UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA DE ARAÇATUBA DEPARTAMENTO DE CLÍNICA, CIRURGIA E REPRODUÇÃO ANIMAL

UTILIZAÇÃO DO CLORETO DE AMÔNIO NA PREVENÇÃO DE UROLITÍASE EM OVINOS

Fábio Castilho Navarro Médico

ARAÇATUBA-SP 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA DE ARAÇATUBA DEPARTAMENTO DE CLÍNICA, CIRURGIA E REPRODUÇÃO ANIMAL

UTILIZAÇÃO DO CLORETO DE AMÔNIO NA PREVENÇÃO DE UROLITÍASE EM OVINOS

Fábio Castilho Navarro

Orientador: Prof. Adj. Dr. Luiz Cláudio Nogueira Mendes

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – Unesp, Campus de Araçatuba, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal).

ARAÇATUBA-SP 2016

Catalogação na Publicação(CIP) Serviço de Biblioteca e Documentação – FMVA/UNESP

Navarro, Fábio Castilho

N228u Utilização do cloreto de amônio na prevenção de urolitíase em ovinos /

Fábio Castilho Navarro.

Araçatuba: [s.n], 2016.

70f. il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade

de Medicina Veterinária, 2016

Orientador: Prof. Adj. Dr. Luiz Cláudio Nogueira Mendes

1. Ovinos. 2. Litíase. 3. Urinálise. 4. Gasometria. 5.

Ultrassonografia I. T.

CDD 636.3082



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO:	UTILIZAÇÃO DO CLORETO DE AMÓNIO NA PREVENÇÃO DE UROLITIASE EM
	OVINOS
	FABIO CASTILHO NAVARRO NDOR: LUIZ CLAUDIO NOGUEIRA MENDES
	provado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIA ANIMAL opatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:
	UIZ CLAUDIO A OGUEIRA MENDES ento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba -
	Herz MARIA WEHRLE GOMIDE n Medicina Veterinária pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal - Unesp
	ERNANDO CHRISTIANO GABRIEL MORELLI Medicina Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias de Andradina - FEA
Araçatuba	a, 12 de dezembro de 2016.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

FÁBIO CASTILHO NAVARRO – São Paulo – SP, 15 de maio de 1976. Graduação em Medicina pela Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) em 2000. Residência Médica em Cirurgia Geral e do Trauma pelo Hospital Heliópolis – SP (2001-2003). Residência Médica em Urologia e Uro-oncologia pelo Hospital Amaral Carvalho - Jaú – SP (2003-2006). Pósgraduação lato-senso em Reprodução Humana Assistida pela Faculdade de Medicina de Jundiaí – Instituto Sapientiae (2011). Desde 2013 é aluno do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária – UNESP, Campus de Araçatuba, São Paulo.

"Conheço muitos que não puderam quando deviam, porque não quiseram quando podiam." (François Rabelais)

AGRADECIMENTOS / DEDICATÓRIA

Agradeço a Deus, pela oportunidade de poder executar esse trabalho e engradecer cada vez mais a minha vida.

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

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

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

Às minhas irmãs Mayra e Aline, pelo apoio durante todo o trabalho, que elas continuem ajudando ao próximo de forma inequívoca.

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

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

Aos Drs. José Eduardo de Oliveira Zanon, Fernanda Bovino, Rafaela Speranza Baptista, Mariana A. S.Jeronymo Pereira, Joao Pedro Borges Barbosa, Marcela Da Coll de Camargo, Matheus de Oliveira Souza Castro,

Mariana M. B. Rossetti e a todos que, direta ou indiretamente, fizeram parte desta história, contribuindo com seu esforço para realização deste trabalho.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Médias (<i>m</i>), desvios-padrão (<i>s</i>) e medianas (<i>md</i>) da frequência cardíaca (bpm) de ovinos nos diferentes momentos de colheita nos três grupos experimentais (GC, G200 e G500)
Tabela 2 - Médias (m), desvios-padrão (s) e medianas (md) da frequência respiratória (mpm) de ovinos nos diferentes momentos de colheita nos grupos experimentais (GC, G200 e G500)
Tabela 3 - Médias (m), desvios-padrão (s) e medianas (md) da frequência dos movimentos rumenais (MR) em 5 minutos de ovinos nos diferentes momentos de colheita nos grupos experimentais (GC, G200 e G500)
Tabela 4 - Médias (m), desvios-padrão (s) e medianas (md) da temperatura retal de ovinos nos diferentes momentos de colheita nos grupos experimentais (GC, G200 e G500)
Tabela 5 - Médias (m), desvios-padrão (s) e medianas (md) do peso (Kg) de ovinos nos diferentes momentos (M) de colheita dos três grupos experimentais (GC, G200 e G500)
Tabela 6 - Médias (m), desvios-padrão (s) e medianas (md) do pH do líquido ruminal de ovinos coletados no M9 nos grupos experimentais (GC, G200 e G500) de todos os animais
Tabela 7 - Médias (m), desvios-padrão (s) e medianas (md) da densidade urinária de ovinos durante os momentos (M) nos grupos experimentais (GC, G200 e G500)

Tabela 8 - Médias (<i>m</i>), desvios-padrão (<i>s</i>) e medianas (<i>md</i>) do pH urinário o	le
ovinos nos diferentes momentos (M) de colheita nos grupo experimentais (GC, G200 e G500)	
Tabela 9 - Mensuração da proteína (mg/dl) das amostras de urina dos ovinos no grupos experimentais (GC, G200 e G500) nos diferentes momentos o colheita (M)	de
Tabela 10 - Contagem de células epiteliais das amostras de urina dos ovinos no grupos experimentais (GC, G200 e G500) nos diferentes momentos o	os
colheita (M)4	
Tabela 11 - Contagem de leucócitos das amostras de urina dos ovinos nos grupo experimentais (GC, G200 e G500) nos diferentes momentos de colheita (M)	de
Tabela 12 - Contagem de cilindros das amostras de urina dos ovinos nos grupo experimentais (GC, G200 e G500) nos diferentes momentos o colheita (M)	de
Tabela 13 - Contagem de cristais das amostras de urina dos ovinos nos grupo experimentais (GC, G200 e G500) nos diferentes momentos de colheita (M)	de
Tabela 14 - Contagem de hemácias das amostras de urina dos ovinos nos grupo experimentais (GC, G200 e G500) nos diferentes momentos de colheita (M)	de
Tabela 15 - Contagem de bactérias das amostras de urina dos ovinos nos grupo experimentais (GC, G200 e G500) nos diferentes momentos do colheita (M)	de

Tabela 16 - Médias(<i>m</i>), desvios-padrão(<i>s</i>) e medianas(<i>md</i>) do pH do sangue venoso de ovinos nos diferentes momentos de colheita nos grupos
experimentais (GC, G200 e G500) 44
Tabela 17 - Médias (m), desvios-padrão (s) e medianas (md) do PCO ₂ (mmHg
de ovinos nos diferentes momentos de colheita nos grupos experimentais (GC, G200 e G500)
Tabela 18 - Médias (m), desvios-padrão (s) e medianas (md) do HCO ₃ ⁻ (nmol/l
de ovinos nos diferentes momentos de colheita nos grupos
experimentais (GC, G200 e G500)45
Tabela 19 - Médias (m), desvios-padrão (s) e medianas (md) do TCO ₂ (mmol/l
de ovinos nos diferentes momentos de colheita nos grupos
experimentais (GC, G200 e G500)46
Tabela 20 - Médias (m), desvios-padrão (s) e medianas (md) do EB (mmol/l) de
ovinos nos diferentes momentos de colheita nos grupos
experimentais (GC, G200 e G500)46
Tabela 21 - Médias (m), desvios-padrão (s) e medianas (md) da ureia (mg/dl) de
ovinos nos diferentes momentos de colheita nos grupos
experimentais (GC, G200 e G500) 47
Tabela 22 - Médias (m), desvios-padrão (s) e medianas (md) da creatinina (mg/dl
de ovinos nos diferentes momentos de colheita nos grupos
experimentais (GC, G200 e G500)

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	1- Ganl	no médio d	le peso d	iário (g)	ao longo do	os momen	tos (Sem	anas)
	em	ovinos	nos	GC,	G200,	G500	e i	média
	geral							35
FIGURA	2- Varia	ação do tip	oo de cris	stais urii	nários ao lo	ongo dos i	momento	s (M)
	no GC,	G200 e G	500 (Leg	gendas:	AU – ácido	úrico, E -	- Estruvit	a, FA
	Fosfa	to Amorfo	, OL – O	xalato) .				42
FIGURA	3- Be	xigas de	ovinos	sem a	alterações,	demonst	rando s	ecção
	longitud	linal e trar	nsversa, d	com limi	tes dentro	da faixa de	e normali	dade,
	incluind	lo a pare	ede vesi	cal. Ima	agens obti	idas no	momento	M4.
	Frequê	ncia 5MHz	<u>,</u>					49
FIGURA	4- Imag	ens do rins	s direitos	de ovin	os demons	trando me	didas nor	mais,
	incluind	lo a medic	la da pel	ve renal	, sem sinai	s de dilata	ıção ou li	tíase,
	em do	is cortes	(transve	rsal e	longitudina	l) Imager	ns obtida	as no
	Momen	to 5 (N	15), con	n trans	dutor cor	nvexo. F	requência	a de
	5MHz							50
FIGURA	5 - Med	dida do c	omprime	nto do I	rim esquer	do de um	ovino, o	dentro
	dos lim	ites da no	ormalidad	de, sem	dilatação	piélica, de	monstra	ndo a
	presen	ça do baç	o acima	, sem a	anormalida	des. Imag	em obtid	da no
	momen	to M7. Fre	quência	5MHz				50
FIGURA	6 - Med	dida do co	omprimer	nto do r	im direito	de um ovi	ino, denti	o dos
	limites	da norma	lidade, s	em dilat	ação piélic	a, demon	strando r	egião
	cortical	(seta mai	or) e a r	egião m	edular (set	a menor)	bem evid	dente,
	sem an	ormalidade	es. Image	em obtid	a no M6. Fr	equência (5MHz	51

FIGURA	7- Ovino com 6 meses demonstrando fimose (seta maior) e processo
	uretral (seta menor) bem evidente, local de maior obstrução por litíase,
	sem alterações. Achados de necropsia
FIGURA	8 - Demonstrando a flexura sigmoide (Seta maior) e o colo vesical (seta
	menor), respectivamente 2º. e 3º. locais mais frequentes de obstrução
	urinária por calculose, estando dentro da normalidade 52
FIGURA	9- Rim direito de um ovino demonstrando a cortical (seta maior),
	medular (seta menor) e a pelve renal (imagem a direita) sem
	alterações52

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS.

RESUMO

SUMMARY

1	INTRODUÇÃO	20
2	REVISÃO DE LITERATURA	21
	2.1 Urolitíase	21
	2.2 Urinálise	24
	2.3 Hemogasometria	26
	2.4 Ultrassonografia do sistema urinário	27
3	OBJETIVOS	27
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	27
	4.1 Animais e ambiente de experimentação	27
	4.2 Grupos experimentais	29
	4.3 Colheita das amostras	30
	4.3.1 Urinálise	. 30
	4.3.2 Hemogasometria	. 30
	4.3.3 Bioquímica sérica	. 30
	4.3.4 Líquido Ruminal	. 31
	4.4 Exame Ultrassonográfico	31

	4.5. Necropsia dos animais	31
	4.6 Análise estatística	31
	4.7 Aspectos éticos	32
	5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
	5.1 Exame Físico	35
	5.2 Urinálise	37
	5.3 Hemogasometria	44
	5.4 Exames bioquímicos (ureia e creatinina)	47
	5.5 Ultrassonografia dos rins e bexiga	49
	5.6 Alterações macroscópicas do sistema urinário	51
6	CONCLUSÕES	53
7	REFERÊNCIAS	54
8	ARTIGO CIENTÍFICO	58

LISTA DE ABREVIATURAS

NH4CI = Cloreto de amônio

PV = Peso vivo

Ca = Cálcio

P = Fósforo

DCAD = Diferença cátion-aniônica da dieta

Na = Sódio

H = Hidrogênio

K = Potássio

CI = Cloro

S = Enxofre

GC = Grupo Controle

G200 = Grupo de Estudo submetido ao uso de 200 mg/Kg/dia de Cloreto de Amônio via oral

G500 = Grupo de Estudo submetido ao uso de 500 mg/Kg/dia de Cloreto de Amônio via oral

PB = Proteína Bruta

MS = Matéria seca

M1 = imediatamente antes do início da ingestão de Cloreto de Amônio (14 dias de confinamento);

M2 = 7 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500(21 dias de confinamento);

M3 = 14 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500(28 dias de confinamento);

M4 = 21 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (35 dias de confinamento);

M5 = 28 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (42 dias de confinamento);

M6 = 35 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500(49 dias de confinamento);

- M7 = 42 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (56 dias de confinamento);
- M8 = 49 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (63 dias de confinamento);
- M9 = 56 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500(70 dias de confinamento) e fim do confinamento.

UTILIZAÇÃO DO CLORETO DE AMÔNIO NA PREVENÇÃO DE UROLITÍASE EM OVINOS

RESUMO

A urolitíase apresenta alta incidência em ovinos confinados, etiologia multifatorial e pode causar prejuízo econômico. O objetivo com o presente estudo foi determinar a capacidade da acidificação urinária utilizando cloreto de amônio em Foram utilizados 25 ovinos, machos, com idade de três meses, confinados e divididos aleatoriamente em três grupos: Grupo GC (Controle) (n=5) não recebeu Cloreto de Amônio; Grupo G200 (n=10) (200 mg/kg/PV) de Cloreto de Amônio por 56 dias consecutivos; Grupo G500 (n=10) (500 mg/Kg/PV) de Cloreto de Amônio por 56 dias consecutivos, administrados diariamente por via oral. Os Momentos (M) de colheita de amostras e avaliação clínica foram realizados com intervalo de sete dias, sendo M1 (imediatamente antes do Cloreto de Amônio), M2 (sete dias após) até M9, totalizando 70 dias de confinamento. Foram realizados hemogasometria, concentração sérica de ureia e creatinina e avaliação ultrassonográfica do trato urinário. Na urinálise, houve uma maior incidência de cristais de fosfato amônio magnesiano no início do estudo, com migração para formação de cristais de urato, principalmente no G500, devido à acidificação urinária. Não houve alterações hemogasométricas, na bioquímica sérica, no líquido ruminal ou alterações ultrassonográficas. A acidificação urinária foi obtida e mantida a partir do M7 durante a administração do Cloreto de Amônio no grupo G500, não ocorrendo nos outros grupos de estudo.

PALAVRAS-CHAVE: Litíase, Urinálise, Gasometria, Ultrassonografia.

USE OF AMMONIUM CHLORIDE IN THE PREVENTION OF UROLITHIASIS IN SHEEP

SUMMARY

Urolithiasis has high incidence in confined sheep, multifactorial and may cause economic injury. Our aim was to determine the capacity of urinary acidification using ammonium chloride in sheep. Twenty-five male sheep, aged three months, confined and randomly divided into three groups were used: CG Group (n = 5) did not receive Ammonium Chloride; G200 Group (n=10) (200 mg / kg / LW) of Ammonium Chloride for 56 consecutive days; G500 Group (n=10) (500 mg / kg / LW) of Ammonium Chloride for 56 consecutive days, administered daily orally. Sampling times and clinical evaluation were performed at seven days, with M1 (immediately before Ammonium Chloride), M2 (seven days after) until M9, totaling 70 days of feedlot. Hemogasometry, serum urea and creatinine concentration and ultrasound evaluation of the urinary tract were performed. In the urinalysis, there was a higher incidence of ammonium magnesium phosphate crystals at the beginning of the study, presenting a migration to the formation of urate crystals, mainly in the G500 due to urinary acidification. There were no hemogasometric, serum biochemistry, ruminal fluid or ultrasonographic changes. Urinary acidification was obtained and maintained after M7 during the administration of Ammonium Chloride in the G500 group, not occurring in the other study groups.

KeyWords: Lithiasis, Urinalysis, Blood gas analysis, Ultrasonography.

Fábio Castilho Navarro

UTILIZAÇÃO DO CLORETO DE AMÔNIO NA PREVENÇÃO DE UTOLITÍASE EM OVINOS

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Adj. Luiz Cláudio Nogueira Mendes

Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal – FMVA/UNESP Araçatuba-SP.

Profa. Dra. LINA MARIA WEHRLE GOMIDE

Doutora em Medicina Veterinária pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária de Jaboticabal - UNESP

Prof. Dr. FERNANDO CHRISTIANO GABRIEL MORELLI

Curso de Medicina Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias de Andradina - FEA Araçatuba-SP.

Data da Defesa: 12 de Dezembro de 2016.

1 INTRODUÇÃO

A alta incidência de urolitíase obstrutiva em ovinos ocorre principalmente em animais confinados, é multifatorial e tema de diversos estudos, pois provoca prejuízos econômicos, afetando a saúde reprodutiva do animal e até mesmo levando a sua morte (GUIMARÃES et al., 2012). Tais complicações podem levar à necessidade de tratamento cirúrgico, afetando principalmente machos (por motivos anatômicos) e principalmente aqueles submetidos à castração precoce para ganho de peso (VAN METRE; FUBINI, 2006).

Os principais fatores associados a litogênese são: estase urinária, desidratação, baixa ingestão de líquido, pH urinário alcalino, a diminuição de fatores protetores urinários e o aumento da excreção de minerais na urina, principalmente devido ao desbalanço na concentração de componentes calculogênicos na ração, como dietas ricas em proteínas, cálcio, magnésio ou fósforo, ou mesmo a ingestão de plantas ricas em oxalato ou sílica (STEWART et al., 1990). Alguns autores (FERREIRA et al., 2009, 2014) utilizaram o Cloreto de Amônio e a vitamina C (ácido ascórbico) como forma de acidificar a urina, levando a resultados conflitantes e até mesmo induzindo formação de calculose urinária.

O objetivo do trabalho foi identificar a dose necessária de Cloreto de Amônio para promover a acidificação urinária em ovinos, analisado através da urinálise e complementado pela ultrassonografia, análise bioquímica e hemogasométrica, como forma de prevenção da urolitíase em ovinos.

2 REVISÃO DA LITERATURA:

2.1 UROLITÍASE

A urolitíase obstrutiva é doença frequente, sendo influenciada principalmente pelo fator nutricional em diversas espécies, incluindo humanos, apresentando grande interesse econômico (AQUINO NETO et al., 2007). A incidência é elevada em machos, por motivos anatômicos e em animais em confinamento, por elevado teores de cálcio, fósforo e magnésio, levando a um desequilíbrio iônico, já que a urina de ruminantes é alcalina, tornando-a insolúvel, ocorrendo precipitação de cristais de magnésio e cálcio, principalmente onde não há oferta abundante de água (AQUINO NETO et al., 2007). Fatores protetores na formação da urolitíase (como os colóides) apresentam capacidade limitada, ocorrendo precipitação de solutos, agregação de componentes calculogênicos e assim a formação de cálculos urinários (VAN METRE; DIVERS, 2006). A hiperconcentração urinária, quando associada a dietas ricas em concentrados e pobres em volumosos, diminuem a ruminação, levando a excreção aumentada de fósforo na urina e quando associada a estase urinária, leva a formação de compostos insolúveis, com agregação e favorecimento da litogênese (LORETTI et al., 2003). O núcleo formado vai promovendo agregação, precipitação e concreção ao seu redor, aumentando de volume e ocasionando complicações no trato urinário (RADOSTITS et al., 2002).

O pH da urina é extremamente importante na indução ou na proteção da urolítiase. Quando alcalino, pode favorecer a formação de cálculos de carbonato, fosfato amorfo ou fosfato de cálcio (apatita) e fosfato triplo amônio magnesiano (estruvita), sendo estes os mais frequentes, principalmente pela dieta de animais em sistema de manejo intensivo, que são ricas em grãos que contém magnésio e fósforo (RADOSTITS et al., 2002).

Animais de manejo extensivo que se alimentam de plantas ricas em oxalato e sílica podem predispor a formação de cálculos dessas substâncias (STEWART et al., 1991). Esses autores, estudando o uso do Cloreto de Amônio na dieta de ruminantes, observaram que no grupo com suplementação de 1% do

peso vivo (PV) na dieta ou mesmo naquele com suplementação adicional de cálcio, não apresentou urolitíase, concluindo que o Cloreto de Amônio funciona como fator protetor, em conjunto com uma associação adequada de Ca:P na proporção de 2:1. Esses estudos são semelhantes ao de Riet-Correa et al. (2008), que sugeriram oferta abundante e fácil acesso a água, associado a frequente limpeza dos cochos, como forma de favorecer a palatabilidade do Cloreto de Amônio e estimular o consumo pelos animais, além da abolição da administração de sal mineral em animais alimentados com grãos, para que não haja possibilidade de urolitíase obstrutiva. A acidificação urinária com Vitamina C é uma alternativa pouco eficiente, como demonstrada pelos estudo de Ferreira em 2009.

O diagnóstico da urolitíase em ovinos é baseado nos sinais clínicos e complementado com exames laboratoriais (urinálise e bioquímica sérica) e exames de imagem, frequentemente a Ultrassonografia dos rins e vias urinárias (GARCIA-NAVARRO, 2005). A obstrução da via urinária leva a sinais e sintomas decorrentes da injúria traumática do epitélio do trato urinário e da distensão vesical, como anúria, estrangúria, agitação, edema genital, anorexia, balançar da cauda, escoiceamento do abdome, bruxismo, dificuldade de marcha, inquietação e prolapso retal, que podem ser confundidos com desordens gastrointestinais. A hematúria ou a proteinúria podem ser identificadas na urinálise, bem como a multicelularidade decorrente de trauma epitelial, nos casos de obstrução parcial (GARCIA-NAVARRO, 2005; GUIMARÃES et al., 2012). A partir da confirmação do diagnóstico, procede-se ao imediato tratamento no intuito de se evitar as complicações da obstrução, como o desequilíbrio hidroeletrolítico, que pode ser fatal (EWOLDT et al., 2006).

O tratamento da urolitíase depende de diversos fatores, como a quantidade de cálculos, a localização, o grau de obstrução e suas consequências, sendo em geral cirúrgica, através de inúmeras técnicas já descritas (EWOLDT et al., 2008). Os locais mais comuns de obstrução são o apêndice vermiforme e a flexura sigmoide, podendo também ocorrer em locais como o trígono vesical e a junção uretero-piélica (EWOLDT et al., 2006; VAN

METRE et al., 2006), sendo que a cistostomia com sonda vesical é método efetivo no tratamento das complicações da urolitíase (EWOLDT et al., 2008).

O sal mineral contido na dieta deve ser aumentado gradualmente para estimular a ingestão de água e o aumento do volume urinário. Esse deve ser misturado à ração e não ser oferecido de forma livre, de forma a atingir o limite de cerca de 3-5% da matéria seca diária (STRATTON-PHELPS; HOUSE, 2004); de acordo com Riet-Correia et al. (2008), esse limite deve ser de até 4% da MS.

Como alternativa à suplementação do cloreto de sódio, o Cloreto de Amônio pode ser utilizado na quantia de 0,5-1% de matéria seca diária, levando a redução do pH, tornando minerais calculogênicos mais solúveis na urina, através da promoção de uma dieta aniônica (STRATTON-PHELPS; HOUSE, 2004). O Cloreto de Amônio é convertido em ureia e ácido clorídrico no fígado, levando a uma maior liberação de íons H+, podendo provocar acidose metabólica, sendo excretado nos túbulos renais como forma de compensação da acidemia ou ligar-se ao bicarbonato, levando a formação de um ácido instável (ácido carbônico), se dissociando em gás carbônico, que é expelido pela respiração e forma água. O cloreto restante e a ureia provocam acidúria, aumento da ingestão de água e diurese osmótica, sendo eliminado na forma de cloreto de sódio (PUGH, 2002; SMITH, 1994).

Jones et al. (2009) estudaram a diferença cátion-aniônica da dieta (DCAD), concluindo que a dieta sem diferença iônica mostrava-se de melhor utilidade para acidificação urinária. Esse cálculo do DCAD é feito basicamente pela fórmula [(Na + K) – (Cl + S)]. A adição de ânions pode levar à acidose metabólica pelo aumento compensatório de íons H+ no meio extracelular, que é excretado pelos rins para manter homeostase, porém com diminuição do pH urinário, servindo como forma de prevenção à urolitíase (JONES et al., 2009). Esses mesmos autores obtiveram DCAD nulo com suplementação de 0,68% de Cloreto de Amônio/PV da dieta. Apesar da demora para obtenção de pH ácido urinário em comparação a doses maiores, houve manutenção da acidúria sem complicações como a acidose metabólica.

O objetivo é manter o pH da urina entre 6-6,5. Mavangira et al. (2010) obtiveram pH urinário menor de 6,5 em caprinos com dose de 450mg/Kg/PV de

Cloreto de Amônio/dia ou 2,25% da ingestão de MS e observaram maior quantidade de cristais em animais que não receberam Cloreto de Amônio. Foi observada uma maior excreção de cálcio na urina, podendo levar a formação de calculose proveniente desta substância em meio ácido (PUGH, 2002).

Desta forma, o Cloreto de Amônio mostra-se seguro como forma de prevenção de urolitíase em ovinos, principalmente em cálculos de estruvita e apatita, que são os mais frequentes (EWOLDT et al., 2006; MACLEAY et al., 2004; VAN METRE et al., 2006). O feno e a redução na oferta de grãos ricos em fósforo e magnésio podem levar a diminuição na indução de litíase de fosfato (LORETTI et al., 2003). Como forma de prevenção de complicações, deve-se evitar pH urinário menor de 6,0, principalmente a longo prazo, aumentando a chance de cálculos de pH ácido, como oxalato de cálcio (MACLEAY, 2004).

Mavangira et al. (2010) estudando caprinos, testou as doses de 200, 400 e 500 mg/Kg/dia por via oral em 8 animais, não havendo acidose metabólica ou impalatabilidade. Não houve aumento da cristalúria com suplementação de Cloreto de Amônio até o 8º dia de estudo. A dose de 200 mg/Kg/dia não acidificou a urina, a dose de 400 mg/Kg/dia promoveu urina ácida, porém por um período menor que 20 h e a dose maior mostrou-se efetiva por mais de 30 horas, concluindo dessa forma que a dose de 450 mg/Kg/dia por via oral seja a ideal.

2.2 URINÁLISE

A urinálise é um exame que pode demonstrar sinais que sugerem litíase. A coloração da urina, a presença de hemácias, proteínas e a leucocitúria podem ser sinais desta enfermidade (GARCIA-NAVARRO, 2005; RADOSTITS, 2002). A presença de cilindros pode significar lesão tubular decorrente da presença de litíase, podendo alterar o pH e encontrarmos alteração no sedimento decorrente da descamação celular (STOCKHAM; SCOTT, 2008).

A coleta da urina pode ser por punção supra-púbica, cateterização ou micção. Deve-se avaliar volume, cor, odor, aspecto e densidade no exame físico. O volume pode ser alterado de acordo com o grau de hidratação do animal. A coloração em geral é amarelada por conta de pigmentos urinários, porém pode estar alterada por presença de hemácias ou então esverdeada pela presença de

sais biliares. O odor urinário é classificado como *sui generis*, podendo estar alterado em caso de infecção urinária. O aspecto límpido é o mais usual, estando alterado com a presença de cilindros, células de descamação ou mesmos cristais. A densidade urinária é importante como forma de se avaliar a capacidade de concentração renal, podendo estar alterada em casos de insuficiência renal ou uso de medicamentos, como diuréticos, devendo ser avaliada sempre em conjunto com outros fatores (GARCIA-NAVARRO, 2005)

No exame químico são avaliados pH, presença de proteínas, glicose, cetonas, sangue oculto e pigmentos biliares. O pH dos herbívoros é alcalino, podendo estar ácido em caso de infecção urinária, acidose metabólica, respiratória ou administração de Cloreto de Amônio.

As proteínas em geral são repelidas pela sua carga negativa no glomérulo, porém algumas de baixo peso molecular passam em direção aos túbulos renais e são reabsorvidas. Em caso de patologias como a pielonefrite ou a insuficiência renal, há presença de proteínas abundantes na urina (KANEKO et al., 2008).

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

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

Os cilindros podem ser hialinos pela deposição de proteínas nos túbulos renais, leucocitário ou hemáticos. Os hialinos podem estar presentes na urina e não necessariamente significar doenças, porém os outros frequentemente indicam alteração urinária. A cristalúria é a presença de cristais no sedimento urinário e podem ser úteis quando em grande quantidade para suspeição de

litíase urinária. Dependem do pH urinário e da presença de determinados substâncias, como o ácido úrico. (ARAÚJO et al., 2009).

2.3 HEMOGASOMETRIA

Trata-se de um exame necessário para analisar gases sanguíneos e o equilíbrio ácido-básico, podendo ser realizado com sangue venoso ou arterial, em aparelho convencional ou portátil. Após obtenção da amostra, esta deve ser refrigerada (4 a 8°C) e processada em até 6 h para identificação dos distúrbios do equilíbrio ácido-básico (LEAL et al., 2006). São analisados pressão de oxigênio (PO₂), dióxido de carbono (PCO₂), potencial hidrogeniônico (pH), bicarbonato plasmático (HCO-3-, dióxido de carbono total (TCO₂) e excesso de base (EB). Deve-se sempre calibrar o aparelho para temperatura do animal (39-39,5°C) (GARCIA-NAVARRO, 2005).

A correção das alterações do desequilíbrio ácido-básico ocorre por meio do tamponamento químico sérico e correção respiratória, de forma rápida e dos rins, mais lentificada. A acidose lática rumenal pode levar a acidose metabólica, sendo caracterizada pela diminuição do pH e HCO-3 (KANEKO et al., 2008).

Deve-se evitar acidificação urinária excessiva pelo risco de diminuição da ingestão de ração e o risco de acidose metabólica, conforme descrito por Singh et al. (2007), Las et al. (2007) e MacLeay et al. (2004).

DCAD negativa leva a acidificação urinária podendo proporcionar acidose metabólica, levando a prevenção da litíase urinária (MAVANGIRA et al., 2010; STRATTON-PHELPS; HOUSE, 2004); porém deve ser evitada pelo risco de osteoporose, quando por período prolongado.

Jones et al. (2009) adicionaram Cloreto de Amônio para estabelecer DCAD neutra na ração de caprinos e obtiveram urina ácida (pH 6-6,5), sem alteração do pH sanguíneo, servindo também como fator inibidor a formação de litíase. Porém Ferreira et al. (2014) induziram a formação de litíase em ovinos com o uso de Cloreto de Amônio na dose de 400 mg/Kg/dia na ração, mesmo obtendo acidificação urinária. Além disso, foram encontrados casos de acidose metabólica compensada. Portanto, não há consenso sobre o uso do Cloreto de Amônio na prevenção de litíase urinária em ovinos, justificando esse estudo.

2.4 ULTRASSONOGRAFIA DO SISTEMA URINÁRIO

A Ultrassonografia (US) é um método de diagnóstico por imagem com utilização frequente em trato urinário pela sua capacidade de identificação de cálculos, sejam eles radiopacos ou radioluscentes (SCOTT, 2013), bem como das complicações decorrentes desta enfermidade (RADOSTITS et al., 2002). Trata-se de exame não-invasivo, de baixo custo, que complementa o exame físico e a urinálise (WIDMER et al., 2004).

Pode-se avaliar o grau de hidronefrose, lesão vesical, alterações do parênquima renal, bem como extravasamento de urina para o peritônio (SCOTT, 2013). Utiliza-se em geral transdutor setorial de 5MHz, modo B. O transdutor linear é útil para avaliar órgãos mais superficiais, com uso limitado em estruturas profundas, como a mensuração de uma bexiga distendida (SCOTT, 2013).

3 OBJETIVOS

Avaliar o efeito do uso do cloreto de amônio na dose de 200 mg/Kg/PV e 500 mg/Kg/PV na acidificação urinária, como preventivo para urolitíase.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais e ambiente de experimentação

Baseado em modelo desenvolvido por Ferreira et al. (2014), foram utilizados 25 ovinos, machos, das raças Dorper, Santa Inês e Morada Nova, com idade aproximada de três meses, confinados, divididos de forma aleatória em 3 grupos: G200 (n=10) 200 mg/Kg/PV de Cloreto de Amônio/animal/dia; G500 (n=10) 500 mg/Kg/PV de Cloreto de Amônio/animal/dia e GC (n=5) controle, sem adição de Cloreto de Amônio e estudados por um período de 56 dias. Todos os animais foram desverminados¹ e vacinados contra clostridioses². Foram adaptados ao ambiente por 14 dias, em ambiente comum, em condições de umidade, temperatura e luminosidade idênticos, com limpeza diária do local,

¹ Zolvix, Novartis Saúde Animal.

² Glanvac 6, Fort Dodge Saúde Animal, Campinas-SP

sendo o período total de confinamento de 70 dias. A área do local era de 730 m², correspondendo a 29,2 m² por animal.

Nas terças-feiras eram realizadas a pesagem dos animais e do Cloreto de Amônio que seria administrado na semana, bem como o exame físico de todos animais. Nas quartas-feiras eram coletados urina e sangue de todos os animais, com armazenamento em ambiente refrigerado das amostras e entrega imediata no laboratório para análise. Nas quintas-feiras eram realizadas a avaliação ultrassonográfica de todos animais. O Cloreto de Amônio era administrado por via oral diariamente, baseado no peso e no grupo estudado, diluído em cerca de 20 ml de água destilada. Os animais do GC recebiam 20 ml de água destilada somente.

A alimentação consistiu em ração total para ovinos composta de 90,71% de matéria seca, fornecida diariamente pela manhã em 0,5m de cocho/animal. Não foi fornecido sal mineral. A água era fornecida em dois cochos, *ad libitum*, sendo proveniente da empresa SAMAR (Soluções Ambientais de Araçatuba).

A ração foi amostrada conforme orientação da empresa de análise (ARASOLO – www.arasolo.com.br) e submetida a análise bromatológica, sendo caracterizada pelos seguintes níveis em matéria seca (MS): 16,19% de proteína bruta, 3,27% de extrato etéreo, 15,67% de fibra bruta e 5,87% de minerais. Foram realizadas análise dos minerais da ração total utilizada no experimento. As dosagens de cálcio e fósforo foram de 12900 ppm e 2400 ppm de MS, respectivamente, o que resultou proporção Ca:P de 5:1. O consumo médio diário de ração foi de 3% do PV, com média durante todo o período experimental de 1,15kg de ração total por dia por animal.

4.2 Grupos experimentais e protocolo experimental

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

- M1 imediatamente antes do início da ingestão de Cloreto de Amônio
 (14 dias de confinamento);
- M2 7 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500
 (21 dias de confinamento);
- M3 14 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (28 dias de confinamento);
- M4 21 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500
 (35 dias de confinamento);
- M5 28 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (42 dias de confinamento);
- M6 35 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (49 dias de confinamento);
- M7 42 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (56 dias de confinamento);
- M8 49 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (63 dias de confinamento);
- M9 56 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500
 (70 dias de confinamento) e fim do confinamento.

Procedia-se à avaliação clínica [Temperatura Retal (TR), Movimento Ruminal (MR), Frequência Cardíaca (FC) e Frequência Respiratória (FR)], laboratorial (sangue e urina) e ultrassonográfica semanal, sempre no período de 7 a 9h da manhã.

4.3 Colheita de amostras

4.3.1 Urinálise

Foram realizadas com micção natural ou forçada, interrompendo-se a respiração com oclusão das narinas durante 10 a 20 segundos, conforme descrito por Garcia-Navarro (2005). As amostras foram acondicionadas em frascos estéreis, armazenadas em refrigeração de 4-8°C até serem analisadas, logo após a sua coleta.

Foram avaliados volume (mL), cor, odor, aspecto, densidade, pH, proteínas, glicose, acetona, urobilinogênio, sangue oculto e sais biliares através de fita reagente³. A urina (5mL) era centrifugada a 7000 x G por cinco minutos, desprezando o sobrenadante, restando 0,5 mL de urina para análise do sedimento, incluindo identificação de células do trato urinário, hemácias e leucócitos, além de cilindros, cristais, bactérias, espermatozoides e muco, através de microscopia ótica comum, com aumento de 400 vezes.

4.3.2 Hemogasometria

Para o exame hemogasométrico foi colhido 1mL de sangue da veia jugular, em seringa de polietileno previamente heparinizada⁴, acoplada₃a uma agulha 25 x 7mm (sistema de *luer lock*), vedada com borracha, armazenada a 4-8°C e levado imediatamente para avaliação hemogasométrica automática no laboratório, com aparelho calibrado a 39°C⁵. Foram mensurados os valores de PO₂, PCO₂, pH, HCO⁻₃, TCO₂, SO₂ e EB.

4.3.3 Bioquímica sérica

Para o exame bioquímico de ureia e creatinina colheram-se amostras de sangue da veia jugular em tubos sem anticoagulante, com vácuo e gel ativador de coágulo⁶, com agulha 25X7 mm, nos diferentes momentos. As amostras foram centrifugadas⁷ a 2.000 x G por 10 minutos e analisados automaticamente em aparelho para a determinação da concentração de ureia e creatinina.

4.3.4 Líquido Ruminal

Para a colheita do líquido ruminal utilizou-se uma sonda passada por via oral até o rúmen do animal e aspiração do líquido ruminal para análise do pH com peagâmetro portátil, pela manhã, antes da administração do Cloreto de Amônio e comparados os 3 grupos no Momento 9 (M9).

³ Combur Test®, Roche Diagnóstica Brasil Ltda. São Paulo-SP, Brasil.

⁴ Monovette 2ml LH, Sarstedt AG & Co. Gertmany.

⁵ Radiometer ABL 800 Basic, Blood gas analyzer, Radiometer, Denmark.

⁶ Serum gel Z/4.9 ml, Monovette, Sarstedt AG & Co. Germany.

⁷ LABMAX 240, LABTEST Diagnóstica, São Paulo.

4.4 – Exame Ultrassonográfico

Foi utilizado aparelho de ultrassom portátil DP-2200 Vet Mindray, com transdutor convexo e frequência de 5,0 MHz, em maca veterinária, após contenção manual, em decúbito contralateral ao rim avaliado, assumindo posição dorsal quando da avaliação da bexiga e com os membros pélvicos abduzidos (SCOTT, 2013). Caso houvesse suspeita de obstrução uretral, está também seria avaliada. Utilizou-se gel condutor no transdutor para melhor avaliação. As imagens foram gravadas e analisadas no momento e posteriormente de forma rigorosa.

4.5 – Necropsia dos animais

Os animais foram amostrados em cada grupo, em número de três animais e necropsiados após o período de estudo, interessando o trato urinário, nos três grupos estudados.

4.6 Análise Estatística

Os dados da urinálise, hemogasometria, bioquímica sérica e exame físico foram analisados pelo Software Action 2.7(Portal Action – Estaticamp), com nível de significância de 5% (p<0,05).

Seguindo o trabalho de Ferreira et al. (2014), foram utilizados os mesmos testes estatísticos. As variáveis contínuas foram analisadas pelo teste de Kruskal-Wallis para identificar diferenças entre os grupos dentro do mesmo momento de colheita (M) e, quando houvesse diferença estatisticamente significativa, verificada através do teste post-hoc de Dunn. As medianas foram avaliadas pelo teste de Friedman ao longo dos nove momentos.

Foram elas:

- Exame físico: Temperatura Retal (TR), Movimento Ruminal (MR), Frequência Cardíaca (FC) e Frequência Respiratória (FR).
 - Urinálise: volume, densidade e pH;
 - Hemogasometria: PCO₂, pH, HCO₃, TCO₂, EB
 - Bioquímica sérica: ureia, creatinina;

As variáveis categóricas foram avaliadas pelo teste do Qui-quadrado:

- Urinálise: cor, aspecto, proteína, sangue; bactérias, cristais, cilindros, muco, hemácias e leucócitos.

Para os achados ultrassonográficos utilizamos apenas análise descritiva.

4.7 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP de Araçatuba, processo FOA no. 2015-00635–CEUA.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais mantiveram-se durante o experimento sem alterações ao exame físico, excetuando um óbito do G500, no M7, que iniciou com ataxia, redução de motilidade rumenal, apatia e foi submetido a administração de Vitamina B1 e B12, associado a dexametasona, devido a hipótese diagnóstica de poliencefalomalácia, não respondendo à terapia. Foi submetido a necropsia (N313-16) com laudo de pneumonia aguda, enterite subaguda e necrose tubular multifocal discreta a moderada.

5.1 Exame físico

Os resultados foram comparados aos valores normais, conforme proposto por Feitosa (2004) e estão descritos nas Tabelas de 1 a 6. Os animais foram avaliados clinicamente durante todo o experimento, sem alterações em mucosas, linfonodos ou outro parâmetro clínico.

Tabela 1- Médias (*m*), desvios-padrão (*s*) e medianas (*md*) da frequência cardíaca (bpm) de ovinos nos diferentes momentos (M) de colheita dos três grupos experimentais (GC, G200 e G500).

GC (n=5)			G200 (n=10)		G500 (n=10)	
	m ± s	Md	m ± s	Md	m ± s	Md
M1	$126,4 \pm 39,0$	112,0 ^{Aa}	$142,4 \pm 33,7$	134 ^{BCDEa}		
M2	$126,0 \pm 44,6$	147,0 ^{Aa}	$128,7 \pm 20,9$	130 ^{FGHa}	$133,8 \pm 33,9$	138,0 ^{DEa}
М3	$83,2 \pm 9,1$	80,0 ^{Aa}	$81,2 \pm 5,98$	82,0 ^{BFa}	$80,0 \pm 8,4$	80,0 ^{Aa}
M 4	$84,0 \pm 6,3$	84,0 ^{Aa}	$83,6 \pm 4,40$	84,0 ^{CGa}	$83,2 \pm 8,6$	82,0 ^{Aa}
M5	$74,4 \pm 8,7$	80,0 ^{Aa}	$76,0 \pm 14,4$	72,0 ^{Hla}	$76,0 \pm 11,6$	76,0 ^{BDFa}
M6	$107,2 \pm 26,7$	112,0 ^{Aa}	$88,0 \pm 29,6$	88,0 ^{Ea}	$88,4 \pm 20,4$	80,0 ^{Aa}
M7	$135,2 \pm 9,1$	136,0 ^{Aa}	$96,0 \pm 23,7$	90,0 ^{la}	$121,2 \pm 28,2$	128,0 ^{Fa}
M8	$82,4 \pm 17,5$	76,0 ^{Aa}	$102,4 \pm 34,2$	94,0 ^{Aa}	$85,3 \pm 22,0$	76,0 ^{Aa}
M9	$85,6 \pm 15,9$	80,0 ^{Aa}	$102,4 \pm 30,1$	96,0 ^{Aa}	$81,7 \pm 19,3$	72,0 ^{CEa}

^{abc} Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo

Tabela 2- Médias (m), desvios-padrão (s) e medianas (md) da frequência respiratória (mpm) de ovinos nos diferentes momentos (M) de colheita dos três grupos experimentais (GC, G200 e G500).

	GC (n=5)		G200 (n=10)		G500 (n=10)	
	m±s	Md	m ± S	Md	m ± S	Md
M1	$35,2 \pm 9,76$	34,0 ^{Aa}	$36,8 \pm 11,67$	38,0 ^{Ba}	$42,0 \pm 14,67$	30,0 ^{Ba}
M2	$45,4 \pm 12,12$	44,0 ^{Aa}	$45,7 \pm 6,67$	45,3 ^{Aa}	44.8 ± 10.20	52,0 ^{Aa}
M3	$52,0 \pm 4,90$	48,0 ^{Aa}	$45,6 \pm 5,40$	49,6 ^{Aa}	$51,2 \pm 9,94$	52,0 ^{Aa}
M 4	$48,8 \pm 9,55$	44,0 ^{Aa}	$45,2 \pm 5,01$	45,7 ^{Aa}	$43,2 \pm 4,92$	44,0 ^{Aa}
M5	$50,0 \pm 4,00$	50,0 ^{Aa}	$50,6 \pm 8,33$	50,6 ^{Aa}	$51,2 \pm 6,75$	48,0 ^{Aa}
M6	$54,0 \pm 8,72$	52,0 ^{Aa}	$52,4 \pm 14,42$	53,8 ^{Aa}	$55,0 \pm 4,14$	52,0 ^{Aa}
M7	$49,2 \pm 3,90$	59,0 ^{Aa}	58.8 ± 9.94	53,6 ^{Ba}	$52,8 \pm 5,75$	48,0 ^{Aa}
M8	$56,8 \pm 7,16$	48,0 ^{Aa}	$52,8 \pm 9,20$	54,9 ^{Aa}	55,1 ± 11,27	56,0 ^{Aa}
M9	54,4 ± 11,08	43,0 ^{Aa}	$44,0 \pm 7,94$	53,9 ^{Aa}	$63,3 \pm 14,97$	52,0 ^{Ba}

^{abc}Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo

Foi observada alteração na frequência cardíaca, principalmente no início do experimento, provavelmente por stress dos animais durante a manipulação para realização do exame físico e administração do Cloreto de Amônio, porém com o andamento do experimento houve uma tendência a normalidade (90-120 bpm). Com relação a frequência respiratória, manteve-se um pouco acima

da normalidade, porém em todos os grupos e sem alterações clínicas, provavelmente devido a altas temperaturas durante o período do experimento.

Tabela 3- Médias (*m*), desvios-padrão (*s*) e medianas (*md*) da frequência dos movimentos rumenais (MR) em 5 minutos de ovinos nos diferentes momentos (M) de colheita nos grupos experimentais (GC, G200 e G500).

	GC (n=5)		G200 (n=10)		G500 (n=10	
	m ± s	Md	m ± s	Md	m ± s	Md
M1	$9,6 \pm 2,51$	9,0 ^{Ba}	$9,0 \pm 2,00$	9,0 ^{Ba}	$8,4 \pm 1,90$	9,0 ^{Ba}
M2	7.8 ± 2.68	6,0 ^{Aa}	$8,1 \pm 2,02$	9,0 ^{Aa}	$8,7 \pm 2,63$	9,0 ^{Ca}
M3	$4,2 \pm 1,64$	3,0 ^{Ba}	$3,6 \pm 1,90$	3,0 ^{BCDEa}	$3,3 \pm 1,70$	3,0 ^{BCDEFa}
M 4	$9,0 \pm 2,12$	9,0 ^{Aa}	$9,9 \pm 2,02$	9,0 ^{Ca}	$9,6 \pm 2,37$	9,0 ^{Da}
M5	7.8 ± 2.59	9,0 ^{Aa}	$7,1 \pm 2,38$	6,0 ^{Aa}	$6,0 \pm 2,11$	5,0 ^{Aa}
M6	$8,0 \pm 2,74$	10,0 ^{Aa}	7.0 ± 2.26	6,0 ^{Aa}	$7,4 \pm 2,17$	7,0 ^{Ea}
M7	7.8 ± 2.59	9,0 ^{Aa}	$9,0 \pm 1,63$	10,0 ^{BDa}	$8,7 \pm 3,74$	9,0 ^{Fa}
M8	$7,6 \pm 2,51$	8,0 ^{Aa}	$8,0 \pm 2,26$	9,0 ^{Aa}	$6,4 \pm 2,13$	5,0 ^{Aa}
M9	$8,0 \pm 2,71$	9,0 ^{Aa}	$8,4 \pm 1,66$	8,0 ^{Ea}	$7,7 \pm 2,29$	7,0 ^{Aa}

^{abc} Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo

Os valores do MR estiveram dentro dos valores normais para espécie, exceto no M3, onde praticamente todos os grupos apresentaram uma frequência menor, provavelmente devido as condições climáticas deste dia e menor alimentação dos animais, porém sem repercussão.

Tabela 4- Médias (*m*), desvios-padrão (*s*) e medianas (*md*) da temperatura retal de ovinos nos diferentes momentos (M) de colheita nos grupos experimentais (GC, G200 e G500).

	GC (n=5)		G200 (n=10	0)	G500 (n=10)	
	m ± s	Md	m ± s	Md	m ± s	Md
M1	39.8 ± 0.10	39,8 ^{BCa}	$39,6 \pm 0,16$	39,6 ^{BCDEa}	$39,5 \pm 0,28$	39,6 ^{BCDa}
M2	$38,7 \pm 0,38$	38,7 ^{DEa}	$39,0 \pm 0,28$	39,0 ^{Ba}	$38,9 \pm 0,24$	38,9 ^{Ba}
M3	$39,3 \pm 0,19$	39,4 ^{Da}	$39,1 \pm 0,19$	39,2 ^{Aa}	$39,0 \pm 0,34$	39,0 ^{Aa}
M 4	$39,3 \pm 0,46$	39,3 ^{Aa}	$39,3 \pm 0,28$	39,3 ^{Aa}	$39,2 \pm 0,32$	39,3 ^{Aa}
M5	$39,3 \pm 0,33$	39,4 ^{Aa}	$39,4 \pm 0,39$	39,4 ^{Aa}	$39,5 \pm 0,35$	39,4 ^{Ea}
M6	$39,1 \pm 0,37$	39,2 ^{Aa}	$38,9 \pm 0,42$	38,9 ^{Ca}	$39,2 \pm 0,36$	39,2 ^{Aa}
M7	$38,9 \pm 0,29$	38,9 ^{Aa}	$39,1 \pm 0,30$	39,1 ^{Aa}	$39,0 \pm 0,26$	39,0 ^{ACa}
M8	$39,3 \pm 0,21$	39,3 ^{CEa}	$39,1 \pm 0,56$	39,2 ^{Da}	$39,3 \pm 0,75$	39,2 ^{Aa}
M9	$38,7 \pm 0,42$	38,9 ^{Aa}	$39,0 \pm 0,25$	39,1 ^{Ea}	$38,9 \pm 0,27$	39,0 ^{DEa}

^{abc} Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo

A temperatura retal permaneceu dentro dos padrões da normalidade (39 a 40,5°C). O momento M3 no G500 apresentou diferença estatística no mesmo grupo, porém sem anormalidades durante todo experimento.

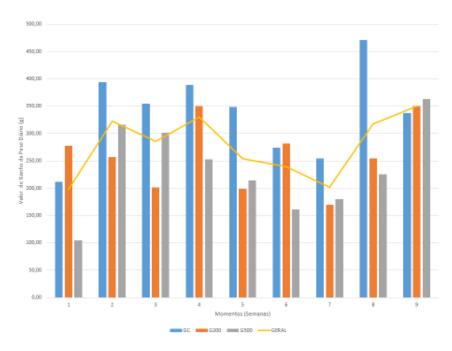


FIGURA 1. Ganho de Peso médio diário (g) ao longo dos momentos (Semanas) avaliados em ovinos nos GC, G200, G500 e média geral.

Tabela 5- Médias (m), desvios-padrão (s) e medianas (md) do peso
(Kg) de ovinos nos diferentes momentos (M) de colheita dos três grupos
experimentais (GC, G200 e G500).

	GC (n=5))	G200 (n=10	0)	G500 (n=1	0)
	m ± s	Md	m ± s	Md	m ± s	Md
M1	$15,6 \pm 3,1$	15,3 ^{BCa}	$18,5 \pm 5,9$	18,8 ^{BCDEa}	$16,3 \pm 4,4$	16,4 ^{BCDEa}
M2	$17,1 \pm 4,2$	17,0 ^{Da}	$20,4 \pm 6,4$	22,3 ^{FGa}	$17,0 \pm 4,8$	17,7 ^{FGa}
М3	$19,9 \pm 5,0$	19,5 ^{Aa}	$22,2 \pm 6,9$	21,6 ^{Hla}	$19,2 \pm 5,6$	20,9 ^{Hla}
M4	$22,4 \pm 5,5$	21,3 ^{Aa}	$23,6 \pm 7,3$	22,1 ^{Ja}	$21,3 \pm 6,4$	22,3 ^{Ja}
M5	$25,1 \pm 6,1$	23,5 ^{Aa}	$26,1 \pm 8,4$	24,9 ^{Aa}	$23,1 \pm 6,3$	24,5 ^{Aa}
M6	$27,5 \pm 6,6$	25,5 ^{Aa}	$27,5 \pm 8,6$	26,3 ^{Ba}	$24,6 \pm 6,6$	25,6 ^{Ba}
M7	$29,4 \pm 6,7$	27,6 ^{Aa}	$29,4 \pm 8,8$	28,0 ^{Ca}	$25,7 \pm 7,0$	26,8 ^{CFa}
M8	$31,2 \pm 7,2$	29,4 ^{Ba}	$30,6 \pm 8,9$	29,1 ^{DFHa}	$27,0 \pm 7,7$	28,8 ^{DGHa}
M9	$34,5 \pm 8,1$	33,1 ^{CDa}	$32,4 \pm 9,1$	30,4 ^{EGIJa}	$28,6 \pm 8,2$	31,3 ^{ElJa}

^{abc} Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo

A média de ganho de peso diário manteve-se dentro da normalidade em todos os grupos experimentados (Figura 1), demonstrando a segurança da administração do Cloreto de Amônio até a dose de 500 mg/Kg/PV por dia/animal, com ganho de peso satisfatório (Tabela 5). Ferreira et al. (2014) demonstraram que o uso de Cloreto de Amônio não interferiu no desenvolvimento dos animais, com peso médio inicial de 22 Kg e final de 42 Kg por volta dos 6 meses, porém sem distinção de grupos.

Como tivemos o óbito de um animal do G500 no M7 por enterite e pneumonia, levantou-se a hipótese da interferência do Cloreto de Amônio no pH ruminal e desta forma, foi feita uma análise do pH do líquido ruminal com peagâmetro portátil, pela manhã, antes da administração do Cloreto de Amônio e comparados os 3 grupos no M9:

Tabela 6- Valores do pH do líquido ruminal coletados no M9 nos grupos experimentais (GC, G200 e G500) de todos os animais.

	GC (n=5)		G200 (n=10)		G500 (n=10)	
	m ± s	Md	m ± s	Md	m ± s	Md
М9	6.8 ± 0.44	7,0 ^{Aa}	$6,5 \pm 0,52$	6,5 ^{Aa}	$6,22 \pm 0,44$	6,00 ^{Aa}

^{abc} Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo

Não houve alterações estatisticamente significativas, demonstrando a segurança com relação à administração de até 500 mg/Kg/PV de cloreto de amônio por dia no líquido ruminal. Mavangira et al. (2010) e Jones et al. (2009) demonstraram que não houve acidose metabólica nos animais avaliados, havendo porém alteração do pH urinário, conforme objetivado nos estudos.

5.2 Urinálise

As amostras de urina foram coletadas por micção natural ou forçada, apresentando-se com odor característico (mínimo 10 mL) para realização da urinálise. As variáveis analisadas estão expressas nas Tabelas de 7 a 15.

Tabela 7. Médias (*m*), desvios-padrão (*s*) e medianas (*md*) da densidade urinária de ovinos nos diferentes momentos (M) de colheita, e dos três grupos experimentais (GC, G200 e G500).

	GC (n=5)		G200 (n=10)		G500 (n=10)	
	m±s	Md	m±s	Md	m±s	Md
M1	$1012 \pm 7,58$	1010 ^{Aa}	$1008 \pm 6,32$	1005 ^{Ba}	1007±4,83	1005 ^{BCDa}
M2	$1008 \pm 4,47$	1005 ^{Aa}	$1007 \pm 7,52$	1017,5 ^{Aa}	1014±6,14	1025 ^{Aa}
М3	$1006 \pm 2,23$	1005 ^{Aa}	$1007,5 \pm 3,53$	1005 ^{Ca}	1013±8,51	1010 ^{Aa}
M 4	$1011 \pm 2,23$	1010 ^{Aa}	$1025 \pm 6,66$	1027 ^{BCDEa}	1025±6,85	1030 ^{BCFa}
M5	$1012 \pm 7,58$	1010 ^{Aa}	$1008 \pm 6,32$	1005 ^{Da}	1007±4,83	1005 ^{EFGHa}
M6	$1008 \pm 2,73$	1010 ^{Aa}	$1008 \pm 4,21$	1005 ^{Ea}	1013±9,48	1010 ^{Aa}
M7	$1008 \pm 6,70$	1005 ^{Aa}	$1012,5 \pm 6,34$	1012,5 ^{Aa}	1023±7,83	1025 ^{Aa}
M8	$1012 \pm 8,36$	1010 ^{Aa}	$1019 \pm 6,58$	1020 ^{Aa}	1028±2,50	1030 ^{DGHa}
M9	$1010 \pm 6,12$	1010 ^{Aa}	$1011 \pm 6,70$	1010 ^{Aa}	1022±6,66	1025 ^{Ea}

^{abc} Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo.

Os valores de densidade urinária se mantiveram praticamente dentro do padrão de normalidade para ovinos (1.010 a 1.040), não havendo diferença entre os grupos, mas com algumas diferenças entre os momentos do G200 e G500. Os estudos de Mavangira et al. (2010) não observaram diferença na densidade urinária dos animais tratados ou não por Cloreto de

Amônio; porém não foi avaliado o volume urinado, muito menos a ingestão de água destes animais naquele estudo.

Tabela 8- Médias (*m*), desvios-padrão (*s*) e medianas (*md*) do pH urinário de ovinos durante os momentos (M) nos grupos experimentais (GC, G200 e G500).

	GC (n=5)		G200 (n=10	0)	G500 (n=10	0)
	m±s	Md	m±s	Md	m±s	Md
М1	9.0 ± 0.00	9,0 ^{Aa}	$8,7 \pm 0,95$	9,0 ^{BCa}	$8,6 \pm 1,26$	9,0 ^{BCDEa}
M2	$8,5 \pm 1,11$	9,0 ^{Aa}	$8,1 \pm 1,00$	8,0 ^{Aa}	$7,0 \pm 1,70$	6,8 ^{BFKLQa}
М3	9.0 ± 0.00	9,0 ^{Aa}	9.0 ± 0.00	9,0 ^{DEa}	$8,5 \pm 1,30$	9,0FGHIJKa
M4	9.0 ± 0.00	9,0 ^{Aa}	$6,3 \pm 1,70$	5,5 ^{BDFGa}	$6,3 \pm 1,49$	6,0 ^{AGPUVa}
M5	9.0 ± 0.00	9,0 ^{Aa}	$8,7 \pm 0,90$	9,0 ^{FHa}	$8,6 \pm 1,30$	9,0 ^{LMNOUa}
M6	9.0 ± 0.00	9,0 ^{Aa}	9.0 ± 0.00	9,0 ^{Gla}	$8,3 \pm 1,49$	9,0 ^{PQRSTVa}
M7	$8,1 \pm 0,41$	8,0 ^{Aa}	$8,2 \pm 0,35$	8,5 ^{Aa}	$6,6 \pm 1,05$	6,2 ^{CHMRa}
M8	$8,1 \pm 0,22$	8,0 ^{Aa}	$7,4 \pm 0,95$	7,7 ^{CEHIa}	$6,2 \pm 1,06$	6,0 ^{DINSa}
M9	$8,7 \pm 0,62$	9,0 ^{Aa}	$8,5 \pm 0,54$	9,0 ^{Aa}	$6,3 \pm 1,80$	5,0 ^{EJOTa}

^{abc} Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo

O pH urinário do GC apresentou-se com pouca variação durante todo o estudo, ao contrário do que ocorreu com os G200 e G500. No início do experimento observamos o pH da urina básico, que praticamente não foi influenciado pela administração da dieta balanceada e corroborado pela não suplementação de sal (cloreto de sódio), como ocorrido nos estudos de Ferreira et al. (2014), cujos animais já iniciaram o estudo com pH ácido. Além disso, houve acidificação urinária no G500 a partir do M7 que se manteve até final do experimento. Durante o M4, o G200 e o G500 apresentou acidificação urinária, porém sem manutenção, sendo fato isolado. Não houve diferença estatística entre os grupos no mesmo momento. Deve-se evitar acidificação urinária excessiva pelo risco de diminuição da ingestão de ração e o risco de acidose metabólica, conforme descrito por Singh et al. (2007).

Ferreira et al. (2014) administraram dose de 400 mg/Kg/PV na ração, apresentando diminuição do pH da urina a partir do segundo dia, porém deve-se ressaltar que a administração foi na ração, diferentemente do nosso estudo, que foi individual e diariamente por via oral, sem que haja dúvidas da quantidade administrada por animal, devido a variações individuais de peso e ingestão da

ração. Além disso, não foi suplementado sal mineral em nosso trabalho para que não houvesse interferência no uso isolado do Cloreto de Amônio.

Mavangira et al. (2010) não conseguiram acidificar a urina de caprinos utilizando a administração individual de 200mg/kg/PV de Cloreto de Amônio, ocorrendo com dose de 400mg/kg/PV e principalmente 500mg/kg/PV, abaixando de 8,0 para 5,5 em 12 horas após uma segunda administração, corroborando nossos estudos.

Tabela 9- Mensuração da proteína (mg/dL) das amostras de urina dos ovinos nos grupos experimentais (GC, G200 e G500), nos diferentes momentos (M) de colheita.

	G	C (n=	5)	G2	200 (n:	=10)	G500) (n=10)	
	Neg	<30	>30	Neg	<30	>30	Neg <	<30 >30)
M1	5	0	0	6	3	1	7	3 0	
M2	3	2	0	10	0	0	10	0 0	
М3	5	0	0	8	2	0	10	0 0	
M4	4	1	0	9	1	0	10	0 0	
M5	5	0	0	6	3	1	7	3 0	
М6	4	1	0	9	1	0	10	0 0	
M7	4	1	0	5	3	2	8	2 0	
M8	3	0	2	9	1	0	8	0 1	
M9	2	2	1	7	3	0	9	0 0	

Neg (Negativa); <30 (Menor que 30 mg/dL); >30 (Maior que 30 mg/dL)

A mensuração da proteinúria não apresentou diferença estatística entre os momentos, nem mesmo dentro dos grupos. A proteinúria pode ser encontrada em afecções renais, por perda da capacidade do glomérulo renal em repelir a proteína ou mesmo pelo déficit de reabsorção nos túbulos renais (Garcia-Navarro, 2005). Dietas ricas em proteína (>20% PB), podem levar a sobrecarga renal e proteinúria. Nossa dieta apresentava cerca de 16,19% de PB, dificultando essa ocorrência, porém com ganho de peso importante especialmente no GC. A média de ingestão foi de 1,15 Kg/d/animal, semelhante aos estudos de Ferreira (2003), de 1,2 Kg/d/animal.

a,b Diferença estatística (p<0,05) dentro do momento pelo Teste Qui-Quadrado.

Tabela 10- Contagem de células epiteliais das amostras de urina dos ovinos nos grupos experimentais (GC, G200 e G500), nos diferentes momentos (M) de colheita.

	G	C (n=	:5)	G2	200 (n	=10)	G5	00 (r	n=10)
	0	1	2	0	1	2	0	1	2
M1	3	2	0	6	3	1	7	3	0
M2	5	0	0	10	0	0	8	2	0
М3	4	1	0	8	2	0	4	6	0
M4	5	0	0	10	0	0	9	1	0
М5	5	0	0	6	3	1	7	3	0
M6	5	0	0	10	0	0	10	0	0
M7	0	4	1	3	6	1	2	5	3
M8	1	2	2	3	6	1	0	8	1
М9	5	0	0	10	0	0	10	0	0

Ausentes (0); Raras (1); Frequentes (2).

As células epiteliais, podem estar em excesso nas patologias inflamatórias e/ou infecciosas, porém não se apresentaram alteradas em nenhum momento no presente estudo.

Tabela 11- Contagem de leucócitos das amostras de urina dos ovinos nos grupos experimentais (GC, G200 e G500), nos diferentes momentos (M) de colheita.

		GC (n=5)		G	200	(n=10	0)	G	G500 (n=10)			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
M1	1	3	0	1	3	3	2	2	3	5	2	0	
M2	3	1	1	0	4	4	1	1	4	4	0	2	
М3	0	1	0	4	0	5	0	5	1	1	1	7	
M4	1	3	0	1	0	5	1	4	0	5	2	3	
M5	1	3	0	1	3	3	2	3	3	5	2	0	
M6	3	2	0	0	3	4	2	1	1	5	0	4	
M7	4	1	0	0	5	3	1	1	3	6	0	1	
M8	2	3	0	0 ^a	1	5	3	1 ^a	0	0	5	4 ^b	
M9	0	3	0	2	1	4	0	5	2	3	0	4	

0-9 cels/campo (1); 10-50 cels/campo(2); 51-100 cels/campo(3); >100 cels/campo (4).

Houve diferença estatística no M8 entre o GC e o G500, sem apresentar em outros momentos. Porém observa-se que no momento seguinte não houve essa diferença, podendo ter ocorrido por uma variação exclusiva neste momento, sem alteração clínica nos animais. A maior parte dos animais

a,b Diferença estatística (p<0,05) dentro do momento pelo Teste Qui-Quadrado.

a,b Diferença estatística (p<0,05) dentro do momento pelo Teste Qui-Quadrado.

apresentava fimose, o que pode ter contribuído para o aumento de leucócitos em determinados momentos, por acúmulo local e contaminação durante a coleta da amostra.

Tabela 12- Contagem de cilindros das amostras de urina dos ovinos nos grupos experimentais (GC, G200 e G500) nos diferentes momentos (M) de colheita.

	G	C (n=	:5)	G2	200 (n	=10)	G5	00 (r	1=10)	
	0	1	2	0	1	2	0	1	2	
M1	5	0	0	10	0	0	10	0	0	
M2	5	0	0	10	0	0	10	0	0	
М3	5	0	0	10	0	0	10	0	0	
М4	5	0	0	10	0	0	10	0	0	
M5	5	0	0	10	0	0	9	1	0	
М6	5	0	0	10	0	0	10	0	0	
М7	3	2	0	8	0	2	7	3	0	
M8	5	0	0	10	0	0	9	0	0	
M9	5	0	0	10	0	0	9	0	0	

Ausentes (0); Raros (1); Frequentes (2).

Não foram encontrados cilindros na maior parte dos grupos e dos momentos, sendo-os encontrados em momentos isolados e sem significado estatístico.

Tabela 13- Contagem de cristais das amostras de urina dos ovinos nos grupos experimentais (GC, G200 e G500) nos diferentes momentos(M) de colheita.

	G	C (n=	:5)	G2	00 (n	=10)	G50	00 (n	=10)
	0	1	2	0	1	2	0	1	2
M1	5	0	0	8	1	1	8	1	1
M2	3	0	2	7	1	2	6	1	3
М3	5	0	0	10	0	0	10	0	0
M4	5	0	0	10	0	0	10	0	0
M5	5	0	0	8	1	1	8	1	1
M6	5	0	0	10	0	0	10	0	0
M7	0	1	4	0	5	5	0	4	6
M8	1	1	3	7	2	1	4	1	4
М9	4	0	1	10	0	0	9	0	0

Ausentes (0); Raros (1); Frequentes (2).

a,b Diferença estatística (p<0,05) dentro do momento pelo Teste Qui-Quadrado.

^{a,b} Diferença estatística (p<0,05) dentro do momento pelo Teste Qui-Quadrado.

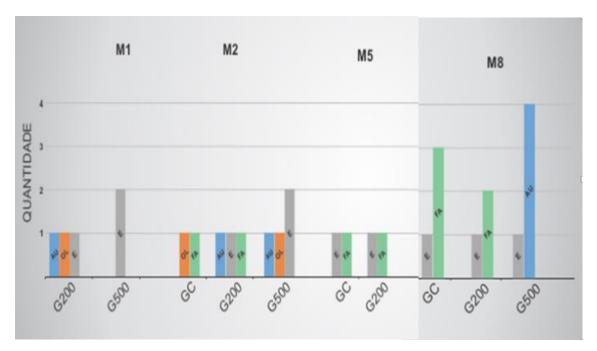


FIGURA 2- Variação do tipo de cristais urinários ao longo dos momentos (M) no GC, G200 e G500 (Legenda: AU – ácido úrico, E – Estruvita, FA – Fosfato Amorfo, OL – Oxalato).

Os cristais não apresentaram diferença significativa no presente estudo. A presença e o tipo de cristais, bem como a interferência do meio urinário (ácido ou alcalino) podem determinar a formação de litíase (Garcia-Navarro, 2005). Nesse aspecto, a dieta, principalmente pela ingestão de proteínas e sal, podem influenciar o tipo de cálculo. O fosfato triplo amoníaco magnesiano (estruvita) é o tipo mais comum em ovinos, presentes principalmente devido ao pH alcalino, seguido dos cristais de carbonatos e silicatos (Araújo et al., 2009). Em nosso estudo, houve uma predominância no início deste tipo, sendo substituídos pelos de uratos ao final do estudo, principalmente no G500, que estão presentes em pH urinário ácido. Ferreira et al. (2014) obtiveram 27% de cristais ao longo dos momentos no GC e 8% no grupo Cloreto de Amônio, concluindo que o Cloreto de Amônio apresenta efeito protetor contra a formação de cristais, por diminuição da porcentagem no grupo de estudo, apesar da presença de cristais em todos os grupos. Mavangira et al. (2010) não encontraram associação entre a suplementação de cloreto de amônio e a presença de cristalúria. Porém, observaram maior quantidade de cristais

(fosfato triplo e oxalato de cálcio) em animais que não receberam o produto, concordando com este estudo.

Tabela 14- Contagem de hemácias das amostras de urina dos ovinos nos grupos experimentais (GC, G200 e G500), nos diferentes momentos (M) de colheita.

		GC (n=5)		G	200	(n=1	0)	G	G500 (n=10)			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
M1	5	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	
M2	5	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	
М3	5	0	0	0	9	0	0	1	10	0	0	0	
M4	5	0	0	0	10	0	0	0	9	0	0	1	
M5	5	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	
M6	5	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	
M7	5	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	
M8	2	3	0	0	8	2	0	0	4	5	0	0	
М9	4	1	0	0	8	0	0	2	5	1	0	3	

⁰ a 5 células/campo (1); 6 a 50 células/campo (2); 51 a 100 células/campo (3); >100 células/campo (4).

Os valores de hemácias da urinálise não apresentaram diferença estatística.

Tabela 15- Contagem de bactérias das amostras de urina dos ovinos nos grupos experimentais (GC, G200 e G500), nos diferentes momentos (M) de colheita.

	GC	(n=5)			G200) (n=	10)		G500 (n=10)				
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
M1	1	1	2	1	1	3	1	5	3	1	5	1	
M2	3	0	1	1	4	1	2	3	4	0	5	1	
М3	0	0	4	1	0	1	4	5	1	0	4	5	
M4	1	3	0	1 ^a	0	0	4	6 ^b	0	0	8	2^{b}	
M5	1	1	2	1	1	3	1	5	3	1	5	1	
М6	2	0	1	2	4	2	3	1	1	2	2	5	
M7	3	2	0	0	6	2	2	0	4	5	1	0	
M8	4	1	0	0	8	2	0	0	4	5	0	0	
M9	1	2	1	1	2	5	3	0	1	5	2	1	

Ausente (1); discreta (2); moderada (3); acentuada (4).

a,b Diferença estatística (p<0,05) dentro do momento pelo Teste Qui-Quadrado.

a,b Diferença estatística (p<0,05) dentro do momento pelo Teste Qui-Quadrado

Houve diferença estatística entre os grupos no momento M4 (GC de G200 e G500), porém sem repercussão clínica, vindo a apresentar sem alterações no momento subsequente. Bactérias são frequentes em amostras de ovinos por conta da presença de fimose e da coleta por micção natural ou forçada, diferentemente da punção vesical onde não é comum encontrar-se bactérias ou mesmo leucócitos (Garcia-Navarro, 2005).

5.3 Hemogasometria

As variáveis analisadas foram: pH, PCO₂, HCO₃-, TCO₂ e EB, conforme descritos nas tabelas de 16 a 20. As coletas foram interrompidas no M7 devido à quebra do aparelho que estava sendo utilizado, não sendo possível a realização em outro local, porém sem provável prejuízo ao estudo, já que se mantiveram dentro da normalidade baseados nos valores descritos por Ortolani (2003).

Tabela 16- Médias (*m*), desvios-padrão (*s*) e medianas (*md*) do pH do sangue venoso, nos diferentes momentos (M) de colheita dos ovinos dos grupos experimentais (GC, G200 e G500).

	GC (n=5)		G200 (n=10)		G500 (n=10)		
	m ± s	Md	m ± s	Md	m ± S	Md	
M1	$7,36 \pm 0,06$	7,33 ^{Aa}	$7,36 \pm 0,05$	7,36 ^{Aa}	$7,37 \pm 0,03$	7,37 ^{Aa}	
M2	$7,36 \pm 0,05$	7,39 ^{Aa}	$7,37 \pm 0,01$	7,37 ^{Aa}	$7,35 \pm 0,05$	7,37 ^{Aa}	
М3	$7,36 \pm 0,04$	7,37 ^{Aa}	$7,38 \pm 0,04$	7,39 ^{Ba}	$7,38 \pm 0,03$	7,39 ^{BCa}	
M4	$7,34 \pm 0,04$	7,34 ^{Aa}	$7,32 \pm 0,08$	7,34 ^{Aa}	$7,31 \pm 0,08$	7,33 ^{Da}	
M5	$7,36 \pm 0,04$	7,36 ^{Aa}	$7,37 \pm 0,02$	7,37 ^{Ca}	$7,37 \pm 0,02$	7,37 ^{Da}	
M6	$7,36 \pm 0,04$	7,36 ^{Aa}	$7,36 \pm 0,02$	7,36 ^{Aa}	$7,36 \pm 0,02$	7,36 ^{Aa}	
M7	$7,33 \pm 0,03$	7,32 ^{Aa}	$7,33 \pm 0,02$	7,34 ^{BCa}	$7,34 \pm 0,02$	7,35 ^{Ca}	

^{abc} Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo

A variação do pH do sangue venoso mostrou-se sem diferença estatística entre os grupos, havendo diferença em alguns momentos dentro do mesmo grupo (G200 e G500), porém dentro dos parâmetros normais para ovinos (7,28 - 7,42). Havia a preocupação dos animais em estudo apresentarem quadro de acidose metabólica pela administração do Cloreto de Amônio, o que não foi observado, dessa forma

demonstrando sua segurança, ao menos até a dose de 500 mg/Kg/PV, contrariando os estudos de Ferreira et al. (2014) que demonstraram acidose metabólica compensada com uso do Cloreto de Amônio.

Tabela 17- médias (m), desvios-padrão (s) e medianas (md) do PCO₂ (mmHg) do sangue venoso, nos diferentes momentos (m) de colheita nos grupos experimentais (Gc, G200 e G500).

	GC (n=5)		G200 (n=10)		G500 (n=10)	
	m±s	Md	m ± s	Md	m±s	Md
M1	$38,61 \pm 3,28$	37,5 ^{Aa}	$40,71 \pm 5,10$	39,5 ^{Aa}	$42,40 \pm 7,45$	42,3 ^{BCa}
M2	$37,52 \pm 3,57$	37,4 ^{Aa}	$38,71 \pm 5,80$	38,3 ^{Aa}	$35,11 \pm 5,90$	33,5 ^{Ba}
M3	$34,11 \pm 4,05$	33,7 ^{Aa}	$37,41 \pm 4,20$	37,4 ^{Aa}	$37,60 \pm 5,50$	37,6 ^{Aa}
M 4	$37,51 \pm 3,81$	37,9 ^{Aa}	$40,90 \pm 6,86$	40,4 ^{Aa}	$36,52 \pm 5,73$	35,7 ^{Aa}
M5	$36,73 \pm 2,09$	37,7 ^{Aa}	$38,90 \pm 4,60$	39,0 ^{Aa}	$38,43 \pm 5,11$	37,5 ^{Aa}
M6	$36,83 \pm 2,03$	37,8 ^{Aa}	$39,30 \pm 4,49$	39,6 ^{Aa}	$37,93 \pm 4,63$	36,8 ^{Aa}
M7	$36,04 \pm 1,92$	36,8 ^{Aa}	$38,40 \pm 4,54$	38,8 ^{Aa}	$36,84 \pm 4,85$	35,7 ^{Ca}

^{abc} Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo

A PCO₂ manteve-se dentro da normalidade (34-45 mmHg), havendo diferenças dentro do mesmo grupo nos G200 e G500, porém dentro da faixa de normalidade.

Tabela 18- Médias(m), desvios-padrão(s) e medianas(md) de HCO⁻³ (mmol/L) do sangue venoso, nos diferentes momentos (M) de colheita dos grupos experimentais (GC, G200 e G500).

	GC (n=5)		G200 (n=10)		G500 (n=10)	,
	m ± s	Md	m ± s	Md	m ± s	Md
M1	$23,78 \pm 2,50$	24,2 ^{Aa}	$24,81 \pm 2,62$	25,0 ^{Ba}	$24,54 \pm 1,67$	24,4 ^{Aa}
M2	$25,14 \pm 2,14$	26,0 ^{Aa}	$25,19 \pm 2,15$	25,1 ^{Ca}	$23,71 \pm 2,51$	24,0 ^{Ba}
М3	$25,16 \pm 1,62$	26,0 ^{Aa}	25,56 ± 1,11	25,7 ^{Da}	$26,00 \pm 1,50$	26,0 ^{BCDa}
M4	$23,20 \pm 1,20$	22,7 ^{Aa}	$21,80 \pm 2,10$	22,1 ^{BCDEa}	$23,06 \pm 2,74$	22,2 ^{Ca}
M5	$24,68 \pm 1,56$	24,9 ^{Aa}	$25,17 \pm 1,40$	25,5 ^{Ea}	$24,85 \pm 1,36$	24,6 ^{Ea}
M6	$24,39 \pm 1,45$	24,4 ^{Aa}	$24,50 \pm 1,46$	24,8 ^{Aa}	$24,50 \pm 1,26$	24,4 ^{Aa}
M7	$23,92 \pm 1,50$	23,8 ^{Aa}	$23,93 \pm 1,59$	23,9 ^{Aa}	$23,63 \pm 1,25$	23,7 ^{DEa}

^{abc} Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo

Os valores de HCO-3 mantiveram-se dentro da normalidade (19 a 26 mm Hg), sem diferença estatisticamente significante entre os grupos, com apenas pequenas oscilações entre os momentos no G200 e G500.

Tabela 19- Médias (m), desvios-padrão (s) e medianas (md) do TCO₂ (mmol/L) do sangue venoso, nos diferentes momentos (M) de colheita nos grupos experimentais (GC, G200 e G500).

	GC (n=5)		G200 (n=10)		G500 (n=10)	
	m ± s	Md	m ± s	Md	m ± s	Md
M1	$23,40 \pm 2,28$	23,6 ^{Aa}	$24,59 \pm 2,82$	24,8 ^{Ba}	$23,85 \pm 1,67$	23,9 ^{Aa}
M2	$24,90 \pm 1,40$	24,1 ^{Aa}	$24,79 \pm 2,57$	24,9 ^{Ca}	$23,82 \pm 1,93$	23,4 ^{Ba}
M 3	$25,26 \pm 1,21$	25,3 ^{Aa}	$25,12 \pm 1,36$	24,8 ^{Da}	$26,05 \pm 1,87$	25,7 ^{BCa}
M4	$23,06 \pm 1,16$	23,7 ^{Ab}	$21,87 \pm 1,53$	21,5 ^{BCDEa}	$23,96 \pm 1,93$	23,2 ^{Cb}
M5	$24,54 \pm 0,79$	24,8 ^{Aa}	$24,79 \pm 1,86$	25,0 ^{EFa}	$24,56 \pm 1,28$	24,0 ^{Aa}
M6	$24,24 \pm 0,84$	24,6 ^{Aa}	$24,23 \pm 1,71$	24,2 ^{Aa}	$24,44 \pm 1,13$	24,2 ^{Aa}
M7	$23,26 \pm 0,82$	23,7 ^{Aa}	$23,32 \pm 1,89$	23,5 ^{Fa}	$23,85 \pm 0,97$	23,8 ^{Aa}

^{abc} Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo

Os valores de TCO₂ no M4 do G200 mostraram-se estatisticamente diferentes dos outros grupos, porém foi um achado que manteve-se dentro dos valores normais, não persistiu nos outros momentos e não levou a alterações clínicas nos animais. Dentro dos mesmos grupos (G200 e G500) essa diferença foi significante entre outros momentos, porém sem significância no experimento. (Valores de normalidade de 19 a 26mmol/L)

Tabela 20- Médias (*m*), desvios-padrão (*s*) e medianas (*md*) do Excesso de Base (EB) (mmol/L) do sangue venoso, nos diferentes momentos (M) de colheita nos grupos experimentais (GC, G200 e G500).

-	GC (n=5)		G200 (n=10)	(G500 (n=10)	
	m±s	Md	m±s	Md	m±s	Md
M1	-0.10 ± 2.95	0,50 ^{A,}	$1,12 \pm 3,09$	1,30 ^{Ba}	0.74 ± 2.05	0,60 ^{Aa}
M2	$1,66 \pm 2,24$	2,20 ^{Aa}	$1,74 \pm 2,59$	1,60 ^{Ca}	$0,15 \pm 2,93$	0,40 ^{Ba}
M3	$1,86 \pm 1,71$	2,70 ^{Aa}	$2,07 \pm 1,25$	2,45 ^{Da}	$2,04 \pm 1,84$	2,05 ^{BCa}
M 4	$-0,50 \pm 1,39$	-1,10 ^{Aa}	$-2,25 \pm 2,80$	-1,75 ^{BCDEa}	$-0,57 \pm 3,38$	-1,60 ^{Ca}
M5	$1,14 \pm 1,66$	1,40 ^{Aa}	$1,70 \pm 1,66$	2,06 ^{Ea}	$1,32 \pm 1,63$	0,98 ^{Aa}
M6	0.81 ± 1.58	0,88 ^{Aa}	$0,91 \pm 1,79$	1,21 ^{Aa}	0.95 ± 1.49	0,93 ^{Aa}
M7	$0,71 \pm 1,47$	0,60 ^{Aa}	0.82 ± 1.52	1,05 ^{Aa}	0.91 ± 1.38	0,81 ^{Aa}

^{abc}Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo

O EB variou dentro da normalidade (-4 a 2 mmol/L), corroborando os achados de Mavangira et al. (2010) e Jones et al. (2009). Apesar de alguns outros estudos terem demonstrado que o uso de dieta aniônica podem

influenciar o pH sanguíneo, com diminuição dos valores (Singh et al., 2007; Ferreira et al., 2014), não observamos essa alteração demonstrando a segurança na administração diária de até 500 mg/Kg/PV por via oral de cloreto de amônio, sem influenciar no potencial hidrogeniônico.

5.4 Exames bioquímicos (ureia e creatinina)

Os resultados estão descritos nas Tabelas 21 e 22. Os valores de normalidade são baseados nos estudos de Kaneko (2008).

Tabela 21- Médias (*m*), desvios-padrão (*s*) e medianas (*md*) da concentração sérica de ureia (mg/dL) sérica de ovinos, nos diferentes momentos de colheita nos grupos experimentais (GC, G200 e G500).

	GC (n=5)		G200 (n=10))	G500 (n=10)		
	m ± s	Md	m ± s	Md	m ± s	Md	
M1	$44,2 \pm 5,89$	41,0 ^{Aa}	$40,3 \pm 12,73$	39,0 ^{Ba}	$40,2 \pm 5,31$	39,5 ^{Aa}	
M2	$49,4 \pm 8,38$	49,0 ^{Aa}	$49,9 \pm 12,06$	49,5 ^{Aa}	$40,2 \pm 6,12$	41,5 ^{Ba}	
М3	$56,8 \pm 8,10$	60,0 ^{Ba}	$58,5 \pm 9,36$	55,5 ^{BCDa}	$51,7 \pm 7,34$	51,0 ^{BCDa}	
M4	$35,0 \pm 7,87$	37,0 ^{Ba}	$34,1 \pm 8,03$	32,0 ^{CEFGHa}	$31,0 \pm 6,32$	31,5 ^{CEFa}	
M5	$42,4 \pm 5,89$	41,0 ^{Aa}	$52,3 \pm 16,02$	48,5 ^{Ea}	$46,7 \pm 6,03$	47,5 ^{Ea}	
M6	$46,4 \pm 6,18$	45,0 ^{Aa}	$51,6 \pm 6,83$	49,5 ^{Fa}	$46,3 \pm 6,58$	47,0 ^{Fa}	
M7	$45,2 \pm 4,54$	47,0 ^{Aa}	$47,2 \pm 8,68$	45,6 ^{Da}	$42,1 \pm 3,90$	43,0 ^{Da}	
M8	$46,6 \pm 6,18$	47,0 ^{Aa}	$53,8 \pm 8,39$	49,0 ^{Ga}	$41,7 \pm 3,86$	44,0 ^{Aa}	
M9	$47,4 \pm 10,54$	44,0 ^{Aa}	$57,5 \pm 20,46$	70,0 ^{Ha}	$48,5 \pm 5,75$	48,0 ^{Aa}	

^{abc} Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo

As concentrações séricas de ureia mantiveram-se acima dos limites de normalidade definido para ovinos (17 a 43 mg/dL), porém sem diferença entre os grupos de estudo, somente com diferença entre os momentos dentro do mesmo grupo, principalmente os momentos M3 e M4 no G200 e G500, podendo estar relacionado a temperaturas mais altas. Apesar disso, nenhum animal apresentou sinais de Síndrome Urêmica. Nossos achados corroboram os estudos de Ferreira et al. (2014), que apresentaram um valor um pouco mais elevado dos níveis de ureia, sem sintomatologia, em todos os grupos. Streeter et al. (2001) constataram aumento de creatinina (3,9mg/dL) em caprino com urolitíase obstrutiva, o que não ocorreu no nosso estudo.

Tabela 22- Médias (*m*), desvios-padrão (*s*) e medianas (*md*) da concentração sérica de creatinina (mg/dL) sérica de ovinos, nos diferentes momentos de colheita nos grupos experimentais (GC, G200 e G500).

	GC (n=5)		G200 (n=10)		G500 (n=10)	
	m ± s	Md	m ± s	Md	m ± s	Md
M1	$0,71 \pm 0,14$	0,76 ^{BCa}	$0,76 \pm 0,09$	0,75 ^{BCDa}	0.70 ± 0.07	0,72 ^{BCDa}
M2	0.63 ± 0.08	0,63 ^{Aa}	$0,70 \pm 0,09$	0,67 ^{EFa}	$0,64 \pm 0,06$	0,64 ^{Ea}
M3	$0,51 \pm 0,06$	0,52 ^{Aa}	$0,60 \pm 0,13$	0,60 ^{BGa}	$0,55 \pm 0,06$	0,56 ^{Fa}
M4	0.73 ± 0.11	0,71 ^{DEa}	0.80 ± 0.09	0,79 ^{GHIJa}	0.73 ± 0.06	0,74 ^{BFGHa}
M5	$0,41 \pm 0,06$	0,41 ^{BDa}	$0,48 \pm 0,09$	0,49 ^{CEHIL}	$0,43 \pm 0,06$	0,43 ^{CEGIa}
M6	$0,48 \pm 0,04$	0,51 ^{CEa}	$0,56 \pm 0,10$	0,56 ^{DFla}	0.57 ± 0.03	0,57 ^{DHa}
M7	0.57 ± 0.07	0,59 ^{Aa}	$0,64 \pm 0,09$	0,64 ^{CJa}	$0,60 \pm 0,04$	0,61 ^{Aa}
M8	$0,61 \pm 0,07$	0,62 ^{Aa}	$0,69 \pm 0,08$	0,68 ^{Ka}	$0,63 \pm 0,09$	0,64 ^{Aa}
M9	$0,63 \pm 0,07$	0,63 ^{Aa}	$0,69 \pm 0,10$	0,71 ^{La}	$0,68 \pm 0,03$	0,68 ^{la}

^{abc} Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo

Os valores encontrados ficaram abaixo dos valores referenciados como normal (1,2 a 1,9 mg/dL). Apesar disso, não houve diferença estatisticamente significante entre os grupos, havendo apenas variações dentro do mesmo grupo de estudo, incluindo o GC, porém sem significado clínico, como encontrado por Ferreira et al. (2014). Lima et al. (2014) estudando ovinos da raça Santa Inês na Amazônia oriental encontraram valores médios de referência semelhantes ao nosso estudo (0,80 mg/dL), sugerindo novos valores de referência de creatinina.

A creatinina é um marcador mais fidedigno de insuficiência renal quando comparado à ureia, porém encontra-se alterada apenas quando mais da metade dos néfrons estão comprometidos (Garcia-Navarro, 2005). Quando há obstrução urinária baixa, ou mesmo obstrução urinária alta e principalmente bilateral, observa-se elevação dos níveis de ureia e creatinina, algo que não houve durante o presente estudo. A análise de ambos permite excluir disfunções renais, algo já esperado, pois não houve sinais de urolitíase.

5.5 Ultrassonografia dos rins e bexiga

O exame ultrassonográfico foi realizado para avaliação dos rins e das vias urinárias dos animais pertencentes aos três grupos experimentais. Embora a literatura cite certa dificuldade para a visibilização do rim esquerdo (Scott, 2013), conseguiu-se obter imagens dos dois rins, na maior parte dos animais. Durante o período experimental não foi constatada ocorrência de sinais clínicos compatíveis com obstrução uretral; por isso não há imagens da uretra dos animais. As medidas de normalidade seguidas foram as sugeridas por Scott (2013). Ferreira et al. (2014) encontraram cálculos e sedimentos vesicais, dilatação de pelve renal e espessamento vesical, porém sem nefrolitíase, que foi identificada na necropsia, muito provavelmente pelo pequeno diâmetro apresentado, o que diminui a acurácia do método.

No presente trabalho não encontramos nenhuma alteração de litíase ou suas complicações, algo já esperado, já que o objetivo foi acidificar a urina como forma de prevenção de urolitíase.

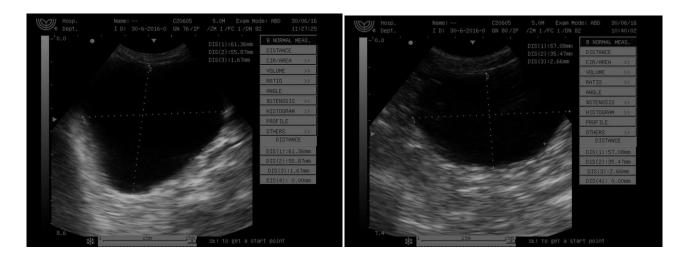


FIGURA 3- Bexiga de ovino em secção longitudinal e transversa, com limites dentro da faixa de normalidade, incluindo a parede vesical. Imagens obtidas no momento M4. Frequência 5MHz.

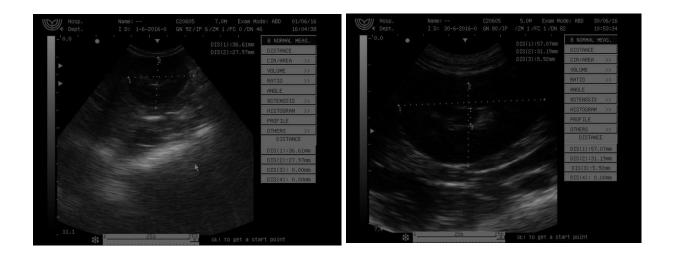


FIGURA 4- Imagens do rim direito de ovino demonstrando medidas normais, incluindo a medida da pelve renal, sem sinais de dilatação ou litíase, em dois cortes (transversal e longitudinal) Imagens obtidas no Momento 5 (M5), com transdutor convexo e frequência de 5MHz.



FIGURA 5 - Medida do comprimento do rim esquerdo de um ovino, dentro dos limites da normalidade, sem dilatação piélica, demonstrando a presença do baço acima, sem anormalidades. Imagem obtida no momento M7. Frequência 5MHz.

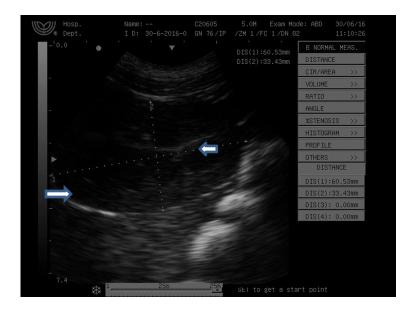


FIGURA 6 - Medida do comprimento do rim direito de um ovino, dentro dos limites da normalidade, sem dilatação piélica, demonstrando região cortical (seta maior) e a região medular (seta menor) bem evidente, sem anormalidades. Imagem obtida no momento M6. Frequência 5MHz.

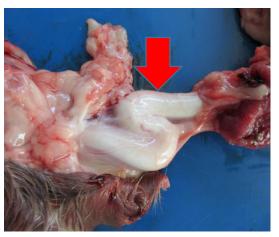
5.6 Alterações macroscópicas do sistema urinário

O exame necroscópico do sistema urinário dos ovinos dos três grupos não evidenciou litíase, hidronefrose ou alterações secundárias em nenhum dos grupos, fato que já era esperado no presente trabalho, diferentemente de Ferreira et al. (2014) que demonstrou nefrolitíase, hidronefrose, perda da definição córtico-medular e hemorragia renal, porém com maior frequência no Grupo Controle, em comparação aos grupos de estudo, pelo provável efeito protetor do Cloreto de Amônio na litogênese. Talvez isso possa ser explicado pelo uso do sal mineral, dosagem menor e não individualizada do Cloreto de Amônio e dieta hiperproteica utilizados nos estudos daquele autor.





FIGURA 7- Ovino com 6 meses de idade demonstrando fimose (seta maior) e processo uretral (seta menor) bem evidente, local de maior obstrução por litíase, sem alterações. Achados de necropsia.



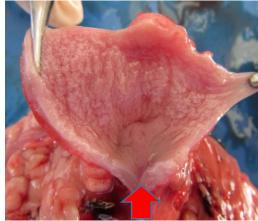
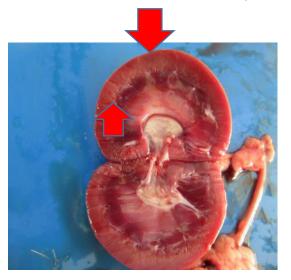


FIGURA 8- Demonstrando a flexura sigmoide (seta maior) e o colo vesical (seta menor), respectivamente 2º. e 3º. locais mais frequentes de obstrução urinária por calculose, estando dentro da normalidade. Achado de necropsia.



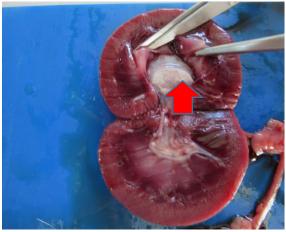


FIGURA 9. Rim direito de um ovino demonstrando a cortical (seta maior), medular (seta menor) e a pelve renal (imagem a direita) sem alterações.

6 CONCLUSÕES

- A acidificação urinária foi obtida e mantida com a dose de 500 mg/Kg/PV de cloreto de amônio por dia por via oral, principalmente após 56 dias de confinamento (M7), quando comparada ao grupo controle e à dose de 200 mg/Kg/PV.
- Não houve alterações ao exame físico, dosagem de ureia e creatinina e na hemogasometria, demonstrando a segurança da dose estudada.
- O modelo experimental não levou à produção de urólitos, como obtido anteriormente por Ferreira et al. (2014).

7 REFERÊNCIAS

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

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

EWOLDT, J.M.; ANDERSON, D.E.; MIESNER, M.D; SAVILLE WJ. Shot- and long- term outcome and factors predicting survival after surgical tube cystostomy for treatment of obstructive urolithiasis in small ruminants. **Vet. Surg.**, v. 35, p. 417-422, 2006.

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

FEITOSA, F.L.F. **Semiologia veterinária:** a arte do diagnóstico. 1ed. São Paulo: Manole. 2004. 792p.

FERREIRA, D.O.L. **Avaliação da acidificação urinária em ovinos com a utilização de três tratamentos**. Botucatu, 2009. 106f. Dissertação (Mestrado) – FMVZ de Botucatu – UNESP.

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

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

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

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

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. Clinical biochemistry of domestic animals. 6.ed. San Diego: Academic Press, 2008. 916p.

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

LEAL, M.L.R.; SOARES, P.C.; BERTAGNON, H.G.; SILVA, P.E.G.; ORTOLANI, E.L.; BENESI, F.J. Efeito da refrigeração sobre o exame hemogasométrico em sangue venoso de ovinos. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** v.43 (suplemento), p.80-85, 2006.

LIMA, M.B.; MONTEIRO, M.V.B.; JORGE, E.M.; CAMPELLO, C.C.; RODRIGUES, L.F.S.; VIANA, R.B.; MONTEIRO, F.O.B.; COSTA, C.T.C. Intervalos de referência sanguíneos e a influência da idade e sexo sobre parâmetros hematológicos e bioquímicos de ovinos da raça Santa Inês criados na Amazônia Oriental. **Acta Amazonica**, v. 45, n. 3, p. 317-322, 2015.

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

MACLEAY, J. M.; OLSON, J. D.; ENNS, R. M.; LES, C. M.; TOTH, C. A.; WHEELER, D. L.; TURNER, A. S. Dietary-induced metabolic acidosis decreases bone mineral density in mature ovariectomized ewes. **Calcif. Tissue Int,**.v. 75, n. 5, p 431-437, 2004.

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

ORTOLANI, E.L. Diagnóstico e tratamento de alterações ácido-básicas em ruminantes. In: SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL, 1., 2003, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2003. p.17-29.

PUGH, D.G. Lower urinary tract problems. In: **Sheep and goat medicine**. Philadelphia: Saunders p 267-76, 2002.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737 p.

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

SCOTT, P. Transabdominal Ultrasonographic examination of 26 sheep with suspected urinary tract disease (2010-2012). **J. Vet. Sci. Med. Diagn.**, v.2, p.1-5, 2013.

SINGH, T.; AMARPAL, A.; KINJAVDEKAR, P.; AITHAL, H.P.; PAWDE, A.M.; PRATAP, K. Blood acid-base and electrolyte changes following oral administration of ammonium chloride in goats suffering from obstructive urolithiasis. **Indian J. Anim. Sci.**, v.77, p.745–748, 2007.

SMITH, M.C. Obstructive urolithiasis. In Smith MC, Sherman DM, eds. **Goat Medicine**. Philadelphia: Lea & Febiger, 2007. p 398-402.

STEWART, S.R.; EMERICK, R.J.; PRITCHARD, R.H. High dietary calcium to phosporus ratio and álcali-forming potential as factors promoting sílica 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 sílica urolithiasis in sheep. **J. Anim. Sci.**, v.69, p. 2225-2229, 1991.

STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. Urinary System. In: STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology. 2. ed. lowa: Blackwell, 2008. p. 908,

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.; 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.

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. VAN METRE, D.C.; DIVERS, T. J. Urolitíase. In: SMITH, B. P. **Medicina interna**

WIDMER, W.R.; BILLER, D.S.; ADAMS, L.G. Ultrasonography of the urinary tract in small animals. **JAVMA**, v.225, n.1, p. 46-54, 2004.

de grandes animais. 3.ed. Barueri: Manole, 2006, p.853-860.

Utilização do Cloreto de Amônio na prevenção de urolitíase em ovinos¹

Fábio C. Navarro^{2*}; José Eduardo de O. Zanon², Fernanda Bovino², Rafaela S. Baptista², Mariana A.S. Jeronymo Pereira², Joao Pedro B. Barbosa², Marcela Da Coll de Camargo³, Matheus de O. S. Castro³, Mariana M. B. Rossetti³. Juliana R. Peiró⁴. Francisco Levdson F. Feitosa⁴. Luiz Cláudio N. Mendes⁴:

ABSTRACT- Navarro, F.C., Zanon, J.E.O., Bovino, F, Baptista, R.S., Pereira, M.A.S.J, Barbosa, J.P.B., Camargo, M.D.C., Castro, M.O.S., Rossetti, M.M.B., Peiró, J.R., Feitosa, F.L.F., Mendes, L.C.N. 2016. **[Use of Ammonium Chloride in the prevention of urolithiasis in sheep.]** Utilização do Cloreto de Amônio na prevenção de urolitíase em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira 00(0):00-00.* Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Campus de Araçatuba, SP, CEP 16050-580, Brazil. E-mail: fabio navarro@uol.com.br

Urolithiasis has high incidence in confined sheep, multifactorial and may cause economic injury. Our aim was to determine the capacity of urinary acidification using ammonium chloride in sheep. Twenty-five male sheep, aged three months, confined and randomly divided into three groups were used: CG Group (n = 5) did not receive Ammonium Chloride; G200 Group (n=10) (200 mg / kg / LW) of Ammonium Chloride for 56 consecutive days; G500 Group (n=10) (500 mg / kg / LW) of Ammonium Chloride for 56 consecutive days, administered daily orally. Sampling times and clinical evaluation were performed at seven days, with M1 (immediately before Ammonium Chloride), M2 (seven days after) until M9, totaling 70 days of feedlot. Hemogasometry, serum urea and creatinine concentration and ultrasound evaluation of the urinary tract were performed. In the urinalysis, there was a higher incidence of ammonium magnesium phosphate crystals at the beginning of the study, presenting a migration to the formation of urate crystals, mainly in the G500 due to urinary acidification. There were no hemogasometric, serum biochemistry, ruminal fluid or ultrasonographic changes. Urinary acidification was obtained and maintained after M7 during the administration of Ammonium Chloride in the G500 group, not occurring in the other study groups.

INDEX TERMS: Lithiasis, Urinalysis, Blood gas analysis, Ultrasonography.

¹ Recebido em
Aceito para publicação em

- ² Pós-graduando em Ciência Animal do Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Araçatuba, SP 16050-580. *Autor para correspondência: fabio_navarro@uol.com.br
- ³ Acadêmico da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Araçatuba, SP 16050-580.
- ⁴ Professor do Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Araçatuba, SP 16050-580.

RESUMO - A urolitíase apresenta alta incidência em ovinos confinados, etiologia multifatorial e pode causar prejuízo econômico. O objetivo com o presente estudo foi determinar a capacidade da acidificação urinária utilizando cloreto de amônio em ovinos. Foram utilizados 25 ovinos, machos, com idade de três meses, confinados e divididos aleatoriamente em três grupos: GRUPO GC (Controle) (n=5) não recebeu Cloreto de Amônio; GRUPO G200 (n=10) (200 mg/kg/PV) de Cloreto de Amônio por 56 dias consecutivos; Grupo G500 (n=10) (500 mg/Kg/PV) de Cloreto de Amônio por 56 dias consecutivos, administrados diariamente por via oral. Os Momentos (M) de colheita de amostras e avaliação clínica foram realizados com intervalo de sete dias, sendo M1 (imediatamente antes do Cloreto de Amônio), M2 (sete dias após) até M9, totalizando 70 dias de confinamento. Foram realizados hemogasometria, concentração sérica de ureia e creatinina e avaliação ultrassonográfica do trato urinário. Na urinálise, houve uma maior incidência de cristais de fosfato amônio magnesiano no início do estudo, com migração para formação de cristais de urato, principalmente no G500, devido à acidificação urinária. Não houve alterações hemogasométricas, na bioquímica sérica, no líquido ruminal ou alterações ultrassonográficas. A acidificação urinária foi obtida e mantida a partir do M7 durante a administração do Cloreto de Amônio no grupo G500, não ocorrendo nos outros grupos de estudo.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Litíase, Urinálise, Hemogasometria, Ultrassonografia.

INTRODUÇÃO

A alta incidência de urolitíase obstrutiva em ovinos ocorre principalmente em animais confinados. É multifatorial e tema de diversos estudos, pois provoca prejuízos econômicos, afetando a saúde reprodutiva do animal e até mesmo levando a sua morte (Guimarães et al.,, 2012). Tais complicações podem levar à necessidade de tratamento cirúrgico, afetando principalmente machos (por motivos anatômicos) e submetidos a castração precoce para ganho de peso (Van Metre & Fubini, 2006).

Os principais fatores associados a litogênese são: estase urinária, desidratação, baixo volume de ingestão de líquido, pH urinário alcalino, diminuição de fatores protetores urinários e aumento da excreção de minerais na urina, principalmente devido ao desbalanço na concentração de componentes calculogênicos na ração, como dietas ricas em proteínas, cálcio, magnésio ou fósforo, ou mesmo a ingestão de determinadas plantas ricas em oxalato ou sílica (Stewart et al.,, 1990).

Fatores protetores na formação da urolitíase (como os colóides) apresentam capacidade limitada, ocorrendo precipitação de solutos, agregação de componentes calculogênicos e assim a formação de cálculos urinários. (Van Metre & Divers, 2006). A hiperconcentração urinária, quando associada a dietas ricas em concentrados e pobres em volumosos, diminuem a ruminação, levando a excreção aumentada de fósforo na urina e quando associada a estase urinária, leva a formação de compostos insolúveis, com agregação e favorecimento da litogênese (Loretti et al.,, 2003). O núcleo formado promove precipitação, agregação e concreção ao seu redor, aumentando de volume e ocasionando obstruções ao trato urinário (Radostits, 2002).

Alguns autores (Ferreira et al.,. 2009, 2014) utilizaram o Cloreto de Amônio e a vitamina C (ácido ascórbico) como forma de acidificar a urina, levando a resultados conflitantes e até mesmo induzindo formação de calculose urinária.

O objetivo do trabalho foi avaliar a capacidade de acidificação urinária em ovinos através da utilização do cloreto de amônio analisado através de urinálise.

MATERIAL E MÉTODOS

Com base em modelo desenvolvido por Ferreira et. al (2014), foram utilizados 25 ovinos, machos, das raças Dorper, Santa Inês e Morada Nova, com idade aproximada de três meses, confinados, divididos de forma aleatória em 3 grupos: G200 (n=10) 200 mg/Kg/PV de Cloreto de Amônio/animal/dia; G500 (n=10) 500 mg/Kg/PV de Cloreto de Amônio/animal/dia e GC (n=5) controle, sem adição de Cloreto de Amônio e estudados por um período de 56 dias. Todos os animais foram desverminados (Zolvix, Novartis Saúde Animal) e vacinados contra clostridioses (Glanvac 6, Fort Dodge Saúde Animal, Campinas-SP).

². Foram adaptados ao ambiente por 14 dias, em ambiente comum, em condições de umidade, temperatura e luminosidade idênticos, com limpeza diária do local, sendo o período total de confinamento de 70 dias. A área do local era de 730 m², correspondendo a 29,2 m² por animal.

Às terças-feiras foram realizadas a pesagem dos animais e do Cloreto de Amônio que seria administrado na semana, bem como o exame físico de todos animais. Às quartas-feiras foram coletadas urina e sangue de todos os animais, com armazenamento em ambiente refrigerado das amostras e entrega imediata ao laboratório para análise. Às quintas-feiras foram realizadas a avaliação ultrassonográfica do sistema urinário de todos animais. O Cloreto de Amônio foi administrado por via oral diariamente, baseado no peso e no grupo estudado, diluído em cerca de 20 ml de água destilada. Os animais do GC recebiam 20 ml de água destilada somente.

A alimentação consistiu em ração total para ovinos composta de 90,71% de matéria seca, fornecida diariamente pela manhã em 0,5m de cocho/animal. Não foi fornecido sal mineral. A água era fornecida em dois cochos, ad libitum, sendo proveniente da empresa SAMAR (Soluções Ambientais de Araçatuba).

A ração foi amostrada conforme orientação da empresa de análise (ARASOLO – www.arasolo.com.br) e submetida a análise bromatológica, sendo caracterizada pelos seguintes níveis em matéria seca (MS): 16,19% de proteína bruta, 3,27% de extrato etéreo, 15,67% de fibra bruta e 5,87% de minerais. Foram realizadas análise dos minerais da ração total utilizada no experimento. As dosagens de cálcio e fósforo foram de 12900 ppm e 2400 ppm de MS,

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

Grupos experimentais e protocolo experimental. Os Grupos experimentais (G200, G500 e GC) foram avaliados quanto à incidência de urolitíase durante todo o experimento de acordo com o protocolo abaixo, divididos em momentos (M):

- M1 imediatamente antes do início da ingestão de Cloreto de Amônio (14 dias de confinamento);
- M2 7 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (21 dias de confinamento);
- M3 14 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (28 dias de confinamento);
- M4 21 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (35 dias de confinamento);
- M5 28 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (42 dias de confinamento);
- M6 35 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (49 dias de confinamento);
- M7 42 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (56 dias de confinamento);
- M8 49 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (63 dias de confinamento);
- M9 56 dias de ingestão de Cloreto de Amônio nos grupos G200 e G500 (70 dias de confinamento).

Procedia-se à avaliação clínica [Temperatura Retal (TR), Movimento Ruminal (MR), Frequência Cardíaca (FC) e Frequência Respiratória (FR)], laboratorial (sangue e urina) e ultrassonográfica semanal, sempre no período de 7 a 9h da manhã.

Colheita de amostras

Urinálise. A colheita de urina semanal foi obtida através de micção natural ou forçada, interrompendo-se a respiração com oclusão das narinas durante 10 a 20 segundos, conforme descrito por Garcia-Navarro (2005). As amostras foram acondicionadas em frascos estéreis, armazenadas em refrigeração de 4-8°C e encaminhadas imediatamente ao laboratório, logo após a sua coleta para avaliação.

Foram avaliados volume (mL), cor, odor, aspecto, densidade, pH, proteínas, glicose, acetona, urobilinogênio, sangue oculto e sais biliares através de fita reagente (Combur Test®, Roche Diagnóstica Brasil Ltda. São Paulo-SP, Brasil). A urina foi centrifugada (5 mL) a 7000 xG por cinco minutos, desprezando o sobrenadante, restando 0,5 mL de urina para análise do sedimento, incluindo identificação de células do trato urinário, hemácias e leucócitos, além de cilindros, cristais, bactérias, espermatozoides e muco, através de microscopia ótica comum, com aumento de 400 vezes. Hemogasometria. Para o exame hemogasométrico foi colhido, semanalmente, 1mL de sangue da veia jugular, em seringa de polietileno previamente heparinizada (Monovette 2ml LH, Sarstedt AG & Co. Gertmany.), acoplada a uma agulha 25 x 7mm (sistema de luer lock), vedada com borracha, armazenada a 4-8°C e levado imediatamente para avaliação hemogasométrica automática no laboratório, com aparelho calibrado a 39ºC (Radiometer ABL 800 Basic, Blood gas analyzer, Radiometer, Denmark). Foram mensurados os valores de PO2, PCO2, pH, HCO-3, TCO2, SO2 e EB. Bioquímica sérica. Para o exame bioquímico de concentração sérica de ureia e creatinina colheramse amostras de sangue da veia jugular em tubos sem anticoagulante, com vácuo e gel ativador de coágulo (Serum gel Z/4.9 ml, Monovette, Sarstedt AG & Co. Germany.), com agulha 25X7 mm, nos diferentes momentos.

As amostras foram centrifugadas a 2.000 x G por 10 minutos e analisados automaticamente para a determinação da concentração de ureia e creatinina, através de métodos enzimático-colorimétrico, para a determinação da concentração de ureia e método cinético-colorimétrico, para creatinina, com leitura em espectrofotômetro (LABMAX 240, LABTEST Diagnóstica, São Paulo).

Líquido Ruminal. Como houve o óbito de um animal do G500 durante o estudo por enterite e pneumonia no M7, foi levantada a possibilidade de alteração do pH do líquido ruminal pela utilização

do cloreto de amônio como etiologia. Dessa forma, foi colhida uma única amostra do líquido ruminal para análise do pH, utilizando peagâmetro portátil, pela manhã, antes da administração do Cloreto de Amônio, através da passagem de uma sonda via oral até o rúmen do animal e aspirado o líquido ruminal e comparados os 3 grupos no Momento 9 (M9).

Exame Ultrassonográfico. Foi utilizado aparelho de ultrassom portátil (DP-2200 Vet Mindray) com transdutor convexo e frequência de 5,0 MHz, em maca veterinária. Após a contenção manual, em decúbito contralateral ao rim avaliado, assumindo posição dorsal quando da avaliação da bexiga e o com os membros pélvicos abduzidos (Scott et al, 2013). Caso houvesse suspeita de obstrução uretral, está também seria avaliada. Utilizou-se gel condutor no transdutor para melhor avaliação. As imagens foram gravadas e analisadas no momento do procedimento e reavaliadas posteriormente de forma rigorosa.

Necropsia dos animais. Os animais foram amostrados aleatoriamente, em número de três animais de cada grupo e necropsiados após o período de estudo, interessando o trato urinário, nos três grupos.

Análise Estatística. Os dados do exame físico, urinálise, hemogasometria e bioquímica sérica foram analisados pelo Software Action 2.7(Portal Action – Estaticamp), com nível de significância de 5% (p<0.05).

As variáveis contínuas foram analisadas pelo teste de Kruskal-Wallis para identificar diferenças entre os grupos dentro do mesmo momento de colheita (M) e, quando houvesse diferença estatisticamente significativa, verificada através do teste post-hoc de Dunn. As medianas foram avaliadas pelo teste de Friedman ao longo dos nove momentos (M1 a M9). Foram elas:

- Exame físico: Temperatura Retal (TR), Movimento Ruminal (MR), Frequência Cardíaca (FC) e Frequência Respiratória (FR).
 - Urinálise: volume, densidade e pH;
 - Hemogasometria: PCO2, pH, HCO-3, TCO2, EB
 - Bioquímica sérica: ureia, creatinina;

As variáveis categóricas foram avaliadas pelo teste do Qui-quadrado:

- Urinálise: cor, aspecto, proteína, sangue; bactérias, cristais, cilindros, muco, hemácias e leucócitos. Para os achados ultrassonográficos utilizamos apenas análise descritiva.

Aspectos Éticos. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP de Araçatuba, processo FOA no. 2015-00635 – CEUA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pH urinário é extremamente importante na indução ou na proteção da urolítiase. Quando alcalino, pode favorecer a formação de cálculos de carbonato, fosfato amorfo ou fosfato de cálcio (apatita) e fosfato triplo amônio magnesiano (estruvita), sendo estes os mais frequentes, principalmente pela dieta de animais em sistema de manejo intensivo, que são ricas em grãos que contém magnésio e fósforo. (Radostits et al., 2002). No G500 houve acidificação urinária com a administração do Cloreto de Amônio a partir do M7, diferentemente dos outros grupos que mantiveram-se com pH básico. Não houve diferença estatística entre os grupos no mesmo momento, ocorrendo, porém, diferença entre os momentos principalmente no G500 (QUADRO 1).

Não houve alteração no exame físico dos animais que receberam ou não o Cloreto de Amônio, demonstrando segurança na sua administração até a dosagem de 500 mg/Kg/PV por dia, havendo poucas diferenças entre os momentos dentro do mesmo grupo.

Nos estudos de Ferreira et al. (2014) foi administrada uma dose de 400 mg/Kg/PV na ração, apresentando diminuição do pH da urina a partir do segundo dia, porém devendo-se ressaltar que a administração foi na ração, diferentemente do nosso estudo, que foi individual e diariamente por via oral, sem que houvesse dúvida da quantidade administrada por animal, devido a variações individuais de peso e ingestão da ração. Outro estudo porém, testou as doses de 200, 400 e 500 mg/Kg/dia por via oral em 8 caprinos, não ocorrendo acidose metabólica ou impalatabilidade (Mavangira et al., 2010). A dose de 200 mg/Kg/dia não acidificou a urina; a dose de 400 mg/Kg/dia promoveu urina ácida, porém por um período menor que 20 h e a dose maior mostrou-se efetiva por mais de 30 horas, concluindo dessa forma que a dose ideal deva estar entre 400-500 mg/Kg/dia, corroborando nossos estudos

Não foi administrado sal mineral nos animais para que não houvesse alterações da urina por outro sal que não o cloreto de amônio, como observado nos estudos de Ferreira et al. (2014), cujos

animais já iniciaram com pH ácido. O sal mineral contido na dieta, quando utilizado, deve ser aumentado gradualmente para estimular a ingestão de água e o aumento do volume urinário e ser misturado à ração, sendo limitado a cerca 3-5% da matéria seca diária (Stratton-Phelps & House, 2004). Outros estudos, porém, sugerem que o sal mineral não seja suplementado, para que não haja alteração do pH urinário e litogênese (Riet-Correia et al., 2008).

Como alternativa à suplementação do cloreto de sódio, principal componente do sal mineral, o Cloreto de Amônio pode ser utilizado na quantia de 0,5-1% de matéria seca diária, levando a redução do pH, tornando minerais calculogênicos mais solúveis na urina, através da promoção de uma dieta aniônica (Straton-Phelps & House, 2004). O Cloreto de Amônio é convertido em ureia e ácido clorídrico no fígado, levando a uma maior liberação de íons H+ na corrente sanguínea, sendo excretado nos túbulos renais. A acidemia é compensada dessa forma pelo efeito tampão do bicarbonato sérico, levando a formação de um ácido instável (ácido carbônico), que se dissocia em gás carbônico, sendo expelido pela respiração e formando água. O cloreto restante e a ureia provocam acidúria, aumento da ingestão de água e diurese osmótica, sendo eliminado na forma de cloreto de sódio (Smith, 1994; Pugh, 2002).

Animais de manejo extensivo que se alimentam de plantas ricas em oxalato e sílica, podem predispor a formação de cálculos dessas substâncias (Stewart et al., 1991). Esses autores estudando o uso do Cloreto de Amônio na dieta de ruminantes, observaram que no grupo com suplementação de 1% do peso vivo (PV) na dieta ou mesmo naquele com suplementação adicional de cálcio, não apresentou urolitíase, concluindo que o Cloreto de Amônio funciona como fator protetor, em conjunto com uma associação adequada de Ca:P na proporção de 2:1. Nosso estudo apresentou uma proporção de Ca:P de 5:1, porém sem evidência de litíase durante o estudo.

Os cristais não apresentaram diferença significativa no presente estudo (QUADRO 2). A presença e o tipo de cristais, bem como a interferência do meio urinário (ácido ou alcalino) podem determinar a formação de litíase (Garcia-Navarro, 2005). Nesse aspecto, a dieta principalmente rica em proteínas e sal podem influenciar o tipo de cálculo. Os cálculos de estruvita são o tipo mais comum em ovinos, principalmente devido ao pH alcalino, seguido dos cristais de carbonatos e silicatos (Araújo et al., 2009). Neste estudo, houve uma predominância nos primeiros momentos deste tipo de cristais, sendo substituídos no final do estudo pelos de uratos G500 e pelos de Fosfato Amorfo nos outros grupos (FIGURA 1). Outro estudo (Ferreira et al., 2014) obteve 27% de cristais ao longo dos momentos no GC e 8% no grupo Cloreto de Amônio, concluindo que o Cloreto de Amônio apresenta efeito protetor na formação de cristais, por diminuição da porcentagem no grupo de estudo, apesar da presença de cristais em todos os grupos. Outros autores porém (Mavangira et al., 2010), não encontraram associação entre a suplementação de cloreto de amônio e a presença de cristalúria, porém observaram maior quantidade de cristais (fosfato triplo e oxalato de cálcio) em animais que não receberam o Cloreto de Amônio.

Dietas ricas em proteína (>20% PB), podem levar a sobrecarga renal e proteinúria. Nossa dieta apresentava cerca de 16,19% de PB, dificultando essa ocorrência. Além disso, o ganho médio de peso manteve-se dentro da normalidade (FIGURA 2) entre os grupos, sem diferença estatisticamente significativa, demonstrando que a utilização de uma dieta balanceada com ou sem o uso do Cloreto de Amônio não interfere no ganho de peso. Nossos estudos corroboram o de Ferreira et al. (2014), demonstrando que o uso de Cloreto de Amônio não interferiu no desenvolvimento dos animais, com média de ingestão de ração foi de 1,15 Kg/d/animal, semelhante àqueles (1,2 Kg/d/animal).

Todos os parâmetros hemogasométrico analisados (PCO2, pH, HCO-3, TCO2, EB) mostraram-se sem diferença estatística entre os grupos, mantendo-se diferente em alguns momentos dentro do mesmo grupo (G200 e G500), porém sem estar fora da faixa de normalidade para ovinos, segundo Ortolani (2003). Mavangira et al. (2010) e Jones et al. (2009) demonstraram acidificação urinária nos animais avaliados, sem porém apresentar acidose metabólica, concordando com nossos estudos. Já Ferreira et al. (2014) demonstraram acidose metabólica compensada no grupo em uso do Cloreto de Amônio com dose de 400 mg/Kg/dia na ração. Isso deve ter ocorrido devido à utilização de dieta hiperproteica, sal mineral e desbalanço Ca:P na dieta, já que seus animais já iniciaram o estudo com pH ácido, o que é incomum para ovinos, ocorrendo acidúria intensa. Deve-se evitar acidificação urinária excessiva pelo risco de diminuição da ingestão de ração e o risco de acidose metabólica, conforme descrito por Singh et al. (2007), Las et al. (2007) e MacLeay et al. (2004).

A acidose lática rumenal pode levar a acidose metabólica, sendo caracterizada pela diminuição do pH e HCO-3 (Kaneko, 2008). Como houve o óbito de um animal do G500 durante o

estudo por enterite e pneumonia no M7, foi levantada a possibilidade de alteração do pH do líquido ruminal pela utilização do cloreto de amônio como causa. Dessa forma, foi colhida uma única amostra do líquido ruminal para análise do pH, utilizando peagâmetro portátil, pela manhã, antes da administração do Cloreto de Amônio, através da passagem de uma sonda via oral até o rúmen do animal e aspirado o líquido ruminal e comparados os 3 grupos no Momento 9 (M9) (QUADRO 3). Não houve alterações estatisticamente significativas no líquido ruminal, demonstrando a segurança com relação à administração de até 500 mg/Kg/PV ao dia.

As concentrações de ureia mantiveram-se um pouco acima dos limites de normalidade definido para ovinos (Kaneko, 2008), porém sem diferença entre os grupos de estudo, somente com diferença entre os momentos dentro do mesmo grupo, principalmente os momentos M3 e M4 no G200 e G500 (QUADRO 4). Apesar disso, nenhum animal apresentou sinais de Síndrome Urêmica, devendo ser devido relacionado ao clima quente. Nossos achados corroboram os estudos de Ferreira et al. (2014), que apresentaram um valor um pouco mais elevado dos níveis de ureia, sem sintomatologia nos animais em nenhum dos grupos. Streeter et al. (2001) também constataram aumento de creatinina (3,9mg/dL) em caprino de três meses de idade com urolitíase obstrutiva.

Os valores de creatinina encontrados ficaram abaixo dos valores referenciados como normal (Kaneko, 2008) (QUADRO 5). Apesar disso, não houve diferença estatisticamente significante entre os grupos, havendo apenas variações dentro do mesmo grupo de estudo, sem significado clínico, como encontrado por Ferreira et al. (2014) e Lima et al. (2015). A creatinina é um marcador mais fidedigno de insuficiência renal quando comparado à ureia, porém encontra-se alterada apenas quando mais da metade dos néfrons estão comprometidos (Garcia-Navarro, 2005). Quando há obstrução urinária baixa, ou mesmo obstrução urinária alta bilateral, observa-se elevação dos níveis de ureia e creatinina, algo que não houve durante o presente estudo. As análises de ambos permitem excluir disfunções renais durante o experimento, algo já esperado, pois não houve sinais de urolitíase.

No presente estudo não encontramos evidência de litíase ou suas complicações em nenhum dos Grupos no exame ultrassonográfico, provavelmente devido a ração balanceada e ausência de suplementação de sal mineral. Foram obtidas imagens dos rins e vias urinárias, encontrando-se dentro da normalidade, como proposto por Scott et al. (2013). Ferreira et al. (2014) encontraram cálculos e sedimentos vesicais, dilatação de pelve renal e espessamento vesical.

O exame necroscópico do sistema urinário dos ovinos dos três grupos não evidenciou litíase ou suas complicações, diferentemente de Ferreira et al. (2014) que demonstraram nefrolitíase, hidronefrose, perda da definição córtico-medular e hemorragia renal, porém com maior frequência no Grupo Controle, em comparação aos grupos de estudo, pelo provável efeito protetor do Cloreto de Amônio na litogênese. Talvez isso possa ser explicado pelo uso do sal mineral, dosagem menor e não individualizada do Cloreto de Amônio e dieta hiperproteica utilizados nos estudos daquele autor.

CONCLUSÕES

A acidificação urinária foi obtida e mantida com a dose de 500 mg/Kg/PV, principalmente após M7, quando comparada ao grupo controle e à dose de 200 mg/Kg/PV. Não houve alterações ao exame físico, dosagem de ureia e creatinina e na hemogasometria, demonstrando a segurança da dose estudada. O modelo experimental não levou à produção de urólitos, como obtido anteriormente por Ferreira et al. (2014).

AGRADECIMENTOS

À FMVA/UNESP, Araçatuba-SP, pela estrutura física e pelos equipamentos utilizados na realização do experimento.

REFERÊNCIAS

- 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.
- 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. 2014. Efeito da suplementação de cloreto de amônio sobre o equilíbrio ácidobásico e o pH urinário de ovinos confinados. Pesquisa Veterinária Brasileira 34(8):797-804.
- Garcia-Navarro, C.E.K. Manual de Urinálise Veterinária. São Paulo: Varela, 2005, 95p.
- Guimarães, J.A.; Mendonça, C.L.; Guaraná, E.L.S.; Dantas, A.C.; Costa, N.A.; Câmara, A.C.L.; Farias, C.C.; Afonso, J.A.B. 2012. Estudo retrospectivo de 66 casos de urolitíase obstrutiva em ovinos. Pesq. Vet. Bras. v.32, p.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. AJVR, v.70, n.1, p. 149-155.

- Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. Clinical biochemistry of domestic animals. 6.ed. San Diego: Academic, 2008. 916p.
- Las, J.E., Odongo, N.E., Lindinger, M.I., Alzahal, O., Shoveller, A.K., Matthews, J.C., McBride, B.W. 2007. Effects of dietary strong and anion challenge on regulation of acid-base balance in sheep. J. Anim. Sci. v.85, p. 2222-2229.
- Lima, M.B.; Monteiro, M.V.B.; Jorge, E.M.; Campello, C.C.; Rodrigues, L.F.S.; Viana, R.B.; Monteiro, F.O.B.; Costa, C.T.C. Intervalos de referência sanguíneos e a influência da idade e sexo sobre parâmetros hematológicos e bioquímicos de ovinos da raça Santa Inês criados na Amazônia Oriental. Acta Amazonica, 45(3), 317-322, 2015.
- Loretti, A.P.; Oliveira, L.O.; Cruz, C.E.F.; Driemeier, D. 2003. Clinical and pathological study of an outbreak of obstructive utolithiasis in feedlot cattle in southern Brazil. Pesq. Vet. Bras, v.23 n.2 p. 61-64.
- MaCLeay, J.M., Olson J.D., Enns, R.M. et al.,.. 2004. Dietary-induced metabolic acidosis decreases bone mineral density in mature ovariectomized ewes. Calcif Tissue Int. p 431-7.
- Mavangira, V., Cornish, J.M., Angelos, J.A. 2010. Effect os ammonium chloride supplementation on urine pH and urinary fractional excretion of electrolytes in goats. J. Am. Vet. Med. Ass., v.237, p. 1299-1304.
- Ortolani, E.L. Diagnóstico e tratamento de alterações ácido-básicas em ruminantes. In: Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária do Rio Grande do Sul, p.15-29, 2003.
- Pugh DG. Lower urinary tract problems. 2002. In: Pugh DG, ed. Sheep ang Goat Medicine. Philadelphia: Saunders p 267-76.
- Radostits, O.M.; Gay, C.C.; Blood, D.C.; Hinchcliff, K.W. 2002. Clínica veterinária um tratado de doenças em bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos. 9ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1737 p.
- Riet-Correa, F.; Simões, S.V.D.; Vasconcelos, J.S. 2008. Urolitíase em caprinos e ovinos. Pesq. Vet. Bras, v.28, n.6, p. 319-322.
- Scott, P. 2013. Transabdominal Ultrasonographic Examination of 26 Sheep with suspected urinary tract disease. J. Vet. Sci. Med. Diagn. V.2, p.1-5.
- Singh, T.; Amarpal, A.; Kinjavdekar, P.; Aithal, H.P.; Pawde, A.M.; Pratap, K. 2007. Blood acid-base and electrolyte changes following oral administration of ammonium chloride in goats suffering from obstructive urolithiasis. Indian J Anim Sci. v.77, p.745–748.
- Smith MC. Obstructive urolithiasis. 1994. In Smith MC, Sherman DM, eds. Goat Medicine. Philadelphia: Lea & Febiger, p 398-402.
- Stewart, S.R.; Emerick, R.J.; Pritchard, R.H. 1990. High dietary calcium to phosporus ratio and álcaliforming potential as factors promoting sílica urolithiasis in sheep. J Anim Sci, v.68, p. 498-503.
- Stewart, S.R.; Emerick, R.J.; Pritchard, R.H. 1991. Effects of dietary ammonium chloride and variations in calcium to phosphorus ratio on sílica urolithiasis in sheep. J Anim Sci, v.69, p. 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. AJVR. V.65, n.10, p. 1391-1397.
- Van Metre, D.C.; Fubini, S.L. 2006. Ovine and Caprine Urolithiasis. Another Piece of the Puzzle Veterinary Surgery. Veterinary Surgery. v.35, p.413–416.
- Van Metre, D.C.; Divers, T. J. Urolitíase. 2006. In: SMITH, B. P. Medicina interna de grandes animais. 3.ed. Barueri: Manole, p.853-860.

Quadros

QUADRO 1. Médias (*m*), desvios-padrão (*s*) e medianas (*md*) do pH urinário de ovinos durante os momentos (M) nos grupos experimentais (GC, G200 e G500).

	GC (n=5)		G200 (n=10)		G500 (n=10)	
	$m \pm s$	Md	$m \pm s$	Md	$m \pm s$	Md
M1	9.0 ± 0.00	9,0 ^{Aa}	8,7 ± 0,95	9,0 ^{BCa}	8,6 ± 1,26	9,0 ^{BCDEa}
M2	8,5 ± 1,11	9,0 ^{Aa}	$8,1 \pm 1,00$	8,0 ^{Aa}	7.0 ± 1.70	6,8 ^{BFKLQa}
M 3	9.0 ± 0.00	9,0 ^{Aa}	9.0 ± 0.00	9,0 ^{DEa}	8,5 ± 1,30	9,0 ^{FGHIJKa}
M4	9.0 ± 0.00	9,0 ^{Aa}	$6,3 \pm 1,70$	5,5 ^{BDFGa}	6,3 ± 1,49	6,0 ^{AGPUVa}
M5	9.0 ± 0.00	9,0 ^{Aa}	$8,7 \pm 0,90$	9,0 ^{FHa}	8,6 ± 1,30	9,0 ^{LMNOUa}
M6	9.0 ± 0.00	9,0 ^{Aa}	9.0 ± 0.00	9,0 ^{GIa}	$8,3 \pm 1,49$	9,0 ^{PQRSTVa}
M7	$8,1 \pm 0,41$	8,0 ^{Aa}	$8,2 \pm 0,35$	8,5 ^{Aa}	6,6 ± 1,05	6,2 ^{CHMRa}
M8	$8,1 \pm 0,22$	8,0 ^{Aa}	$7,4 \pm 0,95$	7,7 ^{CEHIa}	$6,2 \pm 1,06$	6,0 ^{DINSa}
M9	$8,7 \pm 0,62$	9,0 ^{Aa}	$8,5 \pm 0,54$	9,0 ^{Aa}	$6,3 \pm 1,80$	5,0 ^{EJOTa}

^{abc} Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo

QUADRO 2. Contagem de cristais das amostras de urina dos ovinos nos grupos experimentais (GC, G200 e G500) nos diferentes momentos (M) de colheita.

	G(C (n=	=5)	G200) (n:	=10)	G500) (n	=10)	
	0	1	2	0	1	2	0	1	2	
M1	5	0	0	8	1	1	8	1	1	
M2	3	0	2	7	1	2	6	1	3	
M3	5	0	0	10	0	0	10	0	0	
M4	5	0	0	10	0	0	10	0	0	
M5	5	0	0	8	1	1	8	1	1	
M6	5	0	0	10	0	0	10	0	0	
M7	0	1	4	0	5	5	0	4	6	
M8	1	1	3	7	2	1	4	1	4	
M9	4	0	1	10	0	0	9	0	0	

Ausentes (0); Raros (1); Frequentes (2).

QUADRO 3. Valores do pH do líquido ruminal coletados no M9 nos grupos experimentais (GC, G200 e G500) de todos os animais.

	GC (n=5)		G200 (n=10)		G500 (n=10)		
	$m \pm s$	Md	$m \pm s$	Md	$m \pm s$	Md	
M9	6.8 ± 0.44	7,0 ^{Aa}	6,5 ± 0,52	6,5 ^{Aa}	$6,22 \pm 0,44$	6,00 ^{Aa}	

^{abc} Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo

^{a,b} Diferença estatística (p<0,05) dentro do momento pelo Teste Qui-Quadrado.

QUADRO 4. Médias (*m*), desvios-padrão (*s*) e medianas (*md*) da concentração sérica de ureia (mg/dL) sérica de ovinos, nos diferentes momentos de colheita nos grupos experimentais (GC, G200 e G500).

	GC (n=5)		G200 (n=10)		G500 (n=10)	
	m ± s	Md	m ± s	Md	m ± s	Md
M1	44,2 ± 5,89	41,0 ^{Aa}	40,3 ± 12,73	39,0 ^{Ba}	40,2 ± 5,31	39,5 ^{Aa}
M2	49,4 ± 8,38	49,0 ^{Aa}	49,9 ± 12,06	49,5 ^{Aa}	$40,2 \pm 6,12$	41,5Ba
M3	56,8 ± 8,10	$60,0^{\mathrm{Ba}}$	58,5 ± 9,36	55,5 ^{BCDa}	51,7 ± 7,34	51,0 ^{BCDa}
M4	35,0 ± 7,87	$37,0^{\text{Ba}}$	$34,1 \pm 8,03$	32,0 ^{CEFGHa}	$31,0 \pm 6,32$	31,5 ^{CEFa}
M5	42,4 ± 5,89	41,0 ^{Aa}	52,3 ± 16,02	48,5 ^{Ea}	$46,7 \pm 6,03$	$47,5^{Ea}$
M6	46,4 ± 6,18	45,0 ^{Aa}	51,6 ± 6,83	49,5 ^{Fa}	$46,3 \pm 6,58$	47,0 ^{Fa}
M7	45,2 ± 4,54	$47,0^{Aa}$	$47,2 \pm 8,68$	45,6 ^{Da}	$42,1 \pm 3,90$	43,0 ^{Da}
M8	46,6 ± 6,18	47,0 ^{Aa}	53,8 ± 8,39	49,0 ^{Ga}	41,7 ± 3,86	44,0 ^{Aa}
M9	47,4 ± 10,54	44,0 ^{Aa}	57,5 ± 20,46	70,0 ^{Ha}	48,5 ± 5,75	48,0 ^{Aa}

^{abc} Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo

QUADRO 5. Médias (*m*), desvios-padrão (*s*) e medianas (*md*) da concentração sérica de creatinina (mg/dL) sérica de ovinos, nos diferentes momentos de colheita nos grupos experimentais (GC, G200 e G500).

	GC (n=5)		G200 (n=10)		G500 (n=10)	
	m ± s	Md	m ± s	Md	m ± s	Md
M1	$0,71 \pm 0,14$	0,76 ^{BCa}	0,76 ± 0,09	0,75 ^{BCDa}	0,70 ± 0,07	$0,72^{\mathrm{BCDa}}$
M2	$0,63 \pm 0,08$	0,63 ^{Aa}	0.70 ± 0.09	0.67^{EFa}	$0,64 \pm 0,06$	$0,64^{Ea}$
M3	$0,51 \pm 0,06$	0,52 ^{Aa}	$0,60 \pm 0,13$	0.60^{BGa}	0,55 ± 0,06	0,56 ^{Fa}
M4	$0,73 \pm 0,11$	$0,71^{\mathrm{DEa}}$	0.80 ± 0.09	0,79 ^{GHIJa}	$0,73 \pm 0,06$	0.74^{BFGHa}
M5	$0,41 \pm 0,06$	$0,41^{\mathrm{BDa}}$	$0,48 \pm 0,09$	0,49 ^{CEHILa}	$0,43 \pm 0,06$	0,43 ^{CEGIa}
M6	$0,48 \pm 0,04$	0,51 ^{CEa}	$0,56 \pm 0,10$	0.56^{DFIa}	0,57 ± 0,03	0.57^{DHa}
M7	0.57 ± 0.07	$0,59^{Aa}$	$0,64 \pm 0,09$	0,64 ^{CJa}	$0,60 \pm 0,04$	0,61 ^{Aa}
M8	$0,61 \pm 0,07$	0,62 ^{Aa}	$0,69 \pm 0,08$	$0,68^{Ka}$	$0,63 \pm 0,09$	0,64 ^{Aa}
M9	0.63 ± 0.07	0,63 ^{Aa}	$0,69 \pm 0,10$	$0,71^{\mathrm{La}}$	$0,68 \pm 0,03$	0,68 ^{Ia}

^{abc} Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os grupos em cada momento. ^{ABC} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os momentos em cada grupo

FIGURA 1. Variação do tipo de cristais urinários ao longo dos momentos (M) no GC, G200 e G500 (Legenda: AU – ácido úrico, E – Estruvita, FA – Fosfato Amorfo, OL – Oxalato).

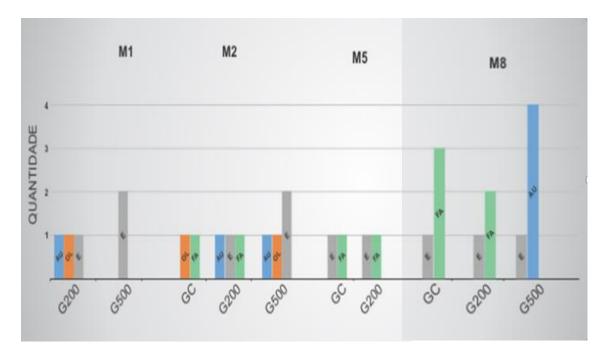
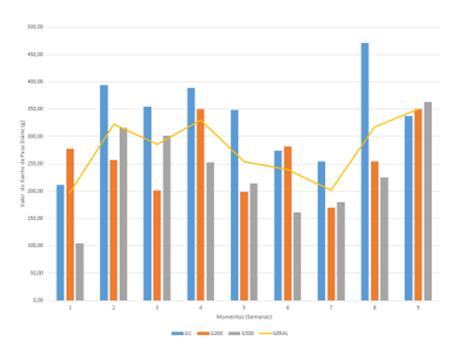


FIGURA 2. Ganho de Peso médio diário (g) ao longo dos momentos (Semanas) avaliados em ovinos nos GC, G200, G500 e média geral.



Trabalho a ser enviado para Pesquisa Veterinária Brasileira.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES Os artigos devem ser submetidos através do Sistema Scholar One, link, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word e formatados de acordo com o modelo de apresentação disponíveis no ato de submissão e no site da revista (www.pvb. com.br). Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outro periódico. Apesar de não serem aceitas comunicações (Short communications) sob a forma de "Notas Científicas", não há limite mínimo do número de páginas do artigo enviado. Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos artigos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os artigos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (peer review). NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista é cobrada taxa de publicação (paper charge) no valor de R\$ 2.000,00 por artigo editorado, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência. 1. Os artigos devem ser organizados em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS. DISCUSSÃO, CONCLUSÕES, Agradecimentos e REFERÊNCIAS: a) o Título deve ser conciso e indicar o conteúdo do artigo; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS. b) O(s) Autor(es) deve(m) sistematicamente abreviar seus nomes quando compridos, mas mantendo o primeiro nome e o último sobrenome por extenso, como por exemplo: Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto (inverso, Peixoto P.V.); Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa (inverso, Riet-Correa F.). Os artigos devem ter no máximo 8 (oito) autores; c) o ABSTRACT deve ser uma versão do RESUMO em português, podendo ser mais explicativo, seguido de "INDEX TERMS" que incluem palavras do título; d) o RESUMO deve conter o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões, seguido dos "TERMOS DE INDEXAÇÃO" que incluem palavras do título; 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 artigo; f) em MATERIAL E MÉTODOS devem ser reunidos os dados que permitam a repetição da experimentação por outros pesquisadores. Em experimentos 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 (em vez de Tabelas) devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente 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 artigos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los; i) as CONCLUSÕES devem basear-se somente nos resultados apresentados; 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 artigo e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabetica e cronologicamente, pelo sobrenome do primeiro autor, seguido dos demais autores (todos), em caixa alta e baixa, do ano, do título da publicação citada, e, abreviado (por extenso em casos de dúvida), o nome do periódico ou obra, usando sempre como exemplo os últimos fascículos da revista (www.pvb.com.br). 2. Na elaboração do texto devem ser atendidas as seguintes normas: a) A digitação 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 no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras e os Quadros devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Os nomes científicos devem ser escritos por extenso no início de cada capítulo. b) a redação dos artigos 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 artigo; as notas deverão ser lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo número de chamada, sem o uso do "Inserir nota de fim", do Word. Todos os Quadros e todas as Figuras têm que ser citados

no texto. Estas citações serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, em ordem crescente. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não devem conter citações bibliográficas. c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores (na língua do país dos autores), o e-mail do autor para correspondência e dos demais autores. Em sua redação deve-se usar vírgulas em vez de traços horizontais; d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no artigo, serão colocadas entre parênteses, após o nome da instituição por extenso; e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema "autor e ano"; artigos de até dois autores serão citados pelos nomes dos dois, e com mais de dois, pelo nome do primeiro, seguido de "et al.,..", mais o ano; se dois artigos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano. Artigos 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 artigo 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 artigos colocados cronologicamente entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano, como por exemplo: (Priester & Haves 1974, Lemos et al.,.. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007); f) a Lista das REFERÊNCIAS deverá ser apresentada em caixa alta e baixa, 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. Os gráficos (=Figuras) 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 do gráfico (=Figura); evitar-se-á o uso de título ao alto do gráfico (=Figura). 4. As legendas explicativas das Figuras devem conter informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, independente do texto). 5. Os Quadros devem ser explicativos por si mesmos. Entre o título (em negrito) e as colunas deve vir o cabeçalho entre dois traços longos, um acima e outro abaixo. Não há traços verticais, nem fundos cinzas. 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.