscópicas dos rins corroboraram os dados presentes na literatura (LORETTI et al., 2003; RIET-CORREA et al., 2008; ASSIS et al., 2009; GUIMARÃES et al., 2012). Isso

porque não houve detecção clínica da obstrução do fluxo urinário, porém encontraram-se cálculos, principalmente, na pelve renal neste estudo.

Os achados patológicos dos rins, como congestão medular e hemorragia, em bovinos com urolitíase, estudados por Sahinduran et al. (2007), corroboraram as alterações visualizadas neste estudo. Além disso, observaram-se urólitos nesses animais apenas no *post-mortem*, localizados na pelve e nos cálices renais, assim como ocorreu neste trabalho.

Os achados necroscópicos deste trabalho foram semelhantes aos achados descritos nos trabalhos de Dória et al. (2007), Riet-Correa et al. (2008) e Guimarães et al. (2012) relacionados a ovinos acometidos por urolitíase em Jaboticabal-SP, Paraíba e Pernambuco, que citaram ocorrência de congestão renal, pielonefrite, hidronefrose, cistite hemorrágica difusa, presença de urólitos na bexiga e na uretra.

5.4 Alterações microscópicas do sistema urinário

No exame histopatológico do sistema urinário, foram observadas diversas alterações nos rins e bexiga, que estão descritas nas Tabelas 8 e 9, respectivamente, e ilustradas nas Figuras 5 e 6. Os fragmentos de ureter e uretra peniana, por sua vez, não demonstraram alterações microscópicas. Isso se deve à ausência de lesões macroscópicas, como obstrução uretral e ureteral por cálculos, com exceção de um animal do GII que apresentou obstrução parcial unilateral do ureter conforme visualizado na Figura 3.

Entre as alterações histopatológicas renais descritas houve diferença estatística entre os grupos somente em congestão vascular leve e necrose tubular leve. O GII apresentou congestão vascular leve em 30% dos animais, enquanto, no GI, apenas 7,5%. Quanto à necrose tubular, 70% dos ovinos do GII e 40% dos animais do GII apresentaram essa alteração em grau leve.

As alterações que mostraram maior relevância em ambos os grupos, em ordem crescente, foram: sinéquias glomerulares em 18,3% (11/60) dos animais; congestão vascular com 21,7% (13/60) de cordeiros acometidos; proteína na luz tubular, que esteve presente em 35% (21/60) dos cortes

histológicos dos rins; infiltrado inflamatório mononuclear foi encontrado em 36,7% (22/60) dos ovinos; e necrose tubular ocorreu em mais da metade dos rins dos cordeiros estudados - 60% (36/60). Enquanto as demais alterações microscópicas, como dilatação e degeneração tubular, e fibrose cortical, demonstraram pouca importância devido à baixa prevalência encontrada.

TABELA 8. Alterações microscópicas renais de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (GI e GII).

| Alterações | Grau | Grupos | |
|-------------------------------------|-----------|----------------------------|---------------------------|
| | | GI (n=40) | GII (n=20) |
| Congestão vascular | Ausente | 90% (36/40) ^a | 55% (11/20) ^b |
| | Leve | 7,5% (3/40) ^a | 30% (6/20) ^b |
| | Moderado | 2,5% (1/40) ^a | 15% (3/20) ^a |
| Dilatação tubular | Ausente | 95% (38/40) ^a | 90% (18/20) ^a |
| | Leve | 0% (0/40) ^a | 5% (1/20) ^a |
| | Moderado | 2,5% (1/40) ^a | 5% (1/20) ^a |
| | Acentuado | 2,5% (1/40) ^a | 0% (0/20) ^a |
| Degeneração tubular | Ausente | 97,5% (39/40) ^a | 90% (19/20) ^a |
| | Leve | 2,5% (1/40) ^a | 10% (1/20) ^a |
| Necrose tubular | Ausente | 50% (20/40) ^a | 20% (4/20) ^b |
| | Leve | 40% (16/40) ^a | 70% (14/20) ^b |
| | Moderado | 10% (4/40) ^a | 10% (2/20) ^a |
| Infiltrado inflamatório mononuclear | Ausente | 62,5% (25/40) ^a | 60% (12/20) ^a |
| | Leve | 27,5% (11/40) ^a | 30% (6/20) ^a |
| | Moderado | 10% (4/40) ^a | 10% (2/20) ^a |
| Proteína na luz tubular | Ausente | 62,5% (25/40) ^a | 70% (14/20) ^a |
| | Leve | 37,5% (15/40) ^a | 25% (5/20) ^a |
| | Moderado | 0% (0/40) ^a | 5% (1/20) ^a |
| Sinéquias glomerulares | Ausente | 82,5% (33/40) ^a | 80% (16/20) ^a |
| | Leve | 17,5% (7/40) ^a | 20% (4/20) ^a |
| Fibrose cortical | Ausente | 87,5% (35/40) ^a | 100% (20/20) ^a |
| | Leve | 12,5% (5/40) ^a | 0% (0/40) ^a |

^{a,b}diferença estatística entre as porcentagens das colunas, pelo teste Z com correção de Bonferroni ($p < 0,05$).

Congestão vascular (Figura 5A) foi observada em 10% dos animais do GI e em 45% dos animais do GII, o que pode estar ligada a processos inflamatórios (MAXIE & NEWMAN, 2007, RAEKALLIO et al., 2010).

Dilatação tubular (Figura 5B e 5C) apareceu em apenas 5% dos animais do GI e 10% dos animais do GII. A degeneração tubular (Figura 5E) também foi notada em poucos animais, sendo um animal de cada grupo.

Observou-se necrose tubular (Figura 5F, 6A) em 50% dos ovinos do GI e 80% do GII, o que pode ser considerada a lesão renal mais relevante encontrada nos animais deste estudo, visto que foi encontrada em muitos animais (60%), além de ser uma alteração irreversível (MAXIE & NEWMAN, 2007; RAEKALLIO et al., 2010).

Visualizou-se infiltrado inflamatório mononuclear (Figura 5D) em cerca de 40% dos animais em ambos os grupos, com predomínio de linfócitos e plasmócitos. Não foi verificada presença de células polimorfonucleares, possivelmente por se tratar de lesões inflamatórias mais crônicas (MAXIE & NEWMAN, 2007; RAEKALLIO et al., 2010).

A presença de proteína na luz tubular (Figura 6D) apareceu em 37,5% dos cordeiros do GI e 30% no GII, ou seja, de forma semelhante nos dois grupos. Isso pode ser explicado pelo consumo da mesma dieta e pelo alto teor de PB (BRAUN et al., 2010; BOTELHO et al., 2012). Sinéquias glomerulares (Figura 6E) estiveram presentes em 17,5% dos animais do GI e 20% do GII. A ocorrência dessa alteração também é diretamente afetada pela alta ingestão proteica (20% PB), pois o animal acaba excretando o excesso de proteína ingerida pela urina, o que categoriza proteinúria pré-renal (GARCIA-NAVARRO, 2005), e danifica os glomérulos (RABINOWITZ et al., 1973; PALVIAINEN et al., 2012), contribuindo para a formação do núcleo proteico do urólito (RADOSTITS et al., 2007).

A hiperproteneimias também se manifestou com níveis elevados de ureia sérica (RENNÓ et al., 2000) conforme mostra a Tabela 6. Esses achados sugeriram grau leve de glomerulonefrite (FRELIER et al., 1990). Esses autores encontraram hipoalbuminemia, hipocalcemia, hiperfosfatemia e uremia em quatro cordeiros com mesangiocapilar glomerulonefrite tipo I, corroborando com a ureia aumentada deste trabalho.

Em Medicina Veterinária, os tipos morfológicos das glomerulonefrites não são comumente associados com a apresentação clínica, curso clínico ou

resolução, como observado em humanos (INKELMANN et al., 2012a). Sabe-se que o tipo mais frequente em cães é a glomerulonefrite membranoproliferativa. Para classificação morfológica dessa enfermidade sugere-se a coloração com ácido periódico de Schiff - PAS (MAXIE & NEWMAN 2007).

A presença de proteína na luz tubular também categoriza lesão tubular, visto que apenas proteínas de baixo peso molecular (albumina) ultrapassam o glomérulo, porém são reabsorvidas pelas células epiteliais tubulares. A proteinúria pode resultar da diminuição da capacidade de reabsorção tubular ou de lesão tubular, mas a maioria das proteinúrias é uma consequência da alteração da filtração glomerular (FRELIER et al., 1990). A proteinúria sem os achados de sedimento inflamatório urinário, que denotaria proteinúria pós-renal, é o marco principal da doença glomerular (GARCIA-NAVARRO, 2005).

A fibrose (Figura 6B e 6C) foi observada somente no GI, porém em apenas cinco animais. El-Kammar et al. (2012) também observaram infiltrado mononuclear e fibrose nos rins de caprinos com hidronefrose devido à indução experimental de obstrução ureteral.

TABELA 9. Alterações microscópicas vesicais de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (GI e GII).

| Alterações | Grau | Grupos | |
|--|---------|----------------------------|--------------------------|
| | | GI (n=40) | GII (n=20) |
| Congestão vascular | Ausente | 97,5% (39/40) ^a | 95% (19/20) ^a |
| | Leve | 2,5% (1/40) ^a | 5% (1/20) ^a |
| Infiltrado inflamatório mononuclear | Ausente | 90% (36/40) ^a | 90% (18/20) ^a |
| | Leve | 10% (4/40) ^a | 10% (2/20) ^a |

^{a,b}diferença estatística entre as porcentagens das colunas, pelo teste Z com correção de Bonferroni ($p < 0,05$).

As alterações vesicais observadas não apresentaram diferença estatística entre os grupos, nem relevância clínica. Notou-se congestão vascular leve (Figura 6F) em um animal de cada grupo e infiltrado inflamatório mononuclear em 10% dos animais em ambos os grupos. A ausência de outras alterações

pode ser justificada pela inexistência de lesões macroscópicas na bexiga, como cistite ou presença de cálculos (MAXIE & NEWMAN, 2007).

Embora não se tenha obtido casos de urolitíase obstrutiva durante o período experimental, o uso do cloreto de amônio não impediu a formação de cálculos renais, que foram visualizados no exame macroscópico, no entanto detectou-se menor número de animais do GI com necrose tubular renal comparado ao GII. Isso demonstra que este acidificante urinário não predispõe ao desenvolvimento de lesões renais pelo seu uso contínuo na dieta, mas que a dieta rica em grãos provoca alterações relevantes que foram detectadas no exame histopatológico.

Santarosa et al. (2008) e Barbosa et al. (2008) estudaram o perfil bioquímico renal e hepático, respectivamente, de ovinos confinados e suplementados com cloreto de amônio, e não verificaram aumento de ureia, creatinina e das enzimas hepáticas. Afirmaram que esse sal acidificante não provocou prejuízos aos rins e fígado de ovinos. No presente estudo, também não foi notado aumento dos exames bioquímicos de função renal que justificassem as alterações encontradas no exame histopatológico, embora os níveis de ureia estivessem acima dos padrões de referência para a espécie ovina. Isso corrobora a literatura, que afirma existir aumento significativo dos exames de função renal quando ocorre grande comprometimento dos néfrons, em cerca de 70% (KOZLOSKI et al., 2005), e neste estudo, as lesões microscópicas encontradas foram classificadas como leve na maioria dos animais.

Os achados histopatológicos dos rins, como congestão vascular, infiltrado inflamatório, degeneração e necrose tubular deste estudo, concordaram com os descritos por diversos autores que relataram casos de urolitíase obstrutiva em ruminantes (DÓRIA et al., 2007; SILVA et al., 2008; ASSIS et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2013). As lesões diagnosticadas, no entanto, se diferenciaram das descritas por Dória et al. (2007), que encontraram edema glomerular e presença de bactérias nos rins de um caprino. Silva et al. (2008), diferentemente deste estudo, descreveram hemorragia intersticial no rim do bovino, enquanto, neste trabalho, foi encontrada apenas congestão vascular. Embora se tenha visualizado fibrose no rim em apenas um ovino do GI, e

poucos animais com dilatação tubular, Oliveira et al. (2013) também descreveram essas lesões em um bovino. Os mesmos autores referiram predominância de linfócitos no infiltrado inflamatório e presença de proteína na luz tubular, assim como ocorreu nos cordeiros deste estudo. Apesar de se detectar alta porcentagem de animais com sinéquias glomerulares, neste experimento, não foi observada degeneração glomerular como Silva et al. (2008) relataram em um bovino.

As lesões histopatológicas da bexiga foram compatíveis com as descritas por Silva et al. (2008), que relataram infiltrado inflamatório e congestão da submucosa, porém esses autores discutiram um caso de cistite secundária à obstrução total da uretra, o que não ocorreu no presente estudo.

Os exames macroscópico e histopatológico do sistema urinário dos ovinos, nesse estudo, junto aos dados do exame clínico e da função renal, foram úteis para o diagnóstico preciso das alterações renais decorrentes da alimentação rica em grãos e da suplementação de cloreto de amônio nos animais do GI.

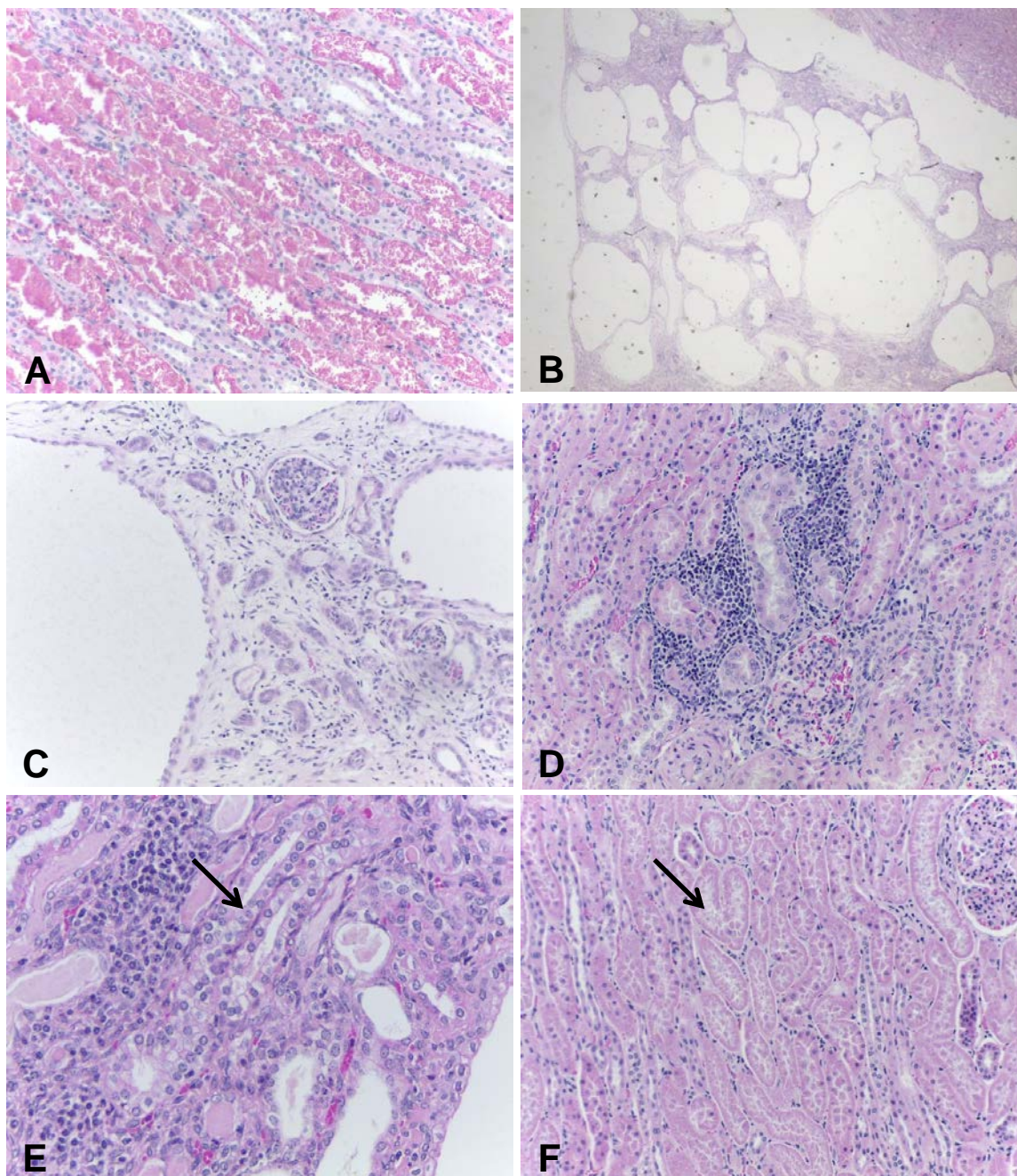


FIGURA 5. Cortes histológicos do sistema urinário de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio. A) Rim. Congestão vascular, HE (20x). B e C) Acentuada dilatação tubular, HE (2,5x e 20x). D) Rim. Infiltrado inflamatório mononuclear (linfocítico), HE (20x). E) Rim. Degeneração tubular (seta), HE (40x). F) Rim. Necrose tubular (seta), HE (20x).

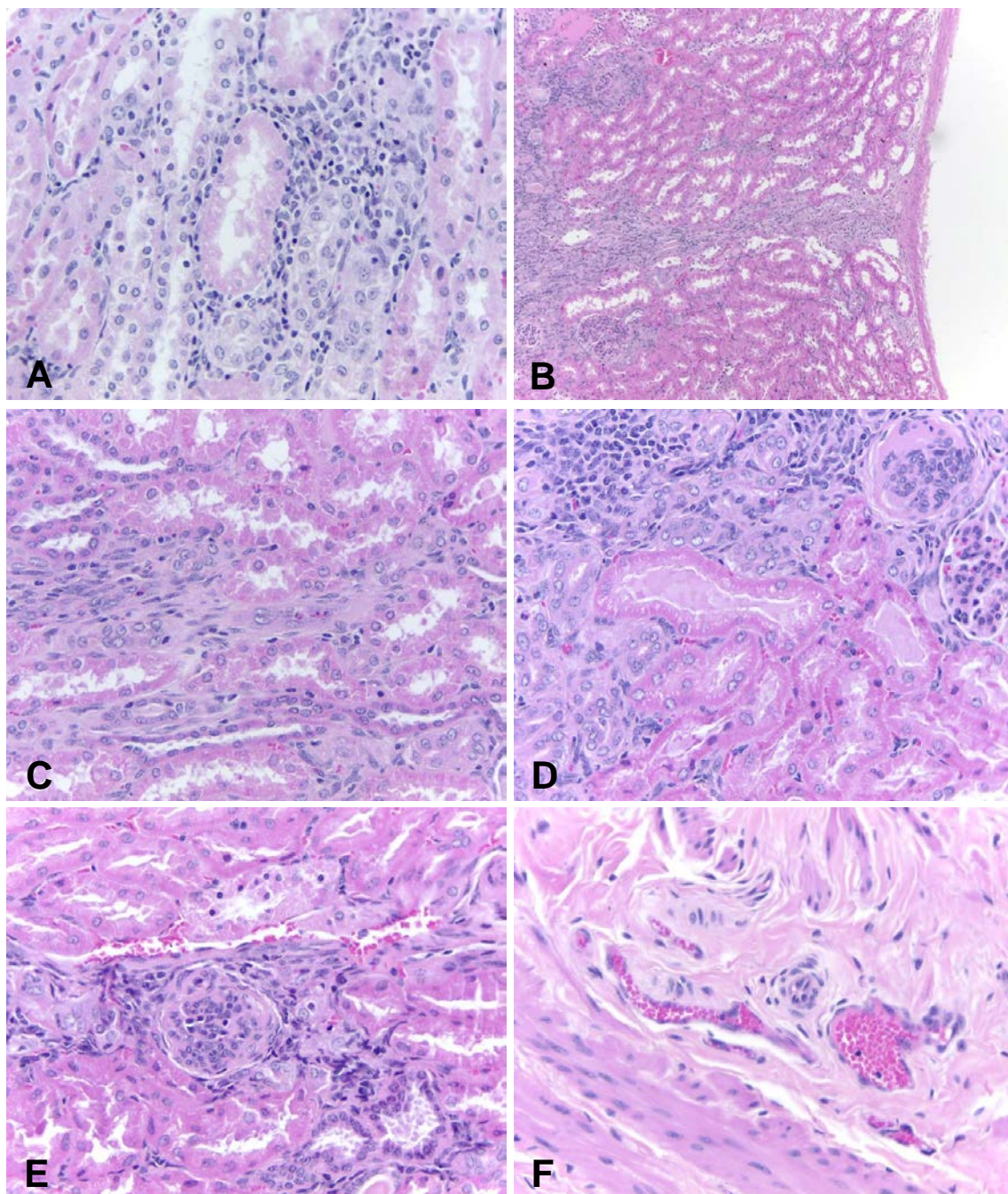


FIGURA 6. Cortes histológicos do sistema urinário de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio. A) Rim. Necrose tubular, HE (40x). B e C) Rim. Fibrose, HE (10x e 40x). D) Rim. Proteína na luz tubular (material amorfo eosinofílico), HE (40x). E) Rim. Sinéquia e esclerose glomerular, HE (40x). F) Bexiga. Congestão vascular, HE (40x).

6. CONCLUSÕES

- A dieta rica em concentrado proporcionou a formação de cálculos, mas não de urolitíase obstrutiva;

- Os exames de ureia e creatinina não mostraram alterações na função renal dos animais durante o período de confinamento;

- A dieta rica em grãos, com alto teor de proteína (20% PB), provocou lesão renal, comprovada pela alta porcentagem de necrose tubular visualizada nos rins dos animais, além de outras alterações como sinéquias glomerulares e presença de proteína na luz tubular;

- O cloreto de amônio fornecido aos animais do GI não impediu a calculogênese, mas diminuiu a prevalência em relação ao GII;

- Os animais do GII, não suplementados com cloreto de amônio, tiveram maior comprometimento renal pelo consumo da dieta rica em grãos ao exame histopatológico renal e, por consequência, o GII apresentou maior porcentagem de animais com cálculo no *post-mortem*;

- Deve-se atentar para a alimentação rica em grãos por períodos prolongados, como ocorre com reprodutores e animais de elite, pois pode provocar alterações na função renal, além da predisposição para o desenvolvimento da urolitíase;

- Comprovou-se que a dieta, fornecida no confinamento por 56 dias, já foi capaz de provocar lesão renal visualizada no exame macro e microscópico, porém não afetou a funcionalidade renal e consequentemente a saúde dos animais.

7. BIBLIOGRAFIA

ANGUS, K.W. Nephropathy in young lambs. *Veterinary Records*, v.126, p.525-528, 1990.

ANTONELLI, A.C.; BARRÊTO JÚNIOR, R.A.; MORI, C.S.; SUCUPIRA, M.C.A.; MARCELLO, A.C.S.; ORTOLANI, E.L. Efeito de diferentes fontes energéticas na predisposição para urolitíase em cabritos. *Ci. Anim. Bras., Goiânia*, v.13, n.4, p. 487-493, 2012.

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. *Medicina Veterinária, Recife*, v.3, n.2, p.30-38, 2009.

ASSIS, A.C.O., SILVA, T.R., AGUIAR, G.M.N., MELO, D.B., ALMEIDA, F.C., MEDEIROS, J.M., NÓBREGA NETO, P.I. Urolitíase obstrutiva em bovinos no semi-árido paraibano. *Ciência Animal Brasileira – Suplemento 1*, 2009 – Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria p.41-45.

BAILEY, C.B. Silica Metabolism and Silica Urolithiasis in Ruminants: a review. *Can. J. Anim. Sci.*, v.61, p.2199, 1981.

BARBOSA, C.C.; GONCALVES, R.C.; FERREIRA, D.O.L.; SANTAROSA, B.P.; DIAS, A. Perfil Bioquímico Hepático em Ovinos Confinados Tratados com Cloreto de Amônio e Vitamina C. In: XX Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2008, São José dos Campos-SP. Anais XX Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2008.

BELKNAP, E.B; PUGH, D.G. Enfermidades do Sistema Urinário. In: PUGH, D.G. *Clínica de Ovinos e Caprinos*, 1 ed, São Paulo: Roca, p.287-310, 2005.

BEREND, K.; HULSTEIJN, L.H.; GANS, R.O.B. Chloride: The queen of electrolytes? *European Journal of Internal Medicine*. v.23, n.3, p.203–211, 2012.

BRAUN, J.P.; TRUMELA, C.; BÉZILLE, P. Clinical biochemistry in sheep: A selected review. *Small Ruminant Research* v.92, p.10–18, 2010.

COOKBOOK SHIMADZU. *Operation manual: Atomic Absorption Spectrophotometer AA-6800*. Osaka: 2000. 157p.

CROOKSHANK, H.R. Effect of ammonium salts on the production of ovine urinary calculi. *J. Anim. Sci.* v.30, p.1002-1004, 1970.

DEL CLARO, G.R.; ZANETTI, M.A.; PAIVA, F.A.; SARAN NETTO, A.; SALLES, M.S.V., CORREA, L.B. Influência do balanço cátion-aniônico da dieta no rúmen e no desempenho de ovinos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.57, n.5, p.644-651, 2005

DONECKER, J.M.; BELLAMY, J.E.C. Blood Chemical Abnormalities in cattle with ruptured bladders and ruptured urethras. *Can. Vet. J.* v.23, p.355-357, 1982.

DÓRIA, R.G.S.; CANOLA, P.A.; DIAS, D.P.M., PEREIRA, R.N.; VALADÃO, C.A.A. Técnicas cirúrgicas para urolitíase obstrutiva em pequenos ruminantes: relato de casos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v.59, n.6, p.1425-1432, 2007.

EL-KAMMAR M.H., ALSAFY M.A.M., MOHAMMED M.I., EL-NEWESHY M.S. Ureteric obstruction and hydronephrosis in Baladi goats: Topographical anatomy, ultrasonographical, hematological and pathological findings. *Small Rum. Res.* v.104, p.169-178, 2012.

EMERICK, R.J.; EMBRY, L.B. Calcium and Phosphorus levels related to the development of phosphate urinary calculi in sheep. *J. Anim. Sci.* v.22, p.510-513, 1963.

ERMILIO, E.M.; SMITH, M.C. Treatment of Emergency Conditions in Sheep and Goats. *Vet Clin Food Anim.* v.27, p.33–45, 2011.

EVELETH, D.F.; MILLEN, T.W. High serum magnesium associated with urinary calculi in sheep. *Vet. Med.*, v.34, p.106-107, 1939.

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.

FAN, J.; GLASS, M.A.; CHANDHOKE, P.S. Impact of Ammonium Chloride administration on a rat ethylene glycol urolithiasis model. *Scanning Microscopy*, v.13, p.299-306, 1999.

FAZILI, M.R., MALIK, H.U., BHATTACHARYYA, H.K., BUCHOO, B. A., MOULVI, B. A., MAKHDOOMI, D.M. Minimally invasive surgical tube cystotomy for treating obstructive urolithiasis in small ruminants with an intact urinary bladder. *Veterinary Record*. v.166, p.528-532, 2010.

FEITOSA, F.L.F. *Semiologia Veterinária: a arte de diagnóstico*. 3ed. São Paulo: Ed. Roca. 2014. 627p.

FERREIRA, D.O.L. *Avaliação da acidificação urinária em ovinos com a utilização de três tratamentos*. Botucatu, 2009. 106p. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu – UNESP, Campus Botucatu.

FERREIRA, D.O.L. *Modelo experimental de urolitíase em ovinos - estudo clínico, laboratorial e hemogasométrico*. Botucatu, 2013. 199p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu – UNESP, Campus Botucatu.

FERREIRA, D.O.L.; SANTAROSA, B.P.; MORAES, L.F.; TAKAHIRA, R.K.; AMORIM, R.M. CHIACCHIO, S.B.; GONÇALVES, R.C. Avaliação da acidificação urinária em ovinos com cloreto de amônio, vitamina c e associação destes. *Anais do 38º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*, Florianópolis. 2011.

FERREIRA, D.O.L.; SANTAROSA, B.P.; SACCO, S.R.; DIAS, A.; AMORIM, R.M.; CHIACCHIO, S.B.; LISBÔA, J.A.N.; GONÇALVES R.C. Efeito da suplementação de cloreto de amônio sobre os equilíbrios eletrolítico e ácido-básico e o pH urinário de ovinos confinados. *Pesq. Vet. Bras.* v.34, n.8, p.797-804, 2014a.

FERREIRA, D.O.L.; SANTAROSA, B.P.; BELOTTA, A.F.; MAMPRIM, M.J.; SILVA, A.A.; DIAS, A.; CHIACCHIO, S.B.; GONÇALVES R.C. Alterações ultrassonográficas renais e vesicais de ovinos confinados e suplementados com cloreto de amônio. *Pesq. Vet. Bras.* v.34 (Supl.1), p.99-106, 2014b.

FRANZ, S.; DADAK, A.M.; SCHÖFFMANN, G.; COPPENS, P.; KHOL, J.L.; BAUMGARTNER, W.; DUPRE, G. Laparoscopic-assisted implantation of a urinary catheter in male sheep. *JAVMA.* v.232, n.12, p. 1857-1862, 2008

FREEMAN, S.R., POOREA, M.H., YOUNG, G.A., ANDERSON, K.L. Influence of calcium (0.6 or 1.2%) and phosphorus (0.3 or 0.6%) content and ratio on the formation of urolithogenic compounds in the urine of Boer-cross goats fed high-concentrate diets. *Small Ruminant Research*, v. 93, p.94–102. 2010.

FREITAS, R.M.C.; SILVA, L.C.; SANTOS, J.L.S.; TAVARES JÚNIOR, W.C. Avaliação dos métodos de imagem no diagnóstico da urolitíase: revisão de literatura. *Radiol. Bras.* v.37, n.4, p.291-294, 2004.

FRELIER, P.F.; ARMSTRONG, D.L.; PRITCHARD, J. Ovine Mesangiocapillary Glomerulonephritis Type I and Crescent Formation. *Vet. Pathol.* v. 27, p. 26-34, 1990.

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

GEORGE, J.W.; HIRD, D.W.; GEORGE, L.W. Serum biochemical abnormalities in goats with uroliths: 107 cases (1992–2003). *JAVMA.* v.230, n. 1, p.101-106, 2007.

GOMIDE, C.A.; ZANETTI, M.A.; PENTEADO, M.V.C.; CARRER, C.R.O.; DEL CLARO, G.R.; NETTO, A.S. Influência da diferença cátion-aniônica da dieta sobre o balanço de cálcio, fósforo e magnésio em ovinos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.56, n.3, p.363-369, 2004.

GONSALVES NETO, J.; TEIXEIRA, F.A.; NASCIMENTO, P.V.N.; MARQUES, J.A. Comportamento social dos ruminantes. Artigo Número 096. *Revista Eletrônica Nutritime*. v.4, n.6, p.1039-1055, 2009.

GUEDES JR, F.S.; CRUZ, D.S.; RODRIGUES, M.M.P.; SILVA, L.M.; AMORIM, R.L.; VIANNA, P.T.G.; CASTIGLIA, Y.M.M. Renal histology and immunohistochemistry after acute hemorrhage in rats under sevoflurane and ketoprofen effect. *Acta Cirúrgica Brasileira*. v.27, n.1, p. 37-42, 2012.

GUIMARÃES, J.A.; MENDOÇA, 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.

HALLAND, S.; PHELPS, M.; HOUSE, J.K.; New methods to treat and prevent obstructive urolithiasis in small ruminants and pot-bellied pigs. In: *Proceedings of the Eighteenth American College of Veterinary Medicine Forum*, v.18, p.268, 2000.

HAVEN, M.L.; BOWMAN, K.F.; ENGELBERT, T.A.; BLIKSLAGER, A.T. Surgical management of urolithiasis in small ruminants. *Cornell Vet*. v.83, n.1, p.47-55, 1993.

HUNTER, B.G.; HUBER, M.J.; RIDDICK, T.L. Laparoscopic-assisted urinary bladder marsupialization in a goat that developed recurrent urethral obstruction following perineal urethrostomy. *JAVMA*. v.241, n. 6, p.778-781, 2012.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Comunicação social. PPM 2011: rebanho bovino cresce 1,6% e chega a 212,8 milhões de cabeças.

Acessado em 10 dez. 2012. Disponível em:

<http://saladeimprensa.ibge.gov.br/noticias?view=noticia&id=1&busca=1&idnoticia=2241>

INKELMANN, M.A.; KOMMERS, G.D.; TROST, M.E.; BARROS, C.S.L.; FIGHERA, R.A.; IRIGOYEN, L.F.; SILVEIRA, I.P. Lesões do sistema urinário em 1.063 cães. *Pesq. Vet. Bras.* v.32, n.8, p.761-771, 2012a.

INKELMANN, M.A.; KOMMERS, G.D.; TROST, M.E.; BARROS, C.S.L.; FIGHERA, R.A.; IRIGOYEN, L.F.; SILVEIRA, I.P. Urolitíase em 76 cães. *Pesq. Vet. Bras.* v.32, n.3, p.247-253, 2012b.

JANKE, J.J.; OSTERSTOCK, J.B.; WASHBURN, K.E.; BISSETT, W.T.; ROUSSEL JR, A.J.; HOOPER, R.N. Use of Walpole's solution for treatment of goats with urolithiasis: 25 cases (2001–2006). *JAVMA.* v.234, n.2, p.249-253, 2009.

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

KANEKO, J.J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. San Diego: Academic Press, 2008, 932p.

KANNAN, K.V.A.; LAWRENCE, K.E. Obstructive urolithiasis in a Saanen goat in New Zealand, resulting in a ruptured bladder. *New Zealand Veterinary Journal.* v.58, p.269-271, 2010.

KIRSZTAJN, G.M. Avaliação do ritmo de filtração glomerular. *J B. Patol. Med. Lab.*, v.43 n.4, p.257-264, 2007.

KINSLEY, M.A.; SEMEVOLOS, S.; PARKER, J.E.; DUESTERDIECK-ZELLMER, K.; HUBER, M. Use of Plain Radiography in the Diagnosis, Surgical Management, and Postoperative Treatment of Obstructive Urolithiasis in 25 Goats and 2 Sheep. *Veterinary Surgery.* v.42, p. 663–668, 2013.

KOZLOSKI, G.V.; FIORENTINI, G.; HÄRTER, C.J.; SANCHEZ, L.M.B. Uso da creatinina como indicador da excreção urinária em ovinos. *Cienc. Rural*, v.35, n.1, p.98-102, 2005.

LAS, J.E.; ODONGO, N.E.; LINDINGER, M.I.; ALZAHAL, O.; SHOVELLER, A.K.; MATTHEWS, J.C.; McBRIDE, B.W. Effects of dietary strong acid anion challenge on regulation of acid-base balance in sheep. *J. Anim. Sci.* v.85, p.2222-2229, 2007.

LEFEBVRE, H.P.; LAROUTE V.; CONCORDET, D.; TOUTAIN, P.L. Effects of renal impairment on the disposition of orally administered enalapril, benazepril, and their active metabolites. *J Vet Intern Med.* v.13, n.1, p.21-27, 1999.

LINDLEY, C.E.; TAYSOM, E.D.; HAM, W.E.; SCHNEIDER, B.H. Urinary Calculi in Sheep. *J. Anim. Sci.* v.12, p.704-714, 1953.

LORETTI, A.P.; OLIVEIRA, L.O.; CRUZ, C.E.F.; DRIEMEIER, D. Clinical and pathological study of an outbreak of obstructive urolithiasis in feedlot cattle in southern Brazil. *Pesq. Vet. Bras.*, v.23 n.2 p.61-64, 2003.

LOUVANDINI, H.; VITTI, D.M.S.S. Perda endógena de fósforo em ovinos com diferentes níveis do elemento na dieta. *Pesq. Agropec. Bras.* v.29, n.1, p.145-149, 1994.

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.

MAXIE, M.G.; NEWMAN, S.J. The urinary system. In: MAXIE M.G. (Ed.), JUBB, KENNEDY, and PALMER's Pathology of Domestic Animals. 5th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia. v.2, p.425-522, 2007.

NAVARRE, C. B. Urolithiasis in Goats. In: *Proceedings of The North American Veterinary Conference*, p.134-135, 2007.

NEWMAN, S.J.; ANTHONY, W.C.; PANCIERA R.J. Urinary system. In: MACGAVIN M.D.; ZACHARY J. F. (Eds), *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 4th ed. Mosby-Elsevier, St Louis. p.613-691, 2007.

OEHME, F.W. Diagnosis and treatment of ruminant urolithiasis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.147, n.12, p.1331-1339, 1965.

OLIVEIRA, R.S.; MACEDO, J.T.A.; LENTS, M.P.; SILVA, R.M.M.; FERREIRA, E.A.; PINHEIRO, E.E.G.; COSTA, J.N.; PEDROSO, P.M.O. Urolitíase obstrutiva em touro Nelore no Recôncavo da Bahia. *Acta Scientiae Veterinariae*. v.41(Suppl. 1), p.1-4, 2013.

ORTOLANI, E.L. Intoxicações e doenças metabólicas em ovinos: intoxicação cúprica, urolitíase e toxemia da prenhez. In: SILVA SOBRINHO, A.G. *Nutrição de Ovinos*. Eds. Jaboticabal: FUNEP, p.241-258, 1996.

PACKETT, L.V.; HAUSCHILD, J.P. Phosphorus, calcium and magnesium: relationship in ovine urolithiasis. *J. Nutrition* v.84, p.185-190, 1964.

PACKETT, L.V.; LINEBERGEE, R.O.; JACKSON, H.D. Mineral studies in ovine phosphatic urolithiasis. *J. Anim. Sci.*, v.27, p.1716-1721, 1968.

PALMER, J.L.; DYKES, N.L.; LOVE, K.; FUBINI, S.L.; Contrast radiography of the lower urinary tract in the management of obstructive urolithiasis in small ruminants and swine; *Vet. Radiol. Ultras.*, v.39, n.3, p.175-80, 1998.

PALVIAINEN, M.; RAEKALLIO, M.; RAJAMÄKI, M.M.; LINDEN, J.; VAINIO, O. Kidney-derived proteins in urine as biomarkers of induced acute kidney injury in sheep. *The Veterinary Journal*. v.193, p.287–289, 2012.

PARKER, B. N. Urolithiasis in calves and lambs. *Vet. Rec.*, v.108, n.25, p.545-546, 1981.

PEARCE, S.G.; DEARO, A.C.; HOWARD, B.E.; BRISSON, B.A. Management of obstructive urolithiasis and concurrent urethral rupture in a goat. *Aust Vet J*. v.81, n.5, p.268-70, 2003.

PIRES, C.C.; SILVA, L.F.; SCHLICK, F.E.; GUERRA, D.P.; BISCAINO, G.; CARNEIRO, R.M. Cria e terminação de cordeiros confinados. *Ciência Rural, Santa Maria*. v.30, n.5, p.875-880, 2000.

PRADO, O.R.; MONTEIRO, A.L.G.; BASTOS, G.M.; SAAB, B.B.; QUIZINI, S.M.P.; PIEROBOM, C.C.; HENTZ, F.; NOMURA, T.M. Sistemas de alimentação e épocas de terminação sobre as medidas corporais pré-abate e da carcaça de cordeiros abatidos na região Centro-Sul do Paraná. *Semina: Ciências Agrárias*. v. 34, n.6, p.3031-3042, 2013.

RABINOWITZ, L.; GUNTHER, R.A.; SHOJI, E.S.; FREELAND, R.A.; AVERY, E.H. Effects of high and low protein diets on sheep renal function and metabolism. *Kidney International*. v.4, p.188-207, 1973.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. *Clínica veterinária – um tratado de doenças em bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos*. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 1737p.

RAEKALLIO, M.R.; SAARIO-PAUNIO, E.M.K.; RAJAMÄKI, M.M.; SANKARI, S.M.; PALVIAINEN, M.J.; SIVEN, M.S.; PELTONIEMI, S.M.; LEINONEN, M.; HONKAVAARA, J.M.; VAINIO, O.M. Early detection of ketoprofen-induced acute kidney injury in sheep as determined by evaluation of urinary enzyme activities. *AJVR*. v.71, n.10, p.1246-1252, 2010.

RAKESTRAW, P.C.; FUBINI, S.L.; GILBERT, R.O.; WARD, J.O. Tube Cystostomy for Treatment of Obstructive Urolithiasis in Small Ruminants. *Vet. Surg.*, v.24, p.498-505, 1995.

RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; LEÃO, M.I.; SILVA, J.F.C.; CECON, P.R.; GONÇALVES, L.C.; DIAS, H.L.C.; LINHARES, R.S. Concentração Plasmática de Ureia e Excreções de Ureia e Creatinina em Novilhos. *Ver. 54rás. Zootec*. v.29, n.4, p.1235-1243, 2000.

RIET-CORREA, F. Suplementação mineral em pequenos ruminantes no semi-árido. *Cien.Vet. Trop.*, v.7, n.2/3, p.112-130, 2004.

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.

ROBINSON M.R.; NORRIS, R.D.; SUR, R.L.; PREMINGER, G.M. Urolithiasis: Not Just a 2-Legged Animal Disease. *The Journal of Urology*. v.179, p.46-52, 2008.

SACCO, S.R., LOPES, R.S. Urolitíase: estudo comparativo em bovinos Guzerá oriundos de propriedades com e sem o problema. *Pesq. Vet. Bras.* v.31, n.3, p.206-212, 2011.

SAHINDURAN, S.; BUYUKOGLU, T.; GULAY, M.S.; TASCI, F. Increased Water Hardness and Magnesium Levels May Increase Occurrence of Urolithiasis in Cows from the Burdur Region (Turkey). *Veterinary Research Communications*, v. 31, p. 665–671, 2007.

SANTAROSA, B.P.; GONCALVES, R.C.; FERREIRA, D.O.L.; BARBOSA, C.C.; DIAS, A. Perfil Bioquímico Renal em Ovinos Confinados Tratados com Cloreto de Amônio e Vitamina C. In: XX Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2008, São José dos Campos-SP. Anais XX Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2008.

SCOTT, P.R. Clinical, ultrasonographic and pathological description of bladder distension with consequent hydronephrosis, severe hydronephrosis and perirenal fluid accumulation in two rams putatively ascribed to pelvic nerve dysfunction. *Small Ruminant Research*. v.107, p. 45-48, 2012.

SCOTT, P.R.; SARGISON, N.D. Ultrasonography as an adjunct to clinical examination in sheep. *Small Ruminant Research*. v.92, p.108–119, 2010.

SILVA, P.C.A.R.; PITOMBO, C.A.; CAETANO, L.F.O.; LIMA, A.G.; ARÊAS V.S.; VARGAS JÚNIOR, L. Urolitíase em novilho nelore não-castrado. *Veterinária em Foco*. v.5, n.2, p.131-136, 2008.

SOUSA, A.A.R; NUNES, V.H.S.; OLIVEIRA, R.A.; SOUSA, A.A.S.; TEIXEIRA, W.C.; COELHO, M.C.O.C. Urolitíase obstrutiva em ovino. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.39, n.2, p.970. 2011.

STEWART, S.R.; EMERICK, R.J.; PRITCHARD, R.H. High dietary calcium to phosphorus ratio and alkali-forming potential as factors promoting silica urolithiasis in sheep. *J Anim Sci.* v.68, p.498-503, 1990.

STEWART, S.R.; EMERICK, R.J.; PRITCHARD, R.H.. Effects of dietary ammonium chloride and variations in calcium to phosphorus ratio on silica urolithiasis in sheep. *J. Anim. Sci.*, v.69, p.2225-2229, 1991.

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.

STREETER, R.N.; STEP, D.L. Diagnostic ultrasonography in ruminants. *Veterinary Clinics Food Animal Practice.* v.23, p.541-574, 2007.

STREETER, R.N.; WASHBURN, K.E.; HIGBEE, R.G.; BARTELS, K.E. Laser lithotripsy of a urethral calculus via ischial urethrotomy in a steer. *JAVMA.* v.219, n.5, p.640-643, 2001.

STREETER, R.N.; WASHBURN, K.E.; MCCAULEY, C.T. Percutaneous tube cystostomy and vesicular irrigation for treatment of obstructive urolithiasis in a goat. *JAVMA.* v.221, n. 4, p.546-549, 2002.

SUN, W-D.; ZHANG, K-C.; WANG, J-Y.; WANG, X-L. The chemical composition and ultrastructure of uroliths in Boer goats. *The Veterinary Journal.* v.186 p.70–75, 2010.

TAKAGI, H.; BLOCK, E. Effects of manipulating dietary cation-anion balance on macromineral balance in sheep. *J. Dairy Sci.* v.74, p.4202-4214, 1991.

TATON, G.F.; HAMAR, D.W.; LEWIS, L.D. Evaluation of ammonium chloride as a urinary acidifier in the cat. *J Am Vet Med Assoc.* v.184, p.433-436, 1984.

THOMPSON, J.P. Urolitíase em ruminantes. In: AIELLO, S.E. *Manual Merck de Veterinária.* 8.ed. São Paulo: Roca, p.948-950, 2001.

TOBIAS, K.M.; VAN AMSTEL, S.R. Modified Proximal Perineal Urethrostomy Technique for Treatment of Urethral Stricture in Goats. *Veterinary Surgery* v.42, p.455–462, 2013.

TOUHAMI, M.; LAROUBI, A.; ELHABAZI, K.; LOUBNA, F.; ZRARA, I.; ELJAHIRI, Y.; OUSSAMA, A.; GRASES, F.; CHAIT, A. Lemon juice has protective activity in a rat urolithiasis model. *BMC Urology*. v.7, 10p, 2007.

VAN METRE, D.; FECTEAU, G.; HOUSE, J.K.; SMITH, B.P.; GEORGE, L.W.; ANGELOS, S.M.; ANGELOS, J.A.; FECTEAU G. Obstructive urolithiasis in ruminants: surgical management and prevention. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*. v.19, p.275-289, 1996.

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.

WOLF, C.B. Managing Tube Cystotomies in Goats. In: *Proceedings of The North American Veterinary Conference*, p.324-325, 2006.

ZUNDT, M.; MACEDO, F.A.F.; MARTINS, E.N.; MEXIA, A.A.; YAMAMOTO, S.M. Desempenho de Cordeiros Alimentados com Diferentes Níveis Protéicos. *R. Bras. Zootec*. v.31, n.3, p.1307-1314, 2002.

8. ARTIGO CIENTÍFICO

Trabalho a ser enviado para **Pesquisa Veterinária Brasileira**.

Os trabalhos para submissão devem ser enviados por via eletrônica, através do e-mail <jurgen.dobereiner@terra.com.br>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word. Havendo necessidade (por causa de figuras “pesadas”), podem ser enviados em CD pelo correio, com uma via impressa, ao Dr. Jürgen Döbereiner, Revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, Caixa Postal 74.591, Seropédica, RJ 23890-000. Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista. Para abreviar sua tramitação e aceitação, os trabalhos sempre devem ser submetidos conforme as normas de apresentação da revista (www.pvb.com.br) e o modelo em Word (PDF no site). Os originais submetidos fora das normas de apresentação serão devolvidos aos autores para a devida adequação. Apesar de não serem aceitas comunicações (Short communications) sob forma de “Notas Científicas”, não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve, porém, conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo. Trabalhos sobre Anestesiologia e Cirurgia serão recebidos para submissão somente os da área de Animais Selvagens. Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os trabalhos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (peer review).

NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista (impressa e online) e distribuição via correio é cobrada taxa de publicação (page charge) no valor de R\$ 250,00 por página editorada e impressa, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinação destes dois últimos), Agradecimentos e REFERÊNCIAS:

a) o Título do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) O(s) Autor(es) deve(m) sistematicamente encurtar os nomes, tanto para facilitar sua identificação científica, como para as citações bibliográficas. Em muitos casos isto significa manter o primeiro nome e o último sobrenome e abreviar os demais sobrenomes: Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto ou Peixoto P.V.; Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva poderia usar Silvana M.M.S. Silva, inverso Silva S.M.M.S., ou Silvana M.M. Sousa-Silva, inverso, Sousa-Silva S.M.M., ou mais curto, Silvana M. Medeiros-Silva, e inverso, Medeiros-Silva S.M.; para facilitar, inclusive, a moderna indexação, recomenda-se que os trabalhos tenham o máximo de 8 autores;

c) o ABSTRACT deverá ser apresentado com os elementos constituintes do RESUMO em português, podendo ser mais explicativos para estrangeiros. Ambos devem ser seguidos de “INDEX TERMS” ou “TERMOS DE INDEXAÇÃO”, respectivamente;

d) o RESUMO deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões. Nos trabalhos em inglês, o título em português deve constar em negrito e entre colchetes, logo após a palavra RESUMO;

e) a INTRODUÇÃO deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;

f) em MATERIAL E MÉTODOS devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores. Na experimentação com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) em RESULTADOS deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos (Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) na DISCUSSÃO devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) as CONCLUSÕES devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;

j) Agradecimentos devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) a Lista de REFERÊNCIAS, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando-se os nomes de todos os autores, em caixa alta e baixa (colocando as referências em ordem cronológica quando houver mais de dois autores), o título de cada publicação e, abreviado ou por extenso (se tiver dúvida), o nome da revista ou obra, usando as instruções do “Style Manual for Biological Journals” (American Institute for Biological Sciences), o “Bibliographic Guide for Editors and Authors” (American Chemical Society, Washington, DC) e exemplos de fascículos já publicados (www.pvb.com.br).

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as seguintes normas:

a) os trabalhos devem ser submetidos seguindo o exemplo de apresentação de fascículos recentes da revista e do modelo constante do site sob “Instruções aos Autores” (www.pvb.com.br). A digitalização deve ser na fonte Cambria, corpo 10, entrelinha simples; a página deve ser no formato A4, com 2cm de margens (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das figuras e os Quadros no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras (inclusive gráficos) devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Quando incluídos no texto do trabalho, devem ser introduzidos através da ferramenta “Inserir” do Word; pois imagens copiadas e coladas perdem as informações do programa onde foram geradas, resultando, sempre, em má qualidade;

b) a redação dos trabalhos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou

frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o trabalho; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada. Todos os Quadros e todas as Figuras serão mencionados no texto. Estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas.

c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo e todos os autores e o e-mail do autor para correspondência, bem como e-mails dos demais autores (para eventualidades e confirmação de endereço para envio do fascículo impresso);

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”; trabalhos de até três autores serão citados pelos nomes dos três, e com mais de três, pelo nome do primeiro, seguido de “et al.”, mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos. Trabalhos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, “(Resumo)” ou “(Apud Fulano e o ano.)”; a referência do trabalho que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exemplo: (Christian & Tryphonas 1971, Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

f) a Lista das REFERÊNCIAS deverá ser apresentada isenta do uso de caixa alta, com os nomes científicos em itálico (grifo), e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) originais devem ser preferencialmente enviadas por via eletrônica. Quando as fotos forem obtidas através de câmeras digitais (com extensão “jpg”), os arquivos deverão ser enviados como obtidos (sem tratamento ou alterações). Quando obtidas em papel ou outro suporte, deverão ser anexadas ao trabalho, mesmo se escaneadas pelo autor. Nesse caso, cada Figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte inferior da figura pela palavra “pé”. Os gráficos devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da Figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura. Fotografias deverão ser apresentadas preferentemente em preto e branco, em papel brilhante, ou em diapositivos (“slides”). Para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope. Na versão online, fotos e gráficos poderão ser publicados em cores; na versão impressa, somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras poderá ser em cores.

4. As legendas explicativas das Figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, com independência do texto) e serão apresentadas no final do trabalho.

5. Os Quadros deverão ser explicativos por si mesmos e colocados no final do texto. Cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para grupamento de colunas. Não há traços verticais. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando, se possível, com “a” em cada Quadro; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.

Trabalho

Avaliação clínica, laboratorial e anatomopatológica do sistema urinário de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio¹⁰

Bianca P. Santarosa*²; Danilo O.L. Ferreira²; Marcela M. P. Rodrigues²; Gabriela N. Dantas²; Soraya R. Sacco²; Raimundo Souza Lopes²; Adriano Dias³; Roberto C. Gonçalves²

ABSTRACT.- 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. 2015. **[Clinical, laboratory and anatomopathological evaluation of the urinary system of feedlot sheep with and without ammonium chloride supplementation.]** Avaliação clínica, laboratorial e anatomopatológica do sistema urinário de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu. Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu, SP 18618-970, Brazil. E-mail: biancasantarosavet@gmail.com.

The incidence of obstructive urolithiasis is high in sheep, especially in raised under intensive management males. The urinary acidification with ammonium chloride (AC) is an effective method for preventing the disease. The objectives of this study were to investigate the relationship between the given diet rich in concentrate, clinical and renal function changes, measured by serum urea and creatinine and urinalysis, macroscopic and histopathological features of the urinary system, among sheep receiving or non-ammonium chloride. 60 male lambs were used, feedlot, crossbred Ile de France X White Dorper, with three to four months old, divided into two groups: CA group (n=40) received 400mg/kg of ammonium chloride/animal/day orally, for 42 consecutive days; Control group (n=20), not treated with ammonium chloride. The feed consisted of 85% concentrate, 15% hay, mineral salt and water *ad libitum*. For experimental safety, nutritive value and mineral analyzes of the total ration were performed. After 14 days of adaptation to the environment and food, moments (M) of clinical evaluation, blood collection and urine to serum urea and creatinine, and urinalysis were determined as: M0, just before the start of the experiment and at intervals of seven days in moments M1 to M6, totaling 56 days of confinement. After the feeding period the animals were sacrificed and necropsy was performed, and the urinary system was collected for macroscopic and microscopic examination. The animals were observed daily for the incidence of urolithiasis in both groups throughout the experimental period, but no animal showed symptoms of obstructive urolithiasis. In urinalysis, the control group showed no cylinders any time, while in the CA Group the predominant was the grainy. The cylinders appeared from M3 in CA Group, with feedlot 35 days. The triple phosphate was the most crystal found in the samples. The control group had a higher number of animals with crystalluria along time, compared to Group CA. Only the control group of animals also showed four crosses crystals in their urine samples from M2. The serum creatinine concentration values were below the normal range. The above results were urea, which is due to the high protein concentration in the diet. However, the lambs showed no clinical signs of alteration of renal function. It was found in the renal pelvis small uroliths five animals in both groups. In addition, other macroscopic changes were found to congestion of the renal medulla and hydronephrosis. Microscopic lesions and kidney greater prevalence and relevance were tubular necrosis and vascular congestion in both experimental groups, and synechia glomerular, tubular degeneration and dilatation presence of protein in the tubular lumen, infiltration of mononuclear inflammatory cells. Histopathological analysis revealed only bladder

¹⁰ Recebido em

Aceito para publicação em

Dissertação de mestrado da primeira autora. Bolsa de Mestrado (Proc. 2012/24985-4) da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

² Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu, SP 18618-970, Brasil. *Autora para correspondência: biancasantarosavet@gmail.com.

³ Departamento de Saúde Pública, Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu, SP 18618-970, Brasil.

congestion and inflammatory infiltration in a few animals. It was concluded that a diet high in concentrated caused renal injury in both groups, although not alter renal function proven by laboratory tests of urea and creatinine. Ammonium chloride provided to CA Group of animals did not affect the development of obstruction of the urinary tract without preventing urolith formation. Animals of control group, not supplemented with ammonium chloride, had increased kidney damage, resulting in higher incidence of crystalluria (25.7%) and tubular necrosis (80%), induced by consumption of a diet rich in grains.

INDEX TERMS: bladder, histopathology, kidneys, small ruminants, urinary acidifiers, urolithiasis.

RESUMO.- Na ovinocultura, a incidência da urolitíase obstrutiva é elevada, principalmente em machos criados sob manejo intensivo. A acidificação urinária com cloreto de amônio (CA) é um método eficiente para prevenção dessa doença. Os objetivos deste estudo com ovinos confinados recebendo dieta concentrada com elevado teor proteico, suplementados ou não com cloreto de amônio, foram: verificar o efeito da dieta fornecida no confinamento, rica em concentrado, sobre a formação de urólitos e desenvolvimento de urolitíase obstrutiva; analisar as características macroscópicas e histopatológicas do sistema urinário; relacionar os achados clínicos, os exames laboratoriais de função renal (ureia e creatinina séricas, e urinálise) e necroscópicos com a presença de urólitos. Utilizaram-se 60 ovinos machos, mestiços Ile de France X White Dorper, com três a quatro meses de idade, distribuídos aleatoriamente em dois grupos: Grupo CA (n=40), que recebeu 400mg/Kg de cloreto de amônio/animal/dia, por via oral, por 42 dias consecutivos; Grupo Controle (n=20), não tratado com cloreto de amônio. A alimentação de ambos os grupos constituiu-se de 85% de concentrado, 15% de feno, sal mineral e água à vontade. Após 14 dias de adaptação ao ambiente e à alimentação, momentos (M) de avaliação clínica, colheita de sangue para dosagem sérica de ureia e creatinina, e urina para urinálise, foram determinados como: M0, imediatamente antes do início do experimento e em intervalos de sete dias nos momentos M1 a M6, totalizando 56 dias de confinamento. Após o período de confinamento, os animais foram sacrificados, realizou-se necropsia e, o sistema urinário foi colhido para exame macro e microscópico. Os animais foram observados diariamente para verificar a incidência de urolitíase nos dois grupos, durante todo o período experimental, porém nenhum animal apresentou sintomatologia de urolitíase obstrutiva. Na urinálise, o Grupo Controle não apresentou cilindros em nenhum momento, enquanto no Grupo CA o tipo predominante foi o granuloso. Os cilindros apareceram a partir de M3 no Grupo CA, com 35 dias de confinamento. O fosfato triplo foi o cristal mais encontrado em todas as amostras de ambos os grupos. O Grupo Controle apresentou maior quantidade de animais com cristalúria ao longo dos momentos, em relação ao Grupo CA. Apenas os animais do Grupo Controle mostraram quatro cruzes de cristais nas suas amostras de urina a partir do M2. As medianas dos valores da concentração sérica de creatinina estiveram abaixo do padrão de normalidade em todos os momentos em ambos os grupos. Os resultados de ureia ficaram acima dos valores de referência para ovinos, o que se deve à alta concentração proteica da dieta. No entanto, os cordeiros não demonstraram sintomatologia clínica de alteração de função renal ou obstrução. Encontraram-se microcálculos na pelve renal em cinco animais de ambos os grupos. Além disso, outras alterações macroscópicas foram encontradas como congestão da região medular renal e hidronefrose. As lesões renais microscópicas com maior predominância e relevância foram congestão vascular e necrose tubular em ambos os grupos experimentais, além de sinéquias glomerulares, degeneração e dilatação tubular, presença de proteína na luz tubular, infiltração de células inflamatórias mononucleares. A análise histopatológica da bexiga revelou apenas congestão e infiltrado inflamatório em poucos animais. Concluiu-se que a dieta rica em concentrado provocou lesão renal em ambos os grupos, embora sem alterar a função renal comprovada pelos exames laboratoriais de ureia e creatinina. O cloreto de amônio fornecido aos animais do Grupo CA não impediu a calculogênese, embora tenha diminuído sua prevalência em relação ao Grupo Controle. Os animais do Grupo Controle, não suplementados com cloreto de amônio, tiveram maior comprometimento renal, comprovado pela alta incidência de cristalúria e necrose tubular, induzidos pelo consumo da dieta rica em grãos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: acidificante urinário, bexiga, histopatologia, pequenos ruminantes, rins, urolitíase.

INTRODUÇÃO

A intensificação da produção, aliada à comercialização de animais de alto valor genético, acarretou profundas alterações no manejo alimentar dos ovinos, desencadeando o aumento da ocorrência de doenças nutricionais e metabólicas, e entre as principais se destaca a urolitíase (Riet-Correa et al. 2008, Kannan & Lawrence 2010). 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 (Antonelli et al. 2012, Guimarães et al. 2012).

Os melhores resultados são obtidos com a prevenção da doença, antes que se inicie a formação do cálculo, visando à integridade produtiva do animal (Van Metre & Fubini 2006, Ewoldt et al. 2008, Kinsley et al. 2013). Para isso, deve-se conhecer a composição química dos urólitos e corrigir todos os possíveis fatores que podem estar relacionados com sua formação (Freeman et al. 2010, Sun et al. 2010). Dentre os métodos de prevenção, a acidificação urinária com cloreto de amônio é uma alternativa eficiente (Stewart et al. 1991, Mavangira et al. 2010, Ferreira et al. 2014a). Pode-se utilizá-lo na dieta total, na proporção de 0,5% a 1%, ou 2% do concentrado (Stratton-Phelps & House 2004), ou em doses individuais de 5 a 10g/animal/dia (Navarre 2007). Mavangira et al. (2010) obtiveram pH urinário menor 6,5 em caprinos com dose de 450mg/kg/PV de cloreto de amônio/dia, ou 2,25% da ingestão de matéria seca (MS). Ferreira et al. (2014a) atingiram o pH urinário 6,1 em ovinos e a acidez foi mantida enquanto houve administração do cloreto de amônio, fornecendo 400mg/kg/PV/dia junto com a dieta total.

Na literatura, a vitamina C (ácido ascórbico) também é classificada como acidificante urinário satisfatório quando administrada na dose de 3 a 4mg/kg/dia (Belknap & Pugh 2005, Navarre 2007). Ferreira et al. (2011) estudaram o efeito da administração de cloreto de amônio e vitamina C na acidificação urinária em ovinos e demonstraram que ambos os produtos apresentaram resultados na acidificação, porém foi notória a eficácia com que o cloreto de amônio diminuiu o pH da urina, mantendo a acidificação até o final do experimento, ao contrário do ácido ascórbico que não estabilizou o pH da urina abaixo de sete.

Embora a acidificação urinária seja um método preventivo e eficaz para diminuir a incidência da urolitíase obstrutiva, a alimentação rica em grãos pode provocar lesões inflamatórias no trato urinário que, pelo aumento de proteínas e restos celulares na urina, facilitam a formação do núcleo dos urólitos (Ferreira et al. 2014a). Em animais confinados e destinados ao abate para comercialização da carne, muitas vezes não se notam sinais clínicos da urolitíase, pois o tempo para a terminação do animal é curto, porém em estudos anteriores demonstrou-se a possibilidade da dieta rica em proteína ocasionar lesão renal e formação de cálculos (Ferreira 2009, Ferreira, 2013).

Diante da relevância dessa enfermidade para a ovinocultura, os objetivos deste estudo com ovinos confinados recebendo dieta concentrada com elevado teor proteico, suplementados ou não com cloreto de amônio, foram: verificar o efeito da dieta fornecida no confinamento, rica em concentrado, sobre a formação de urólitos e desenvolvimento de urolitíase obstrutiva; analisar as características macroscópicas e histopatológicas do sistema urinário; relacionar os achados clínicos, os exames laboratoriais de função renal (ureia e creatinina séricas, e urinálise) e necroscópicos com a presença de urólitos.

MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia adotada durante o desenvolvimento deste trabalho foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu-SP (Protocolo 240/2012).

Utilizaram-se 60 ovinos machos, não castrados, hípidos, mestiços das raças Ile de France X White Dorper, com três meses de idade, com peso médio inicial de 22kg, distribuídos em dois grupos. Antes do início do experimento, todos os animais receberam vermífugo (Cydectin® 1% injetável, Fort Dodge, Campinas-SP, Brasil), e vacina contra Clostridioses (Sintoxan Polivalente®, Merial, Campinas-SP, Brasil). Depois disso, foram adaptados ao ambiente por 14 dias, alocados em baias coletivas de 4,0m x 3,0m localizadas no Hospital Veterinário da FMVZ/UNESP-Botucatu. Todos os animais estiveram no mesmo ambiente em condições iguais de temperatura, umidade do ar e luminosidade. O piso de cimento da baia era revestido com maravalha, que era trocada semanalmente, após lavagem e higienização da baia com solução de amônia quaternária.

A alimentação consistiu em ração total composta por 85% de ração comercial balanceada para terminação de cordeiros (milho, soja e trigo) e 15% de feno triturado de Coast-cross (cultivar *Cynodon dactylon*), fornecida em 0,6m de cocho/animal. Forneceu-se sal mineral (Ovinofós com

Monensina®, Tortuga Companhia Zootécnica Agrária, Mairinque-SP, Brasil), em cocho separado, e água *ad libitum*. A água era proveniente da SABESP (Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo), e era colocada manualmente duas vezes ao dia, em cocho de plástico de 100L.

A ração total foi fornecida à vontade, de forma farelada, favorecendo a mistura e homogeneização com o cloreto de amônio (CA), que era adicionado à alimentação no cocho. Para o cálculo do volume de CA, estabeleceu-se peso médio, a partir de pesagem semanal em balança, para o lote de animais de cada baía do Grupo CA, utilizando-se a dose de 400mg/kg/PV. Pela manhã, para garantir o consumo adequado de CA, limpava-se o cocho para retirar sobras do dia anterior e se fornecia pequena quantidade de ração total contendo a dose de CA para todos os cordeiros. Aguardava-se, portanto, o tempo necessário para que os animais ingerissem a ração suplementada com CA e somente depois disso que era adicionada ração à vontade.

Para a segurança experimental, a ração total foi submetida à análise bromatológica, e foi caracterizada pelos seguintes níveis em matéria seca (MS): 20,34% de proteína bruta, 2,37% de extrato etéreo, 6,12% de fibra bruta e 4,41% de minerais. Realizou-se, também, análise dos minerais da ração total utilizada no experimento, e as dosagens de cálcio e fósforo foram de 4130ppm e 5515ppm de MS, respectivamente, o que resultou proporção Ca: P de 1 : 1,33. O consumo médio diário foi de 3% do peso vivo de MS, com média de 1,2kg de ração total durante o período experimental.

Iniciado o experimento, os animais foram identificados com colares cervicais numerados e distribuídos de forma aleatória para a constituição dos grupos, permanecendo nas respectivas baias por 56 dias, quando continuaram recebendo a mesma dieta do período de adaptação. O período experimental compreendeu o tempo usual de confinamento de cordeiros para abate, sendo desmamados com 60 a 80 dias de idade, com média de peso de 22kg e confinados por 60 dias, a fim de se atingir o peso médio final de 35 a 40kg de peso vivo com 150 dias de vida (Pires et al. 2000, Prado et al. 2013).

Constituíram-se dois grupos experimentais: Grupo CA (n=40) que recebeu 400mg/kg/PV de cloreto de amônio/animal/dia, por 42 dias consecutivos; Grupo controle (n=20), que não recebeu cloreto de amônio. Os Momentos (M) de colheita de amostras e avaliação clínica foram realizados com intervalo de sete dias, sendo M0 (imediatamente antes do início do tratamento com cloreto de amônio), M1 (sete dias após), M2 (14 dias após), M3 (21 dias após), M4 (28 dias após), M5 (35 dias após) e M6 (42 dias após), totalizando 56 dias de confinamento.

Todas as colheitas de urina e sangue foram realizadas antes do fornecimento da alimentação, entre 6h e 8h. Os ovinos foram contidos em estação, manualmente, com o uso de cabresto. Colheram-se amostras de urina dos animais dos dois grupos por micção natural, ou forçada interrompendo-se a respiração pela oclusão das narinas durante 10 a 20 segundos (Garcia-Navarro 2005).

As amostras de urina foram acondicionadas em frascos estéreis e, em seguida, encaminhadas ao Serviço de Patologia Clínica do Departamento de Clínica Veterinária da FMVZ/UNESP-Botucatu. A urinálise foi realizada imediatamente após a colheita de urina de cada animal.

No exame físico foram avaliados volume (mL), cor, odor e aspecto, de maneira subjetiva. A densidade foi analisada pelo refratômetro (Atago® T2, NE Clinical, Atago Brasil Ltda. Ribeirão Preto-SP, Brasil). O exame químico foi realizado por tiras reagentes (Atago® T2, NE Clinical, Atago Brasil Ltda. Ribeirão Preto-SP, Brasil), avaliando-se pH, proteínas (mg/dL), glicose (mg/dL), acetona, urobilinogênio, bilirrubina, sangue oculto e sais biliares. Mensurou-se o pH pelo peagâmetro portátil (pH100 PHTEK® Labmais Comércio de Equipamentos Ltda. Curitiba-PR, Brasil), que foi calibrado a cada dia de exame e a cada cinco animais em solução tampão de pH 4,0 e de pH 7,0. O eletrodo do peagâmetro foi imerso totalmente dentro da amostra de urina, até a estabilização, e somente foi colocado na próxima amostra, depois de lavado com água destilada e, seco com papel absorvente.

Para exame do sedimento urinário foram centrifugados (Excelsa II®, Fanen, São Paulo-SP, Brasil) 5mL de urina em tubos cônicos a 700 x G por cinco minutos (Kaneko et al. 2008). Após a centrifugação, desprezou-se o sobrenadante, deixando 0,5mL de urina para a realização do exame do sedimento, que incluiu a identificação de células de descamação do trato urinário (células renais, da pelve, vesicais e uretrais), células prostáticas, hemácias e leucócitos.

As células foram quantificadas numericamente por campo, com intervalo de raras células até incontáveis. Outras estruturas como cilindros, cristais, bactérias, espermatozoides e muco também fizeram parte da análise do sedimento e foram quantificadas em cruces, com intervalo de raros a três cruces. O critério quantitativo adotado pelo Serviço de Patologia Clínica da

FMVZ/UNESP-Botucatu inclui: raras (contagem média < 1 célula/campo); uma cruz (+) (1 a 3 células/campo); duas cruces (++) (3 a 5 células/campo); três cruces (+++) (>5 células/campo) e campo cheio (números de células incontáveis/campo). Todas essas observações foram realizadas em microscopia ótica comum, com aumento de 400 vezes.

Para o exame bioquímico de ureia e creatinina colheram-se amostras de sangue da veia jugular, com agulha (BD Vacutainer®, BD Medical, Curitiba-PR, Brasil) 30x0,8mm, depositadas em tubos a vácuo, com gel ativador de coágulo e, sem anticoagulante, nos diferentes momentos. As amostras foram centrifugadas (Centrífuga Combate Celm® - Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos, Barueri-SP, Brasil) a 2.000 x G por 10 minutos, o soro sanguíneo foi separado, armazenado em tubos plásticos (Eppendorf do Brasil Ltda. São Paulo-SP, Brasil) de 2mL, e congelados a -20°C. As alíquotas foram encaminhadas para análise ao Serviço de Patologia Clínica do Departamento de Clínica Veterinária da FMVZ/UNESP-Botucatu. As dosagens foram feitas por kits comerciais (Katal® Biotecnológica Ind. Com. Ltda. Belo Horizonte-MG, Brasil) pelos métodos: enzimático-colorimétrico, para a determinação da concentração de ureia e, método cinético-colorimétrico, para creatinina, com leitura em espectrofotômetro (Aparelho SB-190 Celm® - Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos, Barueri-SP, Brasil).

Após 56 dias de confinamento recebendo a mesma dieta procedeu-se necropsia dos animais. O sistema urinário foi colhido para exame macro e microscópico imediatamente após o abate. O sistema urinário de cada animal foi analisado quanto às alterações macroscópicas, e posteriormente foram colhidos fragmentos de cada órgão (rim, ureter, bexiga e uretra peniana), acondicionados em frascos, e fixados em solução de formalina tamponada a 10%. Após 48 horas as amostras foram transferidas para novos frascos contendo álcool etílico 70%. Em seguida, os fragmentos foram incluídos em parafina, em cassetes histológicos, para realização de cortes histológicos de 5µm em micrótomo (RM2255-Leica Biosystems. Leica do Brasil Importação e Comércio Ltda. São Paulo-SP, Brasil), para confecção de lâminas, que foram coradas com Hematoxilina e Eosina (H.E.), no Serviço de Patologia Veterinária da FMVZ/UNESP-Botucatu. Todas as lâminas foram analisadas em microscópio óptico. As alterações histopatológicas dos rins e da bexiga foram classificadas em ausentes, leves, moderadas e acentuadas, de acordo com Guedes Jr. et al. (2012).

Para os dados da urinálise empregou-se apenas análise descritiva. Os demais dados foram analisados pelo Software IBM SPSS Statistics, v.21, com nível de significância de 95% ($p < 0,05$). As variáveis contínuas, testes de bioquímica sérica (ureia e creatinina), em função da distribuição não paramétrica das respostas, foram testadas entre os dois grupos experimentais (Grupo CA e Grupo controle) pelo teste de Mann-Whitney para identificar diferenças entre os grupos dentro do mesmo momento (M) de colheita. As medianas destas variáveis também foram analisadas pelo teste de Friedman para identificar se havia alguma diferença ao longo dos sete momentos (M0 a M6), dentro de cada grupo. Quando houve diferença estatisticamente significativa, foi verificada pelo teste *post-hoc* de Dunn. As distribuições das variáveis categóricas, alterações macroscópicas e histopatológicas dos rins e bexiga, foram avaliadas pelo teste do Qui-quadrado. A diferença estatística entre os grupos foi analisada pelo teste Z com correção de Bonferroni.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os animais ao início do experimento estavam sadios, alertas, ativos e alimentando-se normalmente, mantendo-se neste estado até o término do período experimental. As médias das frequências cardíaca e respiratória, movimentos ruminais, e temperatura retal dos animais foram comparados ao padrão de normalidade para a espécie ovina, segundo Feitosa (2014).

Os animais dos grupos experimentais não apresentaram sinais clínicos de disúria, obstrução uretral, nem de ruptura de bexiga. Por isso, não foi necessário instituir tratamento conservativo como a sondagem uretral para a técnica de hidropropulsão retrógrada, nem o cirúrgico, como a amputação do apêndice vermiforme, uretostomia perineal ou cistotomia com colocação de catéter de *Foley* (Ewoldt et al. 2008).

Urinálise

Todas as amostras de urina nos diferentes momentos foram colhidas com sucesso por micção natural ou forçada, pela oclusão da respiração por cerca de 20 segundos (Garcia-Navarro 2005, Araújo et al. 2009, Taffarel et al. 2012). Para a realização da urinálise colheram-se 10mL de urina, no mínimo, de cada indivíduo. Todas as amostras (420/420) apresentaram odor *sui generis*.

Os valores de densidade urinária se mantiveram dentro do padrão de normalidade para ovinos (1.015 a 1.045), nos dois grupos estudados, segundo Garcia-Navarro (2005), como observado por Antonelli et al. (2012) e Mavangira et al. (2010). Todos os animais apresentaram coloração amarelada, que se refere à normalidade para a espécie (Garcia-Navarro 2005). A avaliação do aspecto, classificando as amostras como límpidas ou turvas não demonstrou diferença em todos os momentos e grupos experimentais (Garcia-Navarro 2005). A turbidez da urina relaciona-se com cristalúria e, ainda com presença de muco, bactéria, células de descamação e cilindros (Araújo et al., 2009, Taffarel et al. 2012).

O exame químico, com exceção do pH, realizado com as tiras reagentes, analisou glicose, cetona, urobilinogênio, bilirrubina, proteína e sangue oculto. Não houve sinais de glicosúria, cetonúria, bilirrubinúria em nenhuma amostra dos grupos, nos diferentes momentos (420/420). O urobilinogênio esteve normal em todas as amostras também (420/420), visto que pequena quantidade presente na urina é fisiológica, sendo o principal pigmento que proporciona a cor amarelada à urina (Garcia-Navarro 2005).

O pH urinário apresentou variação entre os grupos e momentos, especialmente pelo uso do acidificante urinário no Grupo CA, bem como pelo consumo da dieta acidogênica, rica em concentrado. Mesmo antes do início do tratamento no Grupo CA e, no Grupo controle que não recebeu o acidificante em nenhum momento, houve diminuição do pH em relação à normalidade para espécie ovina (6,0 a 8,5), segundo Garcia-Navarro (2005). No M0 a mediana do pH no Grupo CA foi 5,50 e no Grupo controle foi 5,62. Isso se explica pela dieta rica em grãos fornecida no experimento, que promove a acidificação da urina, comparada à alimentação composta somente por volumoso, o que a torna mais alcalina (Araújo et al., 2009). No M2 o Grupo controle apresentou mediana dos valores de pH de 7,30; enquanto o Grupo CA mostrou 6,09. Porém notou-se decréscimo expressivo no pH urinário do Grupo CA (5,79), que recebeu cloreto de amônio, em relação ao Grupo controle (6,52), evidenciado principalmente a partir de M3.

Em estudo recente, Ferreira et al. (2011) também observaram a acidificação do pH urinário em ovinos tratados com 400mg/kg/PV de cloreto de amônio/dia. Houve diminuição do pH a partir do segundo dia da administração, e os valores se mantiveram menores que 6,0 durante todo o experimento, o que difere de Mavangira et al. (2010), que não conseguiram acidificar a urina de caprinos utilizando 200mg/kg/PV de cloreto de amônio, só o conseguindo com 500 mg/kg/PV. Neste trabalho, a acidificação urinária foi verificada logo na primeira aferição, sete dias após o início do tratamento, e no Grupo CA, que recebeu o produto durante todo o período experimental, o pH se manteve menor que 6,1, utilizando dose de 400mg/kg/PV/dia.

Não foi possível relacionar o aparecimento de proteína na urina com o tratamento realizado. Isto porque no M0, considerado basal, foi quando se observou maior número de animais com proteína nas amostras de urina, sendo 25/40 no Grupo CA e 7/20 no Grupo controle.

A proteinúria geralmente é encontrada, especialmente nos animais alimentados com altos teores de proteína (Botelho et al., 2012), o que aconteceu neste trabalho, visto que a dieta era composta por 20% PB. A proteinúria também se justifica nos casos de glomerulonefrite, nefrite intersticial, pielonefrite ou nefrose, onde a proteína atravessa a membrana glomerular, as de baixo peso molecular são reabsorvidas e as restantes são excretadas na urina (Garcia-Navarro 2005). Porém, os animais não apresentaram sinais clínicos destas enfermidades do trato urinário, embora 7/40 animais do Grupo CA e 4/20 do Grupo controle apresentassem sinéquias glomerulares de grau leve. Além disso, 15/40 cordeiros do Grupo CA e 5/20 no Grupo controle mostraram proteína na luz tubular em grau leve, portanto pode-se inferir que a proteinúria é pré-renal e está relacionada à alta ingestão proteica da dieta.

Os outros fatores a serem considerados no resultado de proteína positivo são inflamações no trato urogenital, hemoglobinúria e hematúria que influenciam no teste, devido à existência de exsudatos proteicos (Garcia-Navarro 2005, Guimarães et al. 2012). No M0, observaram-se animais com sangue oculto positivo na urina, em quantidade semelhante aos que apresentaram proteinúria, que por sua vez também foi coincidente com o número de animais que tiveram maior quantidade de hemácias na urina. A partir de M1 sangue oculto esteve ausente na maioria das amostras, e não houve diferença entre os grupos e momentos de colheita. Na maioria das amostras havia presença de hemácias, porém em pouca quantidade visualizada por campo, portanto sem significado clínico. Nenhum animal apresentou hematúria, caracterizada por observação de coloração avermelhada na urina, durante o experimento.

O transporte é considerado como grande fator estressante nos animais (Paes et al., 2012), tanto por problemas traumáticos quanto pelo esforço muscular para manter o equilíbrio e poderia explicar esses achados, embora os animais estivessem já com 14 dias de período adaptativo. Além

disso, o que se observou é que os animais, no início do período experimental, mostravam comportamento de dominância e sodomia. Talvez esta seja a causa mais provável do aumento da proteína, sangue oculto e de o número de hemácias no M0, já que nos momentos posteriores tendeu à normalidade (Gonsalves Neto et al. 2009).

Com relação à análise dos sedimentos da urina, as células de descamação que foram encontradas com maior frequência foram as uretrais, renais, seguido das vesicais, enquanto as células de pelve apareceram raramente, em poucos animais. As células prostáticas estavam ausentes em todas as amostras colhidas (420/420), provavelmente devido à idade dos animais (Garcia-Navarro 2005). As células uretrais estiveram presentes em todas as amostras de urina colhidas neste experimento, devido, principalmente, ao método de colheita por micção natural (Garcia-Navarro 2005). Os resultados da contagem das células de descamação não possibilitaram estabelecer relação com os grupos estudados, nem ao longo dos momentos, pois não houve diferença exacerbada no comportamento das variáveis entre as análises. Os espermatozoides foram encontrados em pouca quantidade, porém não tem relevância para este estudo. Normalmente as células estão presentes em pouca quantidade na urina (Garcia-Navarro 2005), portanto, pode-se dizer que as urinálises apresentaram valores normais para a espécie.

Todas as amostras (420/420) de urina apresentaram bactérias, sendo que a maioria delas era classificada como raras ou uma cruz, em ambos os grupos estudados e, em menor número, duas cruzes. Houve presença de bactérias três cruzes apenas em 9/280 amostras do Grupo CA. Ocasionalmente, quando se observou bactérias classificadas como raras na lâmina do sedimento urinário, considerou-se achado normal, indicando contaminação superficial em amostras colhidas por micção natural, assim como se procedeu neste estudo. Se houvesse infecção urinária nos animais, a quantidade de bactérias seria maior do que a encontrada (Garcia-Navarro 2005, Araújo et al. 2009).

Houve presença de leucócitos também em todas as urinálises. Isto foi comprovado pelos achados de aglomerados leucocitários, porém não existiu predominância celular em nenhum grupo. Os achados de hemácias e leucócitos nas amostras de urina dos animais não ressaltaram nenhum padrão característico relacionado aos grupos experimentais. A maior quantidade de células (maior que 350 células/campo e incontáveis) foi encontrada, inclusive, no M0, quando o tratamento não havia sido iniciado no Grupo CA. Neste momento, 13/40 ovinos do Grupo CA e 5/20 do Grupo controle mostraram leucócitos incontáveis. A partir do M1, a maioria das amostras apresentou 10 a 50 células/campo e 50 a 100 células/campo em ambos os grupos estudados. Antes da colheita de urina, procedia-se a lavagem do prepúcio com água, por isso grande parte da contaminação bacteriana foi amenizada com esse procedimento, no entanto, prováveis inflamações locais do prepúcio, glândula e até uretra não eram removidas, embora se houvesse uretrite deveria ter células de descamação uretral, o que não ocorreu. Assim, pode-se justificar, no início do experimento, a presença significativa de leucocitúria e menos relevante de bacteriúria. A inflamação urogenital evidenciada pela leucocitúria no M0, porém sem sinais clínicos, deve-se, possivelmente, a traumatismos durante o transporte (Paes et al. 2012), ou pelo comportamento de dominância e sodomia (Gonsalves Neto et al. 2009), ou até pelo contato do prepúcio com a cama de maravalha durante o tempo que os animais permaneciam em decúbito esternal. Talvez isso possa ser a justificativa para a leucocitúria, já que nos momentos posteriores o número de células/campo foi menor, relacionando-se à normalidade, visto que a colheita foi por micção natural (Garcia-Navarro 2005).

Os cordeiros do Grupo controle não apresentaram muco nas amostras de urina (140/140). Enquanto nas urinálises dos ovinos do Grupo CA havia muco classificado como raro e uma cruz, a partir de M3. A presença de muco na urina é normal apenas nos equinos, principalmente nas éguas. Nas demais espécies, o muco pode surgir na primeira micção da manhã (Garcia-Navarro 2005). Durante o experimento a urina era colhida pela manhã, quando a maioria dos animais estava em decúbito esternal, o que talvez possa justificar o aparecimento de muco em 35/280 amostras do Grupo CA.

Encontraram-se cilindros (tipos Granuloso, Leucocitário, Misto e Hialino) no Grupo CA a partir de M2. Os cilindros são acúmulos de proteína e material celular formados nos túbulos renais, e denotam lesão tubular. Geralmente são raros nos ruminantes, devido à alcalinidade da urina (Araújo et al., 2009). No entanto, sua presença foi observada nas amostras de urina dos animais deste trabalho, pois apresentaram urina mais ácida, mesmo sem o uso do cloreto de amônio, pela ingestão de ração rica em concentrado. A maior quantidade de amostras com cilindros foi detectada no M6 do Grupo CA (11/40). A predominância do tipo de cilindro foi o granuloso, evidenciado por 22/280 amostras do Grupo CA. Apenas um animal do Grupo CA apresentou cilindro hialino. Apenas

4/280 das urinálises do Grupo CA mostraram duas cruzes de cilindros, sendo que as demais foram classificadas como raras e uma cruz quanto à presença de cilindros. Nenhuma amostra de urina do Grupo controle apresentou cilindros em nenhum momento.

Tanto a presença de cilindros, como de muco nos animais do Grupo CA mostrou que pode existir agressão tubular pelo cloreto de amônio, embora apenas um animal de ambos os grupos apresentasse degeneração tubular leve na histopatologia. Se houvesse lesão tubular renal pelo consumo deste acidificante urinário, provavelmente, haveria maior quantidade de animais com degeneração e necrose tubular nos animais do Grupo CA. Detectou-se necrose tubular leve e moderada em 20/40 ovinos do Grupo CA e 16/20 cordeiros do Grupo controle. A deposição de restos celulares é um fator extremamente importante para a formação do núcleo orgânico de urólito (Freeman et al. 2010).

Os cristais estavam presentes no grupo Grupo controle, em maior quantidade no M6. A presença e o tipo de cristais estão diretamente relacionados ao desenvolvimento da urolitíase e a composição do cálculo (Garcia-Navarro 2005). O pH da urina também interfere no tipo de cristal, pois é influenciado pela dieta. Os mais comumente encontrados em ruminantes são os de estruvita, carbonatos e silicatos devido à alcalinidade da urina (Araújo et al., 2009). Porém, neste estudo a predominância nos dois grupos foi do tipo fosfato triplo, que pode se formar em pH alcalino, neutro ou levemente ácido, assim como o encontrado por Antonelli et al. (2012). Este tipo de cristal foi visualizado em 7,5% (21/280) das amostras de urina dos animais do Grupo CA e 25,7% (36/140) do Grupo controle. O cristal de carbonato de cálcio é formado em urina alcalina, e foi detectado apenas na urinálise de um cordeiro do Grupo controle, que não recebeu acidificante urinário.

Mavangira et al. (2010) não encontraram associação entre a suplementação de cloreto de amônio e a presença de cristais na urina. Porém, observaram maior quantidade de cristais (fosfato triplo e oxalato de cálcio) em animais que não receberam o produto, concordando com este estudo. O Grupo controle (27% - 37/140) apresentou maior quantidade de animais com cristalúria ao longo dos momentos, em relação ao Grupo CA (8% - 21/280). Apenas os animais do Grupo controle também mostraram quatro cruzes de cristais nas suas amostras de urina. No entanto, Mavangira et al. (2010) não realizaram urinálise antes do início do tratamento e, como neste trabalho procedeu o M0. Assim eles não conseguiram determinar o que havia na urina antes do estudo.

Ureia e Creatinina séricas

Os soros sanguíneos para as dosagens de ureia e creatinina foram descongelados e processados em uma única vez. Os valores de creatinina (Quadro 1) permaneceram abaixo da faixa de normalidade para a espécie durante todo o experimento, segundo Kaneko et al. (2008), de 1,2 a 1,9mg/dL. Enquanto que os resultados da mensuração de ureia (Quadro 2) se mostraram maiores que a normalidade de 17,12 a 42,8mg/dL, em todos os grupos e momentos.

Embora todos os valores da dosagem sérica da creatinina tenham permanecido abaixo do intervalo de referência, houve diferença estatística entre os dois grupos nos momentos M1, M2 e M3. Nos três momentos as medianas dos valores do Grupo CA foram maiores que Grupo controle. Isto se iniciou exatamente após sete dias de tratamento com cloreto de amônio (M1) no Grupo CA, promovendo alterações na fisiologia renal, porém sem causar danos clinicamente detectáveis.

Existiu diferença estatística dentro dos dois grupos ao longo dos momentos, provavelmente, pela adaptação por período mais prolongado à dieta, e pela adição do acidificante urinário no Grupo CA. No Grupo CA, os valores nos momentos M0 e M1 foram semelhantes entre si, e maiores que os resultados dos demais momentos. As medianas dos momentos M2 e M3 foram similares aos valores de M0, M1, M4, M5 e M6. Os últimos três momentos apresentaram medianas menores que os anteriores. No Grupo controle, as medianas dos momentos M0, M1 e M5 foram semelhantes entre si e foram maiores que as medianas dos momentos M2, M3, M4 e M6.

Os resultados no Grupo CA foram menores após maior tempo de uso do cloreto de amônio, o que pode ser explicado pelo efeito diurético promovido por este sal (Stratton-Phelps & House 2004). Porém, o Grupo controle, que não recebeu o tratamento, também mostrou valores mais baixos. Isto pode estar relacionado à maior ingestão de água observada durante o experimento devido à apresentação farelada da ração total. Embora não se tenha mensurado a quantidade exata de água ingerida pelos ovinos durante o experimento, notou-se a necessidade de reposição de água nos cochos com maior frequência. Segundo Araújo et al. (2009), quanto maior ingestão de proteína ou nitrogênio não-proteico, maior será a ingestão de água, com aumento da produção urinária. Assim, os animais provavelmente urinaram maior volume, excretaram mais creatinina, e consequentemente os níveis séricos diminuíram (Ferreira et al. 2014b). A avaliação do volume do débito urinário diário, para comprovar o efeito diurético do cloreto de amônio neste estudo,

deveria ser realizada pelo uso de gaiola metabólica (Louvandini & Vitti 1994, Stratton-Phelps & House 2004), mensurando o volume de água ingerido, e de urina excretada.

As médias e medianas das concentrações da ureia sérica se mostraram maiores que o padrão de referência para a espécie, porém houve diferença estatística entre os grupos nos momentos M2, M3 e M4. No M2, o Grupo CA apresentou mediana maior que o Grupo controle, enquanto nos momentos M3 e M4 o Grupo controle mostrou valores maiores que o Grupo CA. Porém, os animais não apresentaram sintomatologia clínica de alteração da função renal. Os níveis aumentados de ureia neste caso podem ser relacionados à alta ingestão proteica da dieta, que provoca proteinúria pré-renal. Os animais foram alimentados durante o experimento com ração total que possuía 20% PB, correspondente ao nível indicado (12 a 24% PB) para crescimento e terminação de cordeiros de (Zundt et al. 2002, Prado et al. 2013). Ao longo dos momentos, nos dois grupos, houve oscilação na concentração de ureia sérica, apresentando diferenças estatísticas. No Grupo CA, a mediana do M2 se diferiu dos momentos M1, M3 e M5. No Grupo controle a mediana do M2 foi estatisticamente diferente de M4.

A creatinina é o marcador de lesão renal mais eficaz que a ureia, pois em animais sadios ela não é reabsorvida pela parede das células dos túbulos renais, além de não ser influenciada pela dieta (Kirsztajn et al. 2007, Braun et al., 2010). Embora a creatinina se mostre elevada apenas quando há comprometimento de mais de 70% dos néfrons (Kozloski et al., 2005), a análise conjunta da ureia, e ausência do quadro clínico compatível com nefropatia dos animais permitiu excluir disfunções renais durante o experimento. Isso era esperado uma vez que não houve obstrução do fluxo urinário por cálculos. Embora se tenha encontrado alterações significativas na urinálise, como a presença de cilindros granulados que indicam lesão tubular renal, e cristais.

Sacco & Lopes (2011) não observaram aumento nas concentrações séricas de creatinina (1,54mg/dL) no grupo de bovinos Guzerá com urolitíase devido à dureza da água, assim como Dória et al. (2007), que relataram um caso em carneiro. Porém este animal foi desobstruído apenas com tratamento com antiespasmódico. Já em outros dois casos de caprinos relatados por Dória et al. (2007), da raça Boer, houve aumento expressivo de ureia (442,95mg/dL) e creatinina (5,65mg/dL). Guimarães et al. (2012) detectaram azotemia nos 66 animais estudados com média de 4,71mg/dL de creatinina e 185,61mg/dL de ureia. Apesar das dosagens de ureia e creatinina atingirem valores elevados, estes foram relacionados à estase urinária e consequente reabsorção destes compostos o que caracteriza azotemia pós-renal e não propriamente insuficiência renal (Guimarães et al., 2012).

George et al. (2007) notaram aumento de ureia e creatinina em 107 caprinos com urolitíase, com média de 73,2mg/dL e 6,3mg/dL, respectivamente. Observou-se azotemia (184,84mg/dL de ureia e 3,64mg/dL de creatinina) no perfil renal sérico em um ovino, macho, com obstrução uretral descrito por Sousa et al. (2011). Streeter et al. (2002) também constataram aumento de creatinina (3,9mg/dL) em caprino de três meses de idade com urolitíase obstrutiva.

Exame macroscópico do sistema urinário

O exame macroscópico do sistema urinário dos ovinos dos dois grupos experimentais revelou cálculos de aspecto arenoso nos rins (Figura 1 e 2) em 16,67% (10/60) dos animais. Houve diferença estatística entre os grupos somente para a presença de cálculo, sendo significativamente maior no Grupo controle, com 25% (5/20) dos ovinos em relação ao Grupo CA com 12,5% (5/40) dos animais que apresentaram cálculos na pelve e cálices renais. Outras alterações patológicas macroscópicas (Quadro 3) foram encontradas como congestão de medular renal, alteração da definição córtico-medular renal, dilatação da pelve em ambos os grupos e, no Grupo controle um animal apresentou hidronefrose com dilatação unilateral de ureter (Figura 3).

Obstruções parcial ou total de ureter provocam dor intensa pela migração dos cálculos dos rins até a bexiga em qualquer espécie animal (Ewoldt et al., 2008). Apesar disso, um cordeiro do GII apresentou hidroureter e discreta hidronefrose no *post-mortem* (Figura 3), e não foi detectada manifestação dolorosa ou diminuição de apetite neste animal até o final do período de confinamento. Isso corrobora com descrição da manifestação clínica de caprinos após obstrução ureteral unilateral total e bilateral parcial experimental relatada por El-Kammar et al. (2012). Nesse estudo os autores referiram que os animais ficaram deprimidos, apresentaram tremores e arqueamento do dorso no primeiro dia após a obstrução experimental por ligadura cirúrgica do ureter, porém a partir do quarto dia, todos os caprinos passaram a se alimentar, tomar água, defecar e urinar normalmente. Assim, pode-se dizer que o cordeiro do presente trabalho possa ter apresentado dor entre os períodos de observação clínica diária nos últimos momentos de colheita

do experimento enquanto ocorria o processo de obstrução parcial unilateral do ureter, entretanto seu comportamento estava normalizado nos dias anteriores à necropsia.

As alterações macroscópicas dos rins corroboraram com os dados presentes na literatura (Loretti et al. 2003, Riet-Correa et al. 2008, Assis et al. 2009, Guimarães et al. 2012), com exceção dos achados de necropsia relacionados à obstrução ou ruptura uretral, e ruptura vesical. Isto porque não houve detecção clínica da obstrução do fluxo urinário, porém encontraram-se cálculos, principalmente na pelve renal neste estudo.

Os achados patológicos dos rins deste estudo, como congestão da medular renal e hemorragia, corroboraram com as alterações descritas por Sahinduran et al. (2007) em bovinos com urolitíase. No presente trabalho, observaram-se urólitos apenas no *post-mortem*, localizados na pelve e nos cálices renais, assim como foi relatado por esses autores.

Os achados necroscópicos deste trabalho foram semelhantes aos achados descritos nos trabalhos de Dória et al. (2007), Riet-Correa et al. (2008) e Guimarães et al. (2012) relacionados a ovinos acometidos por urolitíase em Jaboticabal-SP, Paraíba e Pernambuco. Estes autores, no entanto, citaram ocorrência de pielonefrite, cistite hemorrágica difusa, presença de urólitos na bexiga e uretra, o que não foi notado neste estudo.

Exame microscópico do sistema urinário

No exame histopatológico do sistema urinário foram observadas diversas alterações nos rins e bexiga, que estão descritas nos Quadros 4 e 5, respectivamente, e ilustradas nas Figuras 4 a 9. Os fragmentos de ureter e uretra peniana, por sua vez, não demonstraram alterações microscópicas. Isso se deve à ausência de lesões macroscópicas, como obstrução uretral e ureteral por cálculos, com exceção de um animal do Grupo controle, que apresentou obstrução parcial unilateral do ureter, conforme visualizado na Figura 3.

Entre as alterações histopatológicas renais descritas houve diferença estatística entre os grupos somente em congestão vascular leve e necrose tubular leve. O Grupo controle apresentou congestão vascular leve em 30% dos animais, enquanto, no Grupo CA, apenas 7,5%. Quanto à necrose tubular, 70% dos ovinos do Grupo Controle e 40% dos animais do Grupo CA apresentaram essa alteração em grau leve.

As alterações que mostraram maior relevância em ambos os grupos, em ordem crescente, foram: sinéquias glomerulares em 18,3% (11/60) dos animais; congestão vascular com 21,7% (13/60) de cordeiros acometidos; proteína na luz tubular, que esteve presente em 35% (21/60) dos cortes histológicos dos rins; infiltrado inflamatório mononuclear foi encontrado em 36,7% (22/60) dos ovinos; e necrose tubular ocorreu em mais da metade dos rins dos cordeiros estudados - 60% (36/60). Enquanto as demais alterações microscópicas, como dilatação e degeneração tubular, e fibrose cortical, demonstraram pouca importância devido à baixa prevalência encontrada.

Congestão vascular (Figura 4) foi observada em 10% dos animais do Grupo CA e em 45% dos animais do Grupo controle, o que pode estar relacionado com processos inflamatórios (Maxie & Newman 2007, Raekallio et al. 2010). Dilatação tubular apareceu em apenas 5% dos animais do Grupo CA e 10% dos animais do Grupo controle. A degeneração tubular também foi notada em poucos animais, sendo um animal de cada grupo.

Visualizou-se infiltrado inflamatório mononuclear (Figura 5) em cerca de 40% dos animais em ambos os grupos, com predomínio de linfócitos e plasmócitos. Não foi verificada presença de células polimorfonucleares, possivelmente por se tratar de lesões inflamatórias mais crônicas (Maxie & Newman 2007). Fibrose foi observada somente no Grupo CA, porém em apenas cinco animais. El-Kammar et al. (2012) também observaram infiltrado mononuclear e fibrose nos rins de caprinos com hidronefrose devido a indução experimental de obstrução ureteral.

Observou-se necrose tubular (Figura 6) em 50% dos ovinos do Grupo CA e 80% do Grupo controle, o que pode ser considerada lesão renal mais relevante encontrada nos animais deste estudo, visto que foi encontrada em muitos animais e por se tratar de uma alteração irreversível.

A presença de proteína na luz tubular (Figura 7) apareceu em 37,5% dos cordeiros do Grupo CA e 30% no Grupo controle, ou seja, de forma semelhante nos dois grupos. Isso pode ser explicado pelo consumo da mesma dieta e pelo alto teor de PB (Braun et al. 2010, Botelho et al. 2012). Sinéquias glomerulares (Figura 8) estiveram presentes em 17,5% dos animais do Grupo CA e 20% do Grupo controle. A ocorrência dessa alteração também é diretamente afetada pela alta ingestão proteica (20% PB), pois o animal acaba excretando o excesso de proteína ingerida pela urina, o que categoriza proteinúria pré-renal (Garcia-Navarro 2005), e danifica os glomérulos

(Rabinowitz et al. 1973, Palviainen et al. 2012), contribuindo para a formação do núcleo proteico do urólito (Antonelli et al. 2012).

A hiperproteneimía também se manifestou com níveis elevados de ureia sérica conforme mostra a Tabela 6. Esses achados sugeriram grau leve de glomerulonefrite (Frelie et al. 1990). Esses autores encontraram hipoalbuminemia, hipocalcemia, hiperfosfatemia e uremia em quatro cordeiros com mesangiocapilar glomerulonefrite tipo I, corroborando com a ureia aumentada deste trabalho.

Em Medicina Veterinária, os tipos morfológicos das glomerulonefrites não são comumente associados com a apresentação clínica, curso clínico ou resolução, como observado em humanos (Inkelmann et al. 2012). Sabe-se que o tipo mais frequente em cães é a glomerulonefrite membranoproliferativa. Para classificação morfológica dessa enfermidade sugere-se a coloração com ácido periódico de Schiff - PAS (Maxie & Newman 2007).

A presença de proteína na luz tubular também categoriza lesão tubular, visto que apenas proteínas de baixo peso molecular (albumina) ultrapassam o glomérulo, porém são reabsorvidas pelas células epiteliais tubulares. A proteinúria pode resultar da diminuição da capacidade de reabsorção tubular ou de lesão tubular, mas a maioria das proteinúrias é uma consequência da alteração da filtração glomerular (FRELIER et al., 1990). A proteinúria sem os achados de sedimento inflamatório urinário, que denotaria proteinúria pós-renal, é o marco principal da doença glomerular (Garcia-Navarro 2005).

As alterações vesicais observadas não apresentaram diferença estatística entre os grupos. Notou-se congestão vascular leve (Figura 9) em um animal de cada grupo e infiltrado inflamatório mononuclear em 10% dos animais em ambos os grupos. A ausência de outras alterações pode ser justificada pela inexistência de lesões macroscópicas na bexiga, como cistite ou presença de cálculos (Maxie & Newman 2007).

Embora não se tenha obtido casos de urolitíase obstrutiva durante o período experimental, o uso do cloreto de amônio não impediu a formação de cálculos renais, que foram visualizados no exame macroscópico. No entanto, detectou-se menor número de animais do Grupo CA com necrose tubular renal comparado ao Grupo controle. Isso demonstra que este acidificante urinário não predispõe o desenvolvimento de lesões renais pelo seu uso contínuo na alimentação, mas que a dieta rica em grãos provoca alterações relevantes que foram detectadas no exame histopatológico.

Santarosa et al. (2008) e Barbosa et al. (2008) estudaram o perfil bioquímico renal e hepático, respectivamente, de ovinos confinados e suplementados com cloreto de amônio e não verificaram aumento de ureia, creatinina e das enzimas hepáticas. Afirmaram que este sal acidificante não provocou prejuízos aos rins e fígado de ovinos. No presente estudo também não foi notado aumento dos exames bioquímicos de função renal que justificassem as alterações encontradas no exame histopatológico, embora os níveis de ureia estivessem acima dos padrões de referência para a espécie ovina. Isso corrobora a literatura, que afirma existir aumento significativo das alterações nos exames de função renal quando ocorre grande comprometimento dos néfrons, em cerca de 70% (Kozloski et al. 2005, Braun et al. 2010), e neste estudo as lesões microscópicas encontradas foram classificadas como leve na maioria dos animais.

Os achados histopatológicos dos rins, como congestão vascular, infiltrado inflamatório, degeneração e necrose tubular deste estudo, concordaram com os descritos por diversos autores que relataram casos de urolitíase em ruminantes (Dória et al. 2007, Silva et al. 2008, Assis et al. 2009, Oliveira et al. 2013). Embora se tenha visualizado fibrose no rim em apenas um ovino do Grupo CA, e dois animais de ambos os grupos com dilatação tubular, Oliveira et al. (2013) também descreveram estas lesões em um bovino com urolitíase. Os mesmos autores referiram predominância de linfócitos no infiltrado inflamatório, e presença de proteína na luz tubular, assim como ocorreu nos cordeiros deste estudo. Apesar de se detectar alta porcentagem de animais com sinéquias glomerulares neste experimento, não foi observada degeneração glomerular como Silva et al. (2008) relataram em um bovino.

As lesões histopatológicas da bexiga foram compatíveis aos descritos por Silva et al. (2008), que relataram infiltrado inflamatório e congestão da submucosa, porém estes autores discutiram um caso de cistite secundária à obstrução total da uretra, o que não ocorreu no presente estudo.

Concluiu-se que a dieta rica em concentrado proporcionou a formação de cálculos, mas não de urolitíase obstrutiva. Os exames de ureia e creatinina não mostraram alterações na função renal dos animais durante o período de confinamento. No entanto, a urinálise mostrou alterações como presença de cilindros granulosos no Grupo CA e cristalúria (predominância de fosfato triplo) em ambos os grupos. A dieta rica em grãos, com alto teor de proteína (20% PB) provocou lesão renal, comprovada pela proteinúria na urinálise, e alta porcentagem de necrose tubular visualizada nos

rins dos animais, além de outras alterações como sinéquias glomerulares e presença de proteína na luz tubular. Os animais do Grupo Controle, não suplementados com cloreto de amônio, tiveram maior comprometimento renal pelo consumo da dieta rica em grãos ao exame histopatológico renal, e por consequência, este grupo apresentou maior porcentagem de animais com cristalúria e cálculos no *post-mortem*.

Deve-se atentar para a alimentação rica em grãos por períodos prolongados, como ocorre com reprodutores e animais de elite, pois pode provocar lesões renais, além da predisposição para o desenvolvimento da urolitíase; comprovou-se que esta dieta, fornecida no confinamento por 56 dias, foi capaz de provocar lesão renal visualizada no exame macro e microscópico, além da urinálise que mostrou a presença de cilindros granulados, porém não afetou a funcionalidade renal e consequentemente o crescimento e terminação dos cordeiros.

AGRADECIMENTOS

À FMVZ/UNESP-Botucatu, pela estrutura física e equipamentos utilizados para a realização do experimento. À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela Bolsa de Mestrado concedida (Processo 2012/24985-4).

REFERÊNCIAS

- Antonelli A.C., Barrêto Júnior R.A., Mori C.S., Sucupira M.C.A., Marcello A.C.S. & Ortolani, E.L. 2012. Efeito de diferentes fontes energéticas na predisposição para urolitíase em cabritos. *Ciênc. Anim. Bras.* 13:487-493.
- Araújo P.B., Pereira D.S., Teixeira M.N., Coelho M.C.O.C. & Alencar S.P. 2009. Urinálise como instrumento auxiliar no diagnóstico de enfermidades em pequenos ruminantes. *Medicina Veterinária, Recife.* 3: 30-38.
- Assis A.C.O., Silva T.R., Aguiar G.M.N., Melo D.B., Almeida F.C., Medeiros J.M. & Nóbrega Neto P.I. 2009. Urolitíase obstrutiva em bovinos no semi-árido paraibano. *Ciência Animal Brasileira. Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria Supl.1:* 41-45.
- Barbosa C.C., Goncalves R.C., Ferreira D.O.L., Santarosa B.P. & Dias A. 2008. Perfil Bioquímico Hepático em Ovinos Confinados Tratados com Cloreto de Amônio e Vitamina C. *Anais XX Congresso de Iniciação Científica da UNESP. São José dos Campos-SP.*
- Belknap E.B. & Pugh D.G. 2005. *Enfermidades do Sistema Urinário.* In: Pugh D.G. *Clínica de Ovinos e Caprinos*, 1 ed, São Paulo: Roca, p.287-310.
- Botelho G.G., Botelho C.M., Botelho C.F.M. & Paz J.G. 2012. Relação proteína/creatinina urinária (PU/CrU) em bovinos leiteiros. *Rev. Bras. Med. Vet.* 34(2): 121-126.
- Braun J.P., Trumela C. & Bézille P. 2010. Clinical biochemistry in sheep: A selected review. *Small Ruminant Research.* 92: 10-18.
- Dória R.G.S., Canola P.A., Dias D.P.M., Pereira R.N. & Valadão C.A.A. 2007. Técnicas cirúrgicas para urolitíase obstrutiva em pequenos ruminantes: relato de casos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 59: 1425-1432.
- El-Kammar M.H., Alsafy M.A.M., Mohammed M.I. & El-Neweshy M.S. 2012. Ureteric obstruction and hydronephrosis in Baladi goats: Topographical anatomy, ultrasonographical, hematological and pathological findings. *Small Rumin. Res.* 104:169-178.
- Ewoldt J.M., Jones M.L. & Miesner M.D. 2008. Surgery of Obstructive Urolithiasis in Ruminants. *Vet Clin Food Anim.* 24: 455-465.
- Feitosa F.L.F. 2014. *Semiologia Veterinária: a arte de diagnóstico.* 3ed. São Paulo: Ed. Roca. 627p.
- Ferreira D.O.L. Avaliação da acidificação urinária em ovinos com a utilização de três tratamentos. Botucatu, 2009. 106p. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu – UNESP, Campus Botucatu.
- Ferreira D.O.L., Santarosa B.P., Moraes L.F., Takahira R.K., Amorim R.M., Chiacchio S.B. & Gonçalves R.C. 2011. Avaliação da acidificação urinária em ovinos com cloreto de amônio, vitamina C e associação destes. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária (Conbravet), 38, Florianópolis. Anais... Florianópolis: [s.n.] (Resumo expandido).
- Ferreira D.O.L. Modelo experimental de urolitíase em ovinos - estudo clínico, laboratorial e hemogasométrico. Botucatu, 2013. 199p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu – UNESP, Campus Botucatu.
- Ferreira D.O.L., Santarosa B.P., Sacco S.R., Dias A., Amorim R.M., Chiacchio S.B., Lisbôa J.A.N & Gonçalves R.C. 2014a. Efeito da suplementação de cloreto de amônio sobre os equilíbrios

- eletrolítico e ácido-básico e o pH urinário de ovinos confinados. *Pesq. Vet. Bras.* 34(8):797-804.
- Ferreira D.O.L., Santarosa B.P., Belotta A.F., Mamprim M.J., Silva, A.A., Dias A., Chiacchio S.B. & Gonçalves R.C. 2014b. Alterações ultrassonográficas renais e vesicais de ovinos confinados e suplementados com cloreto de amônio. *Pesq. Vet. Bras.* 34(Supl. 1): 99-106.
- Freeman S.R., Poorea M.H., Young G.A. & Anderson K.L. 2010. Influence of calcium (0.6 or 1.2%) and phosphorus (0.3 or 0.6%) content and ratio on the formation of urolithogenic compounds in the urine of Boer-cross goats fed high-concentrate diets. *Small Ruminant Research.* 93: 94-102.
- Frelief P.F., Armstrong D.L. & Pritchard J. 1990. Ovine Mesangiocapillary Glomerulonephritis Type I and Crescent Formation. *Vet. Pathol.* 27: 26-34.
- Garcia-Navarro C.E.K. 2005. Manual de Urinálise Veterinária. São Paulo: Varela, 95p.
- George J.W., Hird D.W. & George L.W. 2007. Serum biochemical abnormalities in goats with uroliths: 107 cases (1992-2003). *JAVMA.* 230(1): 101-106.
- Gonsalves Neto J., Teixeira F.A., Nascimento P.V.N. & Marques, J.A. 2009. Comportamento social dos ruminantes. Artigo Número 096. *Revista Eletrônica Nutritime.* 4(6): 1039-1055.
- Guedes Jr F.S.; Cruz D.S.; Rodrigues M.M.P.; Silva L.M.; Amorim R.L.; Vianna P.T.G. & Castiglia Y.M.M. 2012. Renal histology and immunohistochemistry after acute hemorrhage in rats under sevoflurane and ketoprofen effect. *Acta Cirúrgica Brasileira.* 27(1): 37-42.
- 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. 2012. Estudo retrospectivo de 66 casos de urolitíase obstrutiva em ovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 32: 824-830.
- Jones M.L., Streeter R.N., Goad C.L. 2009. Use of dietary cation anion difference for control of urolithiasis risk factors in goats. *Am. J. Vet. Res.* 70: 149-155.
- Inkelmann M.A.; Kommers G.D.; Trost M.E.; Barros C.S.L.; Figuera R.A.; Irigoyen L.F. & Silveira I.P. 2012. Lesões do sistema urinário em 1.063 cães. *Pesq. Vet. Bras.* 32(8): 761-771.
- Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals.* 6th ed. Academic, San Diego. 916p.
- Kannan K.V.A. & Lawrence K.E. 2010. Obstructive urolithiasis in a Saanen goat in New Zealand, resulting in a ruptured bladder. *New Zealand Veterinary Journal.* 58: 269-271.
- Kinsley M.A.; Semevolos S.; Parker J.E.; Duesterdieck-Zellmer K. & Huber M. 2013. Use of Plain Radiography in the Diagnosis, Surgical Management, and Postoperative Treatment of Obstructive Urolithiasis in 25 Goats and 2 Sheep. *Veterinary Surgery.* 42: 663-668.
- Kirsztajn G.M. Avaliação do ritmo de filtração glomerular. *J B. Patol. Med. Lab.*, v.43 n.4, p.257-264, 2007.
- Kozloski G.V., Fiorentini G., Härter C.J. & Sanchez L.M.B. 2005. Uso da creatinina como indicador da excreção urinária em ovinos. *Ciência Rural* 35(1):98-102.
- Loretti A.P.; Oliveira L.O.; Cruz C.E.F. & Driemeier D. 2003. Clinical and pathological study of an outbreak of obstructive urolithiasis in feedlot cattle in southern Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 23(2): 61-64.
- Louvandini H. & Vitti D.M.S.S. 1994. Perda endógena de fósforo em ovinos com diferentes níveis do elemento na dieta. *Pesq. Agropec. Bras.* 29(1): 145-149.
- Mavangira V., Cornish J.M. & Angelos J.A. 2010. Effect of ammonium chloride supplementation on urine pH and urinary fractional excretion of electrolytes in goats. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 237: 1299-1304.
- Maxie M.G. & Newman S.J. The urinary system. In: Maxie M.G. (Ed.), Jubb, Kennedy, And Palmer's Pathology of Domestic Animals. 5th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia. v.2, p.425-522, 2007.
- Navarre C.B. 2007. Urolithiasis in Goats. In: The North American Veterinary Conference, 2007, Orlando, Florida. Anais... Orlando: [s.n] p.255-257. (Resumo).
- Oliveira R.S.; Macedo J.T.A.; Lents M.P.; Silva R.M.M.; Ferreira E.A.; Pinheiro E.E.G.; Costa J.N. & Pedroso P.M.O. 2013. Urolitíase obstrutiva em touro Nelore no Recôncavo da Bahia. *Acta Scientiae Veterinariae.* 41(Suppl. 1): 1-4.
- Paes P.R.O.; Gonçalves R.C.; Barioni G.; Leme F.O.P.; Melo M.M. & Cruz M.L. 2012. O leucograma como indicador de estresse no desmame e no transporte rodoviário de bovinos da raça Nelore. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina.* 33(1): 305-312.
- Palviainen M.; Raekallio M.; Rajamäki M.M.; Linden J. & Vainio O. Kidney-derived proteins in urine as biomarkers of induced acute kidney injury in sheep. *The Veterinary Journal.* v.193, p.287-289, 2012.

- Pires C.C.; Silva L.F.; Schlick F.E.; Guerra D.P.; Biscaino G. & Carneiro R.M. 2000. Cria e terminação de cordeiros confinados. *Ciência Rural*. 30(5): 875-880.
- Prado O.R., Monteiro A.L.G., Bastos G.M., Saab B.B., Quizini S.M.P, Pierobom C.C., Hentz F. & Nomura T.M. 2013. Sistemas de alimentação e épocas de terminação sobre as medidas corporais pré-abate e da carcaça de cordeiros abatidos na região Centro-Sul do Paraná. *Semina, Ciênc. Agrárias* 34(6):3031-3042.
- Rabinowitz, L.; Gunther, R.A.; Shoji, E.S.; Freeland, R.A. & Avery, E.H. 1973. Effects of high and low protein diets on sheep renal function and metabolism. *Kidney International*. 4: 188-207.
- Raekallio, M.R.; Saario-Paunio, E.M.K.; Rajamäki, M.M.; Sankari, S.M.; Palviainen, M.J.; Siven, M.S.; Peltoniemi, S.M.; Leinonen, M.; Honkavaara, J.M. & Vainio, O.M. 2010. Early detection of ketoprofen-induced acute kidney injury in sheep as determined by evaluation of urinary enzyme activities. *AJVR*. 71 (10): 1246-1252.
- Riet-Correa F., Simões S.V.D. & Vasconcelos J.S. 2008. Urolitíase em caprinos e ovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 28:319-322.
- Sacco S.R. & Lopes R.S. 2011. Urolitíase: estudo comparativo em bovinos Guzerá oriundos de propriedades com e sem o problema. *Pesq. Vet. Bras.* 31(3): 206-212.
- Sahinduran S.; Buyukoglu T.; Gulay M.S. & Tasci F. 2007. Increased Water Hardness and Magnesium Levels May Increase Occurrence of Urolithiasis in Cows from the Burdur Region (Turkey). *Veterinary Research Communications*, v. 31, p. 665-671,
- Santarosa B.P.; Goncalves R.C.; Ferreira D.O.L.; Barbosa C.C. & Dias A. 2008. Perfil Bioquímico Renal em Ovinos Confinados Tratados com Cloreto de Amônio e Vitamina C. *Anais XX Congresso de Iniciação Científica da UNESP, São José dos Campos-SP.*
- Silva P.C.A.R.; Pitombo C.A.; Caetano L.F.O.; Lima A.G.; Arêas V.S. & Vargas Júnior, L. 2008. Urolitíase em novilho nelore não-castrado. *Veterinária em Foco*. 5(2): 131-136.
- Sousa A.A.R.; Nunes V.H.S.; Oliveira R.A.; Sousa A.A.S.; Teixeira W.C. & Coelho M.C.O.C. 2011. Urolitíase obstrutiva em ovino. *Acta Scientiae Veterinariae*. 39(2)970.
- Stewart S.R.; Emerick R.J. & Pritchard R.H. 1991. Effects of dietary ammonium chloride and variations in calcium to phosphorus ratio on silica urolithiasis in sheep. *J. Anim. Sci.* 69:2225-2229.
- Stratton-Phelps M. & House J.K. 2004. 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. *Am. J. Vet. Res.* 65:1391-1397.
- Streeter R.N.; Washburn K.E. & Mccauley C.T. 2002. Percutaneous tube cystostomy and vesicular irrigation for treatment of obstructive urolithiasis in a goat. *JAVMA*. 221(4,): 546-549.
- Sun W-D., Zhang K-C., Wang J-Y. & Wang X-L. 2010. The chemical composition and ultrastructure of uroliths in Boer goats. *The Veterinary Journal*. 186: 70-75.
- Taffarel L.E.; Costa P.B.; Pozza M.S.S.; Wobeto J.R. & Munchen E.P. 2012. Correlação entre características físicas, pH e contagem bacteriana da urina de ovinos. *Synergismus scyentifica*. 7: 3p.
- Van Metre D.C. & Fubini S.L. 2006. Ovine and Caprine Urolithiasis. Another Piece of the Puzzle *Veterinary Surgery*. *Veterinary Surgery*. 35:413-416.
- Zundt M., Macedo F.A.F., Martins E.N., Mexia A.A. & Yamamoto S.M. 2002. Desempenho de Cordeiros Alimentados com Diferentes Níveis Protéicos. *R. Bras. Zootec.* 31 (3): 1307-1314.

Legenda das Figuras

- Fig. 1. Rim de um ovino do Grupo CA, apresentando congestão da medular e pequenos cálculos (seta).
- Fig. 2. Presença de cálculos na pelve e medular do rim de um ovino do Grupo CA, e amostra de cálculo.
- Fig. 3. Rim direito de um ovino do Grupo controle apresentando dilatação do ureter devido à presença de cálculos. Nota-se o aumento de volume renal.
- Fig. 4. Ovino. Rim. Congestão vascular, H.E. (20x).
- Fig. 5. Ovino. Rim. Infiltrado inflamatório mononuclear (linfocítico), H.E. (20x).
- Fig. 6. Ovino. Rim. Necrose tubular, H.E. (40x).
- Fig. 7. Ovino. Rim. Proteína na luz tubular (material amorfo eosinofílico), H.E. (40x).
- Fig. 8. Ovino. Rim. Sinéquia e esclerose glomerular, H.E. (40x).
- Fig. 9. Ovino. Bexiga. Congestão vascular, H.E. (40x).

Os Quadros

Quadro 1. Médias (\bar{x}), desvios-padrão (s) e medianas (Md) de creatinina (mg/dL) sérica, nos diferentes momentos de colheita, de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (Grupo CA e Grupo controle).

| M | Grupo CA (n=40) | | Grupo controle (n=20) | |
|----|-----------------|---------------------|-----------------------|--------------------|
| | $\bar{x} \pm s$ | Md | $\bar{x} \pm s$ | Md |
| M0 | 1,10 ± 0,39 | 0,99 ^{Aa} | 0,98 ± 0,54 | 0,86 ^{Aa} |
| M1 | 1,11 ± 0,37 | 1,13 ^{Aa} | 0,87 ± 0,24 | 0,85 ^{Ab} |
| M2 | 0,85 ± 0,28 | 0,83 ^{ABa} | 0,73 ± 0,10 | 0,71 ^{Bb} |
| M3 | 0,96 ± 0,91 | 0,82 ^{ABa} | 0,73 ± 0,09 | 0,72 ^{Bb} |
| M4 | 0,75 ± 0,19 | 0,73 ^{Ba} | 0,69 ± 0,11 | 0,71 ^{Ba} |
| M5 | 0,76 ± 0,17 | 0,77 ^{Ba} | 0,75 ± 0,19 | 0,81 ^{Aa} |
| M6 | 0,80 ± 0,36 | 0,73 ^{Ba} | 0,73 ± 0,23 | 0,70 ^{Ba} |

^{a,b}Diferença estatística (p<0,05) entre os grupos, no mesmo momento.

^{A,B}Diferença estatística (p<0,05) entre os momentos, no mesmo grupo.

Quadro 2. Médias (\bar{x}), desvios-padrão (s) e medianas (Md) de ureia (mg/dL) sérica, nos diferentes momentos de colheita, de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (Grupo CA e Grupo controle).

| M | Grupo CA (n=40) | | Grupo controle (n=20) | |
|----|-----------------|----------------------|-----------------------|----------------------|
| | $\bar{x} \pm s$ | Md | $\bar{x} \pm s$ | Md |
| M0 | 49,96 ± 23,53 | 44,18 ^{ABa} | 50,46 ± 37,26 | 43,20 ^{ABa} |
| M1 | 45,71 ± 19,32 | 39,50 ^{Aa} | 45,57 ± 12,46 | 44,95 ^{ABa} |
| M2 | 59,59 ± 16,77 | 56,10 ^{Ba} | 44,61 ± 12,98 | 45,70 ^{ABb} |
| M3 | 45,66 ± 15,84 | 44,90 ^{Aa} | 61,75 ± 26,93 | 62,70 ^{Ab} |
| M4 | 55,48 ± 16,73 | 53,75 ^{ABa} | 66,95 ± 18,16 | 68,80 ^{Bb} |
| M5 | 46,21 ± 17,12 | 42,35 ^{Aa} | 51,50 ± 21,47 | 46,55 ^{ABa} |
| M6 | 51,35 ± 23,31 | 47,55 ^{ABa} | 54,87 ± 25,38 | 48,10 ^{ABa} |

^{a,b}Diferença estatística (p<0,05) entre os grupos, no mesmo momento.

^{A,B}Diferença estatística (p<0,05) entre os momentos, no mesmo grupo.

Quadro 3. Alterações macroscópicas do sistema urinário no *post-mortem* de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (Grupo CA e Grupo controle).

| Alterações | Grupo CA (n=40) | Grupo controle (n=20) |
|------------------------------------|---------------------------|-------------------------|
| Cálculos renais (pelve) | 12,5% (5/40) ^a | 25% (5/20) ^b |
| Dilatação da pelve renal | 7,5% (3/40) ^a | 5% (1/20) ^a |
| Perda da definição córtico-medular | 15% (6/40) ^a | 20% (4/20) ^a |
| Hidroureter e hidronefrose | 0% (0/40) ^a | 5% (1/20) ^a |
| Congestão da medular renal | 30% (12/40) ^a | 30% (6/20) ^a |

^{a,b}diferença estatística entre as porcentagens das colunas, pelo teste Z com correção de Bonferroni (p<0,05).

Quadro 4. Alterações microscópicas dos rins de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (Grupo CA e Grupo controle).

| Alterações | Grau | Grupos | |
|-------------------------------------|----------|----------------------------|---------------------------|
| | | Grupo CA (n=40) | Grupo controle (n=20) |
| Congestão vascular | Ausente | 90% (36/40) ^a | 55% (11/20) ^b |
| | Leve | 7,5% (3/40) ^a | 30% (6/20) ^b |
| | Moderado | 2,5% (1/40) ^a | 15% (3/20) ^a |
| Dilatação tubular | Ausente | 95% (38/40) ^a | 90% (18/20) ^a |
| | Leve | 0% (0/40) ^a | 5% (1/20) ^a |
| | Moderado | 2,5% (1/40) ^a | 5% (1/20) ^a |
| Degeneração tubular | Ausente | 97,5% (39/40) ^a | 90% (19/20) ^a |
| | Leve | 2,5% (1/40) ^a | 10% (1/20) ^a |
| | Moderado | 0% (0/40) ^a | 0% (0/20) ^a |
| Necrose tubular | Ausente | 50% (20/40) ^a | 20% (4/20) ^b |
| | Leve | 40% (16/40) ^a | 70% (14/20) ^b |
| | Moderado | 10% (4/40) ^a | 10% (2/20) ^a |
| Infiltrado inflamatório mononuclear | Ausente | 62,5% (25/40) ^a | 60% (12/20) ^a |
| | Leve | 27,5% (11/40) ^a | 30% (6/20) ^a |
| | Moderado | 10% (4/40) ^a | 10% (2/20) ^a |
| Proteína na luz tubular | Ausente | 62,5% (25/40) ^a | 70% (14/20) ^a |
| | Leve | 37,5% (15/40) ^a | 25% (5/20) ^a |
| | Moderado | 0% (0/40) ^a | 5% (1/20) ^a |
| Sinéquias glomerulares | Ausente | 82,5% (33/40) ^a | 80% (16/20) ^a |
| | Leve | 17,5% (7/40) ^a | 20% (4/20) ^a |
| Fibrose cortical | Ausente | 87,5% (35/40) ^a | 100% (20/20) ^a |
| | Leve | 12,5% (5/40) ^a | 0% (0/40) ^a |

^{a,b}diferença estatística entre as porcentagens das colunas, pelo teste Z com correção de Bonferroni (p<0,05).

Quadro 5. Alterações microscópicas da bexiga de ovinos confinados com e sem suplementação de cloreto de amônio (Grupo CA e Grupo controle).

| Alterações | Grau | Grupos | |
|-------------------------------------|---------|----------------------------|--------------------------|
| | | Grupo CA (n=40) | Grupo controle (n=20) |
| Congestão vascular | Ausente | 97,5% (39/40) ^a | 95% (19/20) ^a |
| | Leve | 2,5% (1/40) ^a | 5% (1/20) ^a |
| Infiltrado inflamatório mononuclear | Ausente | 90% (36/40) ^a | 90% (18/20) ^a |
| | Leve | 10% (4/40) ^a | 10% (2/20) ^a |

^{a,b}diferença estatística entre as porcentagens das colunas, pelo teste Z com correção de Bonferroni (p<0,05).



Figura 1

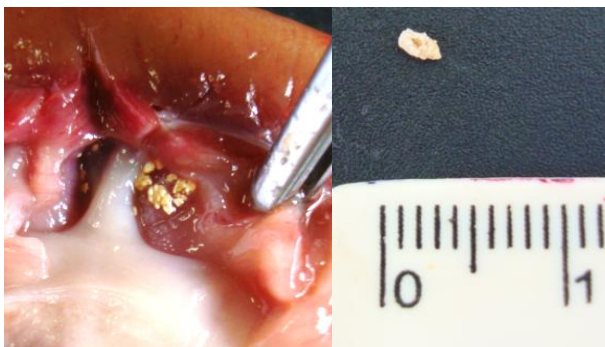


Figura 2



Figura 3

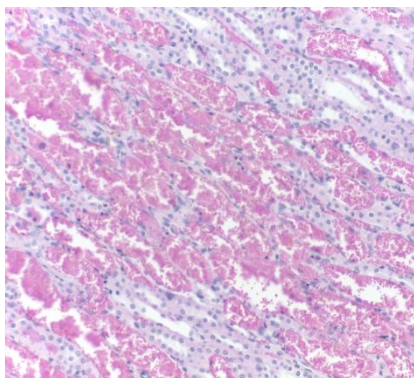


Figura 4

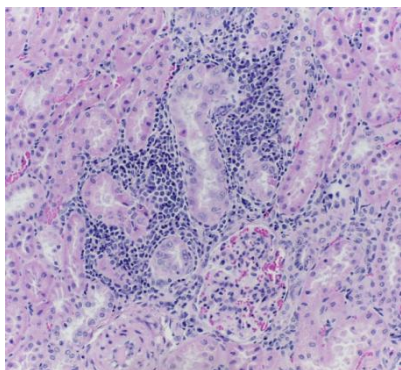


Figura 5

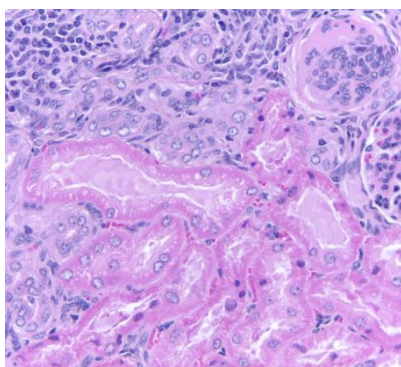


Figura 6

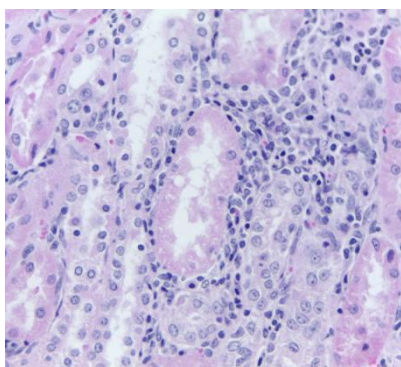


Figura 7

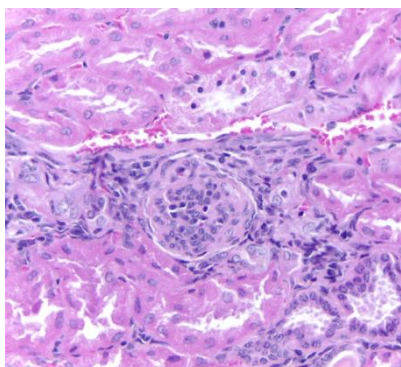


Figura 8

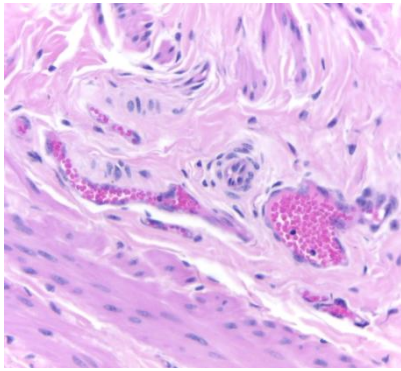


Figura 9

ANEXOS

Anexo 1: Análises bromatológica e de minerais da ração total

Análise bromatológica da amostra de ração total utilizada no experimento (realizada pelo Laboratório de Bromatologia – Departamento de Nutrição e Melhoramento Animal FMVZ/UNESP-Botucatu). Resultados expressos em 100% de matéria seca.

| Variável | % MS | % PB | % EE | % MINERAIS | FB | FDN | FDA |
|-------------------|-------|-------|------|------------|------|------|-------|
| Resultados | 87,71 | 20,34 | 2,37 | 4,41 | 6,12 | 7,18 | 19,49 |

MS- Matéria seca; PB – Proteína bruta; EE – Extrato etéreo; FB – Fibra bruta; FDN – fibra em detergente neutro; FDA – fibra em detergente ácido.

Análise dos minerais da amostra de ração total utilizada no experimento (realizada pelo Instituto Campineiro de Análise de Solo e Adubo – Campinas-SP). Resultados expressos em matéria seca (ppm).

| Minerais | P | Ca | Mg | S | Fe | Mn | Cu | Zn | Na | B | Mo |
|-------------------|------|------|------|------|-----|----|----|-----|------|-----|----|
| Resultados | 5515 | 4130 | 1710 | 2485 | 535 | 65 | 30 | 195 | 4975 | 155 | 10 |

P- fósforo, Ca- cálcio, Mg- magnésio, S- enxofre, Fe- ferro, Mn- manganês, Cu- cobre, Zn- zinco, Na- sódio, B-bário, Mo- molibdênio.

Anexo 2: Níveis de garantia da composição do sal mineral fornecido aos animais dos dois grupos (GI e GII) durante o período experimental (Ovinofós com Monensina®, Tortuga Companhia Zootécnica Agrária, Mairinque-SP, Brasil), segundo informações do fabricante.

| Constituintes | Valores (ppm) |
|----------------------|----------------------|
| Cálcio | 120.000 |
| Fósforo | 87.000 |
| Enxofre | 18.000 |
| Ferro | 1.800 |
| Manganês | 1.300 |
| Cobre | 590 |
| Zinco | 3.800 |
| Sódio | 147.000 |
| Molibdênio | 300 |
| Flúor | 870 |
| Selênio | 15 |
| Cromo | 20 |
| Iodo | 80 |
| Cobalto | 40 |
| Monensina | 1.300 |

Anexo 3: Bioquímica sérica – Creatinina (mg/dL) nos momentos M0 a M6.

| GRUPO I | | | | | | | |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| ANIMAL | M0 | M1 | M2 | M3 | M4 | M5 | M6 |
| 01 | 0,60 | 0,46 | 0,90 | 0,89 | 0,80 | 0,78 | 0,85 |
| 02 | 0,81 | 0,63 | 0,64 | 0,88 | 1,09 | 0,78 | 0,71 |
| 03 | 1,30 | 0,57 | 0,49 | 0,78 | 0,59 | 0,88 | 0,69 |
| 04 | 1,21 | 1,21 | 0,48 | 0,85 | 0,64 | 0,67 | 0,73 |
| 05 | 0,57 | 0,81 | 0,86 | 1,00 | 0,75 | 0,77 | 0,73 |
| 06 | 0,96 | 0,78 | 0,66 | 0,87 | 1,32 | 0,84 | 0,83 |
| 07 | 0,61 | 1,12 | 0,54 | 0,82 | 0,53 | 0,58 | 0,81 |
| 08 | 0,95 | 1,28 | 0,84 | 0,98 | 1,10 | 0,84 | 0,72 |
| 09 | 0,80 | 1,31 | 0,66 | 0,75 | 0,70 | 0,80 | 0,82 |
| 10 | 1,20 | 1,18 | 0,95 | 0,83 | 1,08 | 1,06 | 0,86 |
| 11 | 1,53 | 1,79 | 0,83 | 0,89 | 1,05 | 1,18 | 2,95 |
| 12 | 0,91 | 1,39 | 0,37 | 0,67 | 0,86 | 0,66 | 0,58 |
| 13 | 1,03 | 1,05 | 0,69 | 0,86 | 0,67 | 0,66 | 0,83 |
| 14 | 1,09 | 1,14 | 0,80 | 0,79 | 0,84 | 0,91 | 0,68 |
| 15 | 1,36 | 1,40 | 0,89 | 0,91 | 0,92 | 0,94 | 0,76 |
| 16 | 1,60 | 1,05 | 0,68 | 0,86 | 0,83 | 0,75 | 0,73 |
| 17 | 1,28 | 1,28 | 0,81 | 0,99 | 0,99 | 0,78 | 0,82 |
| 18 | 1,45 | 0,81 | 0,77 | 1,01 | 0,96 | 1,20 | 0,96 |
| 19 | 0,95 | 1,36 | 0,55 | 0,87 | 0,83 | 0,89 | 0,84 |
| 20 | 1,41 | 1,24 | 0,60 | 0,81 | 0,79 | 0,79 | 0,80 |
| 21 | 1,88 | 1,25 | 0,84 | 0,73 | 0,72 | 0,67 | 0,94 |
| 22 | 0,60 | 1,74 | 0,73 | 0,72 | 0,47 | 0,55 | 0,85 |
| 23 | 0,95 | 1,37 | 2,10 | 0,74 | 0,59 | 0,58 | 0,58 |
| 24 | 0,94 | 0,95 | 1,22 | 0,95 | 0,71 | 0,88 | 0,83 |
| 25 | 1,05 | 1,45 | 0,87 | 0,84 | 0,64 | 0,77 | 0,73 |
| 26 | 1,18 | 0,95 | 1,00 | 1,08 | 0,74 | 1,03 | 0,86 |
| 27 | 1,78 | 1,41 | 0,78 | 0,74 | 0,50 | 0,79 | 0,58 |
| 28 | 0,87 | 1,88 | 0,90 | 0,62 | 0,59 | 0,82 | 0,66 |
| 29 | 0,75 | 0,60 | 1,05 | 0,76 | 0,58 | 0,74 | 0,74 |
| 30 | 0,81 | 0,95 | 0,91 | 0,90 | 0,79 | 0,81 | 0,66 |
| 31 | 2,03 | 0,64 | 0,99 | 6,58 | 0,57 | 0,66 | 0,78 |
| 32 | 1,25 | 0,89 | 1,12 | 0,79 | 0,62 | 0,55 | 0,66 |
| 33 | 1,74 | 1,72 | 1,07 | 0,95 | 0,87 | 0,61 | 0,68 |
| 34 | 1,37 | 0,75 | 1,00 | 0,70 | 0,81 | 0,66 | 0,64 |
| 35 | 0,65 | 0,81 | 0,81 | 0,78 | 0,60 | 0,39 | 0,79 |
| 36 | 0,62 | 1,78 | 0,72 | 0,65 | 0,64 | 0,72 | 0,63 |
| 37 | 0,64 | 1,37 | 0,83 | 0,69 | 0,42 | 0,62 | 0,63 |
| 38 | 0,89 | 0,65 | 0,99 | 0,74 | 0,77 | 0,76 | 0,68 |
| 39 | 1,72 | 0,62 | 1,22 | 0,67 | 0,63 | 0,58 | 0,60 |
| 40 | 0,73 | 0,89 | 0,97 | 0,57 | 0,55 | 0,50 | 0,68 |
| GRUPO II | | | | | | | |
| 41 | 0,82 | 0,94 | 0,60 | 0,70 | 0,77 | 0,82 | 0,63 |
| 42 | 0,87 | 0,60 | 0,62 | 0,70 | 0,63 | 0,61 | 0,87 |
| 43 | 1,04 | 0,93 | 0,76 | 0,78 | 0,79 | 1,17 | 0,74 |
| 44 | 1,30 | 1,36 | 0,65 | 0,67 | 0,76 | 0,81 | 0,74 |
| 45 | 1,01 | 1,15 | 0,89 | 0,72 | 0,73 | 0,85 | 0,77 |
| 46 | 0,86 | 0,92 | 0,71 | 0,68 | 0,52 | 0,82 | 0,64 |
| 47 | 1,05 | 0,80 | 0,60 | 0,75 | 0,45 | 0,80 | 0,56 |
| 48 | 0,90 | 1,06 | 0,98 | 0,77 | 0,77 | 0,93 | 0,83 |
| 49 | 1,15 | 0,94 | 0,81 | 0,84 | 0,81 | 0,86 | 0,84 |
| 50 | 0,90 | 0,84 | 0,72 | 0,87 | 0,77 | 0,85 | 0,87 |
| 51 | 0,69 | 0,73 | 0,67 | 0,68 | 0,60 | 0,60 | 0,49 |
| 52 | 3,10 | 0,72 | 0,77 | 0,85 | 0,67 | 0,66 | 0,59 |
| 53 | 0,81 | 0,35 | 0,70 | 0,68 | 0,55 | 0,62 | 0,63 |
| 54 | 0,73 | 1,28 | 0,77 | 0,64 | 0,67 | 0,84 | 0,68 |
| 55 | 0,72 | 0,83 | 0,63 | 0,56 | 0,60 | 0,64 | 0,58 |
| 56 | 0,35 | 0,73 | 0,78 | 0,86 | 0,84 | 0,92 | 1,57 |
| 57 | 1,28 | 0,86 | 0,70 | 0,73 | 0,82 | 0,86 | 0,72 |
| 58 | 0,83 | 1,05 | 0,76 | 0,72 | 0,79 | 0,61 | 0,59 |
| 59 | 0,73 | 0,55 | 0,89 | 0,81 | 0,70 | 0,25 | 0,76 |
| 60 | 0,53 | 0,67 | 0,63 | 0,54 | 0,49 | 0,52 | 0,48 |

Anexo 4: Bioquímica sérica – Ureia (mg/dL) nos momentos M0 a M6.

| GRUPO I | | | | | | | |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| ANIMAL | M0 | M1 | M2 | M3 | M4 | M5 | M6 |
| 01 | 27,3 | 50,3 | 44,8 | 48,2 | 37,2 | 37,2 | 60,7 |
| 02 | 55,6 | 39,1 | 42,0 | 45,3 | 43,7 | 27,2 | 51,3 |
| 03 | 28,4 | 26,5 | 33,0 | 54,5 | 33,8 | 24,6 | 73,9 |
| 04 | 48,8 | 29,6 | 69,9 | 80,0 | 46,8 | 41,5 | 82,2 |
| 05 | 22,7 | 26,3 | 44,2 | 49,6 | 34,7 | 30,8 | 46,6 |
| 06 | 60,1 | 32,6 | 33,6 | 55,1 | 77,8 | 32,5 | 50,3 |
| 07 | 40,1 | 28,6 | 58,2 | 58,2 | 51,0 | 29,5 | 53,9 |
| 08 | 42,7 | 60,5 | 62,6 | 53,8 | 45,3 | 35,8 | 47,6 |
| 09 | 31,9 | 31,8 | 97,4 | 61,3 | 67,1 | 61,3 | 53,2 |
| 10 | 52,7 | 34,4 | 56,0 | 42,9 | 40,9 | 29,3 | 60,0 |
| 11 | 40,8 | 28,6 | 99,5 | 42,2 | 53,7 | 33,4 | 171,9 |
| 12 | 41,1 | 30,0 | 65,3 | 40,8 | 35,2 | 22,1 | 33,6 |
| 13 | 30,4 | 33,7 | 55,1 | 43,2 | 44,9 | 31,2 | 47,5 |
| 14 | 66,2 | 36,2 | 43,5 | 52,7 | 33,6 | 33,8 | 49,4 |
| 15 | 57,8 | 42,6 | 49,4 | 64,5 | 61,1 | 43,5 | 63,3 |
| 16 | 38,9 | 53,5 | 49,4 | 44,9 | 37,4 | 30,5 | 50,3 |
| 17 | 27,3 | 35,4 | 43,7 | 60,1 | 72,0 | 47,1 | 55,3 |
| 18 | 79,2 | 49,4 | 51,7 | 65,5 | 36,8 | 32,1 | 65,2 |
| 19 | 47,5 | 39,9 | 60,9 | 73,9 | 34,4 | 45,8 | 42,1 |
| 20 | 53,7 | 45,3 | 54,0 | 48,7 | 38,5 | 26,6 | 46,8 |
| 21 | 76,9 | 66,2 | 42,5 | 36,7 | 71,4 | 78,7 | 38,7 |
| 22 | 29,6 | 57,8 | 50,5 | 23,2 | 45,3 | 60,3 | 37,6 |
| 23 | 79,5 | 38,9 | 85,9 | 20,5 | 47,9 | 58,3 | 37,9 |
| 24 | 47,8 | 27,3 | 52,1 | 21,6 | 58,9 | 66,8 | 46,7 |
| 25 | 24,0 | 79,2 | 46,4 | 18,3 | 64,2 | 67,6 | 41,6 |
| 26 | 62,3 | 47,5 | 56,2 | 41,4 | 66,7 | 43,2 | 19,6 |
| 27 | 45,7 | 36,7 | 33,4 | 29,1 | 53,8 | 62,0 | 36,4 |
| 28 | 39,2 | 82,6 | 68,0 | 50,4 | 97,2 | 57,1 | 45,5 |
| 29 | 24,9 | 64,2 | 50,9 | 49,4 | 45,3 | 35,4 | 39,6 |
| 30 | 25,2 | 59,4 | 58,6 | 36,1 | 70,8 | 91,5 | 51,1 |
| 31 | 122,8 | 20,1 | 89,3 | 38,2 | 61,8 | 37,6 | 45,6 |
| 32 | 36,7 | 7,5 | 67,5 | 43,2 | 62,0 | 55,4 | 51,6 |
| 33 | 82,6 | 82,6 | 73,5 | 41,5 | 53,3 | 66,2 | 40,3 |
| 34 | 64,2 | 64,2 | 85,4 | 25,9 | 75,4 | 57,8 | 55,5 |
| 35 | 59,4 | 36,7 | 67,1 | 50,8 | 63,6 | 52,0 | 66,9 |
| 36 | 20,1 | 82,6 | 54,6 | 14,6 | 60,2 | 81,4 | 58,4 |
| 37 | 72,5 | 64,2 | 78,5 | 30,6 | 57,2 | 49,6 | 46,9 |
| 38 | 39,5 | 59,4 | 61,5 | 44,1 | 59,8 | 37,4 | 43,2 |
| 39 | 114,6 | 20,1 | 76,7 | 80,1 | 98,9 | 34,3 | 22,9 |
| 40 | 38,1 | 77,3 | 71,1 | 38,0 | 79,9 | 60,0 | 23,1 |
| GRUPO II | | | | | | | |
| 41 | 41,2 | 37,0 | 44,4 | 105,2 | 41,5 | 41,2 | 46,5 |
| 42 | 14,9 | 50,7 | 56,6 | 59,8 | 37,5 | 25,9 | 36,2 |
| 43 | 27,8 | 26,9 | 24,9 | 93,5 | 99,6 | 49,7 | 60,0 |
| 44 | 40,9 | 30,7 | 22,5 | 77,3 | 72,9 | 26,2 | 43,2 |
| 45 | 76,6 | 57,0 | 53,0 | 89,5 | 77,8 | 30,8 | 75,4 |
| 46 | 31,3 | 38,9 | 35,1 | 67,9 | 71,6 | 56,0 | 52,4 |
| 47 | 71,9 | 62,8 | 44,7 | 66,8 | 50,2 | 26,9 | 49,7 |
| 48 | 45,2 | 38,2 | 30,1 | 57,6 | 55,8 | 34,7 | 58,0 |
| 49 | 58,3 | 45,7 | 57,7 | 107,0 | 76,5 | 42,1 | 54,2 |
| 50 | 84,7 | 45,6 | 54,1 | 95,2 | 79,4 | 40,6 | 40,9 |
| 51 | 48,8 | 31,3 | 60,3 | 35,9 | 48,6 | 38,6 | 12,3 |
| 52 | 179,7 | 71,9 | 29,3 | 32,0 | 55,4 | 72,3 | 45,6 |
| 53 | 29,0 | 45,2 | 45,9 | 29,0 | 42,4 | 44,9 | 32,1 |
| 54 | 10,9 | 58,3 | 45,5 | 49,2 | 60,3 | 105,3 | 43,3 |
| 55 | 6,5 | 35,1 | 48,4 | 48,1 | 102,5 | 50,9 | 70,8 |
| 56 | 70,9 | 44,7 | 26,9 | 65,6 | 66,0 | 64,0 | 128,9 |
| 57 | 34,3 | 30,1 | 65,5 | 72,3 | 75,6 | 72,1 | 72,4 |
| 58 | 33,4 | 57,7 | 56,1 | 31,5 | 78,3 | 86,4 | 98,2 |
| 59 | 55,2 | 59,6 | 54,8 | 21,3 | 63,8 | 48,2 | 40,4 |
| 60 | 47,8 | 44,1 | 36,5 | 30,4 | 83,4 | 73,2 | 36,9 |

Anexo 5: Leitura das lâminas histopatológicas dos rins.

| Animal | Congestão vascular | Dilatação tubular | Degeneração tubular | Necrose tubular | PMN | MN | Protéina na luz tubular | Sinéquias glomerulares | Fibrose |
|-----------------|--------------------|-------------------|---------------------|-----------------|-----|----|-------------------------|------------------------|---------|
| GRUPO I | | | | | | | | | |
| 01 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 02 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 03 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 04 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 05 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 06 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 07 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 08 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 09 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 11 | 0 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 12 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 13 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 14 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 15 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 16 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 17 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 18 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 19 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 21 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 22 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 23 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 25 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| 26 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 27 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 28 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 29 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 30 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| 31 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 32 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| 33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 34 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 35 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| 36 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 37 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 1 | 0 | 1 |
| 38 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 39 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 40 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| GRUPO II | | | | | | | | | |
| 41 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 42 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 43 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 44 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 45 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 46 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 47 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 48 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 49 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 50 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 51 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 52 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 53 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 54 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 55 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 56 | 2 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 57 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 58 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 59 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| 60 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Legenda: 0 (ausente); 1 (leve); 2 (moderado); 3 (grave)

Anexo 6: Leitura das lâminas histopatológicas da bexiga.

| Animal | Congestão vascular | PMN | MN |
|-----------------|--------------------|-----|----|
| GRUPO I | | | |
| 01 | 0 | 0 | 0 |
| 02 | 0 | 0 | 0 |
| 03 | 0 | 0 | 0 |
| 04 | 0 | 0 | 0 |
| 05 | 0 | 0 | 0 |
| 06 | 0 | 0 | 0 |
| 07 | 0 | 0 | 0 |
| 08 | 0 | 0 | 0 |
| 09 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 0 | 0 | 0 |
| 11 | 0 | 0 | 0 |
| 12 | 0 | 0 | 0 |
| 13 | 0 | 0 | 0 |
| 14 | 0 | 0 | 0 |
| 15 | 0 | 0 | 0 |
| 16 | 0 | 0 | 0 |
| 17 | 0 | 0 | 0 |
| 18 | 0 | 0 | 0 |
| 19 | 0 | 1 | 0 |
| 20 | 0 | 0 | 0 |
| 21 | 0 | 0 | 0 |
| 22 | 0 | 0 | 1 |
| 23 | 0 | 0 | 0 |
| 24 | 0 | 0 | 0 |
| 25 | 0 | 0 | 1 |
| 26 | 0 | 0 | 0 |
| 27 | 0 | 0 | 0 |
| 28 | 0 | 0 | 0 |
| 29 | 0 | 0 | 0 |
| 30 | 0 | 0 | 1 |
| 31 | 0 | 0 | 0 |
| 32 | 0 | 0 | 0 |
| 33 | 0 | 0 | 0 |
| 34 | 0 | 0 | 0 |
| 35 | 0 | 0 | 0 |
| 36 | 0 | 0 | 0 |
| 37 | 0 | 0 | 0 |
| 38 | 0 | 0 | 1 |
| 39 | 0 | 0 | 0 |
| 40 | 0 | 0 | 0 |
| GRUPO II | | | |
| 41 | 0 | 0 | 0 |
| 42 | 0 | 1 | 0 |
| 43 | 0 | 0 | 0 |
| 44 | 0 | 0 | 0 |
| 45 | 0 | 0 | 0 |
| 46 | 0 | 0 | 0 |
| 47 | 0 | 0 | 0 |
| 48 | 0 | 0 | 0 |
| 49 | 0 | 0 | 0 |
| 50 | 0 | 0 | 0 |
| 51 | 0 | 0 | 0 |
| 52 | 0 | 0 | 1 |
| 53 | 0 | 0 | 0 |
| 54 | 0 | 0 | 0 |
| 55 | 0 | 0 | 0 |
| 56 | 0 | 0 | 0 |
| 57 | 0 | 0 | 0 |
| 58 | 0 | 0 | 0 |
| 59 | 0 | 0 | 1 |
| 60 | 0 | 0 | 0 |

Legenda: 0 (ausente); 1 (leve); 2 (moderado); 3 (grave).