

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DE SAÚDE EM
MEDICINA VETERINÁRIA**

ANTÔNIO RODRIGUES DE ARAÚJO NETO

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL
DA SAÚDE EM MEDICINA VETERINÁRIA, COM ÊNFASE EM PATOLOGIA
CLÍNICA VETERINÁRIA**

**Relação Gama-glutamil transferase: Creatinina urinária no diagnóstico de
patologias renais em caninos**

Recife/PE

2020

ANTÔNIO RODRIGUES DE ARAÚJO NETO

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL
DA SAÚDE EM MEDICINA VETERINÁRIA, COM ÊNFASE EM PATOLOGIA
CLÍNICA VETERINÁRIA**

**Relação Gama-glutamil transferase: Creatinina urinária no diagnóstico de
patologias renais em caninos**

Trabalho de Conclusão de Residência apresentada como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* no Programa de Residência Multiprofissional em Área de Saúde em Medicina Veterinária, para obtenção do título de Residente em Patologia Clínica Veterinária.

Área de Concentração: Patologia Clínica Veterinária

Tutora: Prof^ª Dr^ª Miriam Nogueira Teixeira

Preceptora: Prof^ª Dr^ª Miriam Nogueira Teixeira

Recife/PE

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A663t

Araújo Neto, Antônio Rodrigues de

Trabalho de conclusão de residência em área profissional da saúde em medicina veterinária, com ênfase em patologia clínica veterinária: Relação Gama-glutamil transferase: Creatinina urinária no diagnóstico de patologias renais em caninos / Antônio Rodrigues de Araújo Neto. - 2020.

47 f. : il.

Orientadora: Miriam Nogueira Teixeira.

Inclui referências e anexo(s).

Trabalho de Conclusão de Curso (Residência) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Residência em Área Profissional de Saúde em Medicina Veterinária, Recife, 2020.

1. doença renal. 2. bioquímica urinária. 3. cães. I. Teixeira, Miriam Nogueira, orient. II. Título

CDD 636.089

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Residência em Área Profissional da Saúde em Medicina Veterinária, com Ênfase em Patologia Clínica Veterinária

ANTÔNIO RODRIGUES DE ARAÚJO NETO

APROVADO: 04/02/2020

Profª Draª Miriam Nogueira Teixeira (Presidente da banca / Orientadora)

M. V. Msc. Paula Gabriela da Silva Cardoso (Membro da banca)

M. V. Msc. Camila Maria Coutinho Moura (Membro da banca)

M.V. M.Sc. Jéssica Cristianne Mazer Bernardi (Membro da banca / suplente)

DEDICATÓRIA

Não há dedicação certa, se não ao amor dos pais, este trabalho dedico a vocês, papai (Zenádio Alves da Silva) e mamãe (Aurenice Rodrigues da Silva) e também ao meu irmão (Pedro Alves da Silva Neto), amo vocês. Dedico também a meu avô (Pedro Alves da Silva, *in memoriam*) e a todos aqueles que participaram de algum modo desta na minha formação.

AGRADECIMENTOS

Agradecer é necessário, muitas coisas boas se passaram nesses dois anos, e sou muito grato por cada momento que passei aqui, por isso agradeço primeiramente a Deus, pois sei que tudo isso que consegui até hoje, só foi possível através de Sua permissão.

E assim, não posso deixar de agradecer meus pais (Zenádio e Aurenice), que sempre me deram apoio e que desistir nunca foi uma palavra ensinada por eles, e sim o sempre seguir em frente, “siga seus sonhos”, em suas palavras. A meu irmão (Pedro), que sempre me deu apoio em tudo, e dizendo para eu ir sempre mais além.

Agradeço também aos meus amigos mais antigos, que desde a graduação me deram o grande apoio, onde comemoraram comigo minha aprovação na residência, bem como sempre me deram o apoio a continuar, Eros, Isis, Suelen, Maycon, Ismael e Ayrton Senna, vocês não poderiam ficar de fora.

Aqui, fiz grandes amizades, em que de forma repentina houve uma conexão muito grande. Sou muito grato a meus R2's (Camila e Saul), tudo que consegui aprender aqui, foi graças a paciência deles e boa vontade de me passar todos conhecimentos, um trio em que um sempre apoiou o outro. Quantas risadas foram dadas e que tornavam os dias estressantes do trabalho mais amenos, assim, junto com eles, não posso deixar de agradecer a Luana, Carol e Anna, meu muito obrigado a vocês, vocês foram muito importante para mim, serei sempre grato pela amizade de vocês.

Agradeço aos inúmeros estagiários que passaram pelo laboratório ao longo desses dois anos, passar um pouco do que eu sei para vocês foi gratificante, mas, melhor ainda foi o que aprendi com vocês durante esse período. Com vocês vieram alguns amigos que levarei para a vida, podem contar sempre comigo, não citarei nomes para não esquecer de nenhum, mas todos vocês fazem parte dessa conquista.

Agradeço aos meus colegas de residência, o pouco dos meus conhecimentos foi graças vocês também, alguns que quero levar para a vida (Ramon, Letícia, Débora, Alessandra e Carlão). Sem deixar de agradecer especialmente as minhas colegas, melhor dizendo, amigas de apartamento (Lorena e Roberta), grandes momentos passamos juntos naquele apê, muitas histórias, muitas risadas, muitos momentos descontração a serem sempre lembrados. À minhas RI's (Natália e Vitória) que também foram peças chaves para essa minha formação, muitas coisas aprendemos juntos, espero ter cumprido meu objetivo, que mesmo com as dificuldades do laboratório, tentei repassar um pouco do que sabia para vocês.

Sou muito grato a Janaína, que em muitos momentos, um sempre foi o apoio do outro sempre com o objetivo de aprendermos juntos, e aprendi bastante com você. Assim, também agradeço bastante a minha orientadora, quantos conselhos levarei para vida, e quantos ensinamentos, sempre um puxão de orelha quando necessário, me fez chegar até aqui, sabendo pelo menos um pouco, do muito que a senhora me repassou, levarei para toda a vida.

Aqui, agradeço aos técnicos e servidores, era muito boa as conversas nos tempos livres com Erika, Alessandra e Léo, três amigos que estarão sempre comigo para onde quer que eu vá. Agradeço aos demais professores, técnicos e servidores, pois todos vocês têm um tijolinho em meio a essa formação.

Não posso deixar de agradecer ao pessoal do Distrito Sanitário III (Recife), NASF e Laboratório de Patologia Clínica Veterinária – UNESP- Jaboticabal-SP, que me acolheram nos momentos necessários, sempre se mostrando prestativos a repassar um pouco dos seus conhecimentos.

Por último, não menos especial, quero agradecer à “galera do espetin” (Laura, Raquel, Anna, Ramon, Carol, Camila, André, Manoel, entre outros), só bastava um

dizer: “espetinho”, todos corriam para lá e muita coisa boa acontecia, por lá. E que de lá veio uma pessoa especial (Laura), que durante a escrita do TCR, mesmo de longe, em seu estágio, estava sempre me dando apoio, me incentivando a terminar logo de escrever e que cada ligação dela, me dava mais forças a continuar, obrigado.

No mais, peço desculpas aos que não lembrei, mas que tiveram um dedinho de ajuda nessa formação. A todos vocês, citados aqui, direto ou indiretamente, o meu muito OBRIGADO!

“Para conquistar o sucesso, você precisa aceitar todos os desafios que vierem na sua frente. Você não pode apenas aceitar os que você preferir.”

Mike Gafka

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO I | 13 |
| 1.RELATÓRIO DE VIVÊNCIA DA RESIDÊNCIA | 13 |
| 1.1. Regulamento da residência..... | 13 |
| 1.2. Atividades desenvolvidas durante a residência..... | 14 |
| 1.3. Vivência na Saúde Pública..... | 25 |
| 1.4. Estágio Optativo..... | 29 |
| 1.5. Participação em eventos e publicações | 30 |
| REFERÊNCIAS | 31 |
| CAPÍTULO II | 32 |
| RESUMO | 33 |
| ABSTRACT | 34 |
| INTRODUÇÃO | 34 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 36 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO: | 37 |
| CONCLUSÃO | 39 |
| CONFLITO DE INTERESSE | 39 |
| AGRADECIMENTOS | 39 |
| REFERÊNCIA | 40 |
| ANEXO I | 44 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Quantitativo de exames realizados no LPCV nos anos de 2018 e 2019..... | 23 |
| Tabela 2. Relação das publicações realizadas nos anos de 2018 e 2019..... | 30 |
| Tabela 3. Valores da relação GGT: CRT urinária de caninos atendidos no Hospital Veterinário do DMV/UFRPE, com análises realizadas até 4 horas nas amostras conservadas a temperatura ambiente (GI) e com até 8 dias nas amostras conservadas a -20C (GII), valores representados em média±desvio padrão..... | 43 |

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Modelo de Procedimento Operacional Padrão (POP) para hemograma adotado no LPCV/HOVET/UFRPE. 16
- Figura 2.** A- Centrífuga Excelsa Baby II Modelo 206-r. B- Analisador Bioquímico automático Bioclin 1000 plus® utilizada no LPCV/HOVET/UFRPE. 17
- Figura 3.** A- Tiras de reagentes para urinálise Biocon10 B – Refratômetro ATC 18
- Figura 4.** Microscópios utilizados no LPCV/UFRPE para realização das leituras dos esfregaços sanguíneos e realização das demais técnicas. 21
- Figura 5.** Comparativo de exames realizados no LPCV nos anos de 2018 e 2019. Hemo – Hemograma; Comp – Teste de Compatibilidade; Bio – Bioquímicos 22
- Figura 6.** Quantitativo dos analitos analisados no LPCV durante os anos de 2018 e 2019. AST (TGO)Asparto Aminotransferase (transaminase glutâmico-oxalacética) ALT (TGP) - alanina aminotransferase (transaminase glutâmico-pirúvica) Falc – Fosfatase Alcalina; Gama GT - gamaglutamiltransferase; Prot T – Proteína Total; Alb - Albumina; B total – Bilirrubina Total; B direta – Bilirrubina direta; Col – colesterol; Trig – Triglicerídeos; Fosf – Fosforo; Mag – Magnésio; Microprot – Microproteínas 24

LISTA DE ABREVIATURAS

LPCV - Laboratório de Patologia Clínica Veterinária

HOVET – Hospital Veterinário

UFRPE – Universidade Federal Rural de Pernambuco

SUS – Sistema Único de Saúde

NaCl – Cloreto de Sódio

µL - Microlitros

mL – mililitros

UI/g – Unidade internacional por grama

PPT – Proteína Plasmática Total

Hemo - Hemograma

Comp - Compatibilidade

Bio - Bioquímico

ALT/TGP – Alanina Amino transferase/ Transaminase glutâmico-pirúvica

CIEVS – Centro de Informações Estratégicas de Vigilância em Saúde

USF – Unidade de Saúde da Família

SINAN - Sistema de Informação Nacional de Agravos de Notificação

R1 – Residente do primeiro ano

R2 – Residente do segundo ano

CAPÍTULO I

1.RELATÓRIO DE VIVÊNCIA DA RESIDÊNCIA

1.1. Regulamento da residência

As residências multiprofissionais em área profissional da saúde foram criadas pela Lei nº 11.129 de 2005 e são orientadas pelos princípios e diretrizes do Sistema Único de Saúde (SUS), a partir das necessidades e realidades locais e regionais. Abrangem as profissões da área da saúde, a saber: Biomedicina, Ciências Biológicas, Educação Física, Enfermagem, Farmácia, Fisioterapia, Fonoaudiologia, Medicina Veterinária, Nutrição, Odontologia, Psicologia, Serviço Social e Terapia Ocupacional (BRASIL, 1998).

Por meio da Portaria Interministerial nº 1077, de novembro de 2009 foi criada a Comissão Nacional de Residência Multiprofissional em Saúde - CNRMS, a qual é coordenada conjuntamente pelo Ministério da Saúde e Ministério da Educação e tem como principais atribuições: os programas de Residência Multiprofissional em Saúde e Residência em Área Profissional da Saúde de acordo com os princípios e diretrizes do SUS e que atendam as necessidades sócio epidemiológicas da população brasileira; credenciar os programas de Residência Multiprofissional em Saúde e Residência em Área Profissional da Saúde bem como as instituições habilitadas para oferecê-lo; registrar certificados de Programas de Residência Multiprofissional em Saúde e Residência em Área Profissional da Saúde, de validade nacional, com especificação de categoria e ênfase do programa (BRASIL, 2009).

O programa de residência em área de saúde em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) apresenta-se na forma de pós graduação *latu sensu*, composta por 11 áreas de concentração, com regime de tempo integral com duração de 24 meses, possui carga horária de 60 horas semanais com total de 5.760 horas, sendo dividido 1.152 horas de atividades teórico práticas e 4.608 horas de atividades práticas (UNA-SUS, 2014).

Foram ofertadas disciplinas do núcleo comum obrigatório: Metodologia científica, Bioética profissional em medicina veterinária, Bioestatística aplicada a medicina veterinária, Epidemiologia e medicina veterinária preventiva, Políticas públicas direcionadas à saúde, Seminários de conclusão de residência além de disciplinas do núcleo específico por área: Fórum de discussão em patologia clínica e Procedimentos de coleta de material para diagnóstico de doenças em animais. Foram

realizadas atividades programadas como vivência em saúde pública nos municípios de Camaragibe e Recife, seguidas de apresentações de relatório das práticas em saúde pública desenvolvidas.

1.2. Atividades desenvolvidas durante a residência

1.2.1 Laboratório de Patologia Clínica

O Laboratório de Patologia Clínica Veterinária – LPCV fica localizado dentro do Hospital Veterinário do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco – HOVET/UFRPE. É coordenado pela Prof^a Dr^a Miriam Nogueira Teixeira e atualmente é composto por uma técnica de nível superior, médica veterinária Dr^a Janaína Azevedo Guimarães, três residentes, sendo um ingresso no ano de 2018 e dois ingressos no ano de 2019; além de três monitoras da disciplina de Patologia Clínica e por estagiários de diversos períodos da graduação e de número variável.

O LPCV oferece serviços para o HOVET/UFRPE e presta apoio para projetos de pesquisas de graduandos e pós-graduandos da instituição. Os principais serviços oferecidos pelo laboratório são: Bioquímica clínica, urinálise, análise de derrames cavitários, testes de compatibilidade sanguínea, mielograma e hemograma.

Os residentes são responsáveis por toda a rotina do laboratório além de colaborarem com as aulas práticas oferecidas na graduação de disciplinas como Patologia Clínica, Fisiologia Animal, Clínica de Ruminantes e de participarem de projetos de extensão universitária.

1.2.1.1. Fluxograma das atividades exercidas

O protocolo de execução de um exame inclui diferentes etapas ou fases analíticas.

1.2.1.1.1. Fase Pré-analítica

Compreende a etapa desde a contenção do animal e obtenção da amostra, até a entrega no laboratório. As amostras destinadas ao LPCV/HOVET/UFRPE eram entregues pessoalmente, pelos clínicos e enfermeiros logo após as coletas, quando estas

chegavam no laboratório passavam por critérios de avaliação relacionado a requisitos pré-estabelecidos de controle de qualidade. Eram avaliadas as requisições dos exames quanto ao preenchimento adequado das informações essenciais para realização dos exames, acondicionamento das amostras de acordo com o exame solicitado, tempo de coleta, qualidade das amostras dentre outros fatores que poderiam influenciar diretamente nos resultados finais.

Após todos os procedimentos de avaliação e sendo considerada adequada, era dada a entrada da amostra no livro de registro. Neste registrava-se o nome do animal, espécie, tutor, exames solicitados e médico veterinário solicitante. A amostra e a solicitação recebiam um número de registro, o qual servia de identificação e acompanhamento do exame nas etapas seguintes. Esses dados eram importantes para controle do quantitativo de amostras por ano, bem como da comprovação da entrada das amostras no laboratório.

Caso a amostra fosse rejeitada, era feito o registro no livro e anotado a observação de “amostra rejeitada” seguida do motivo. Posteriormente o médico veterinário solicitante bem como a equipe de enfermeiros, eram comunicados para que fosse tomada as providencias e realizada uma nova coleta.

1.2.1.1.2 Fase analítica

Nesta fase, são realizados os processamentos analíticos de acordo com o exame solicitado. Todas as técnicas seguiram um protocolo pré-estabelecido (Procedimento Operacional Padrão- POP) (Figura 1), arquivado em fichário próprio, contendo o passo a passo na execução da técnica, referências bibliográficas e data da última atualização.

| | | | | | |
|---|--------------------------|--|-------------------------------|------------------|------------------|
|  | | PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - POP | | | Página 1 de 7 |
| Código HEM | Data Emissão FEV/2018 | Data de Vigência MARÇO/2019 | Próxima Revisão MARÇO/2019 | Versão nº 001 | |
| ASSUNTO: HEMOGRAMA | | | | | |
| OBJETIVO É objetivo deste procedimento é para estabelecer as etapas para realização do hemograma, garantindo a preservação das amostras, qualidade do exame e fidedignidade dos resultados. | | | | | |
| APLICAÇÃO Este POP aplica-se a todos os colaboradores do laboratório de patologia clínica veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco. | | | | | |
| DIVULGAÇÃO Este POP é divulgado entre todos os colaboradores do setor de Patologia Clínica Veterinária. | | | | | |

Figura 1. Modelo de Procedimento Operacional Padrão (POP) para hemograma adotado no LPCV/HOVET/UFRPE.

1.2.1.1.2.1. Bioquímica Sérica

Para as análises bioquímicas eram realizadas após a retração do coágulo as amostras eram centrifugadas (Excelsa Baby II Modelo 206-11®) (Figura 2 - A) a 3.000 rpm durante cinco minutos para separação do soro e acondicionadas em microtubos de polietileno (*ependorf*®) de 1,5mL ou de 2mL e imediatamente refrigeradas a 4 °C ou congeladas a -18 °C para serem processadas posteriormente. As alterações físicas que poderiam alterar a qualidade da amostra tais como: hemólise, lipemia e icterícia, além de características de acondicionamento como a proteção da luz – importante na análise de bilirrubina - eram reportadas na requisição e no resultado, buscando alertar o veterinário de possíveis influências nos valores obtidos devido a alterações na amostra (THRALL, 2007).

Eventualmente nesta etapa, alguma amostra poderia ser rejeitada para análise, pois após a centrifugação observava-se alterações intensas inviabilizando o teste. A informação era repassada ao veterinário solicitante e sugerida nova coleta.

Outras amostras, tais como urina e derrames cavitários também passíveis de análise bioquímica, seguiam o mesmo padrão de avaliação pós centrifugação e armazenamento, e eram submetidas à dosagem de alguns analitos tais como: proteína, gama glutamil transferase (GGT), glicose, colesterol, triglicerídeos e eletrólitos, dependendo da natureza do exame.

A diferença de armazenamento da amostra, resfriada ou congelada, se devia à logística de utilização do analisador bioquímico, o qual funcionava em dias alternados (terça-feira e quinta-feira), buscando a racionalização dos insumos tais como controle, calibrador e soluções de limpeza, o que poderia ser alterado devido à necessidade de urgência da rotina e da quantidade de amostras enviadas. O tempo para conclusão e liberação do resultado era de até 72 horas, podendo ser liberado em prazo inferior conforme a demanda. Todas as amostras eram processadas no Analisador Bioquímico Automático Bioclin 1000® (Figura 2 -B).



Figura 2. A- Centrífuga Excelsa Baby II Modelo 206-r. B- Analisador Bioquímico automático Bioclin 1000 plus® utilizada no LPCV/HOVET/UFRPE.

1.2.1.1.2.2. Urinálise

O primeiro passo do processamento da urina era a avaliação física onde eram analisadas: volume, cor, odor, aspecto e densidade urinária no refratômetro (Figura 3 - B) próxima análise a ser realizada era dos parâmetros químicos utilizando tiras reagentes para urinálise Biocon10® (Figura 3 - A) para determinação semi quantitativa e rápida de urobilinogênio, glicose, bilirrubina, cetona, sangue oculto, pH, proteína e nitrito, os resultados eram expressos em cruces, de acordo com a legenda impressa na fita com ressalva do pH (STOCKMAN; SCOTT, 2011).

Após as análises físicas e químicas, a amostra era transferida para tubo de ensaio de fundo cônico, volume de 5 mL ou em casos de volume inferior eram colocadas a sua totalidade e feito as anotações cabíveis. A amostra era centrifugada por cinco minutos na velocidade de 1.500 rpm, o sobrenadante era descartado e a amostra

restante composta por 10% do volume inicial era ressuspensa e depositada em uma lâmina de vidro com volume variando de 20 μL a 50 μL . Sobre a amostra era colocado uma lamínula e posteriormente realizada a avaliação microscópica dos elementos presentes. Estes eram quantificados por campo microscópico de grande aumento (400X), com exceção dos cilindros que eram analisados em pequeno aumento (100X) (STOCKMAN; SCOTT, 2011).

O tempo para conclusão do laudo era de 24 horas, podendo ser liberado em prazo inferior conforme a demanda da rotina ou necessidade do paciente.



Figura 3. A- Tiras de reagentes para urinalise Biocon10 B – Refratômetro ATC

1.2.1.1.2.3. Análises de derrames cavitários

Imediatamente após o registro realizava-se a confecção de lâminas (≥ 3) por squash e/ou esfregaço e/ou na cito centrífuga (Excelsa Flex 3400®). A amostra sem anticoagulante era utilizada para avaliação física e bioquímica.

A avaliação física era realizada por meio da observação visual da cor, aspecto e coagulação, e por refratometria da proteína e densidade com refratômetro clínico RHC-200 ATC® (STOCKMAN; SCOTT, 2011).

A amostra era acondicionada em tubo cônico graduado de vidro para análise física e na avaliação química eram utilizadas tiras reagentes Biocon10®. Quando solicitados testes bioquímicos específicos, o material era aliquotado e armazenado

conforme descrições acima, para processamento posterior. A amostra contendo anticoagulante era também utilizada para contagem total de células nucleadas e hemácias, por meio da técnica do hemocítmetro utilizando-se solução de Turk, 1:20 e solução fisiológica ou Gower, 1:200, respectivamente (STOCKMAN; SCOTT, 2011).

A coloração das lâminas para avaliação microscópica era feita por Corante rápido – RenyLab® e posteriormente realizada a avaliação citológica, sendo classificadas de acordo com Cowell et al. (2009). O tempo para conclusão do laudo era de 48 horas.

1.2.1.1.2.4. Teste de compatibilidade sanguínea (Prova cruzada):

As amostras do doador e receptor eram homogeneizadas e confeccionados os capilares de ambos para obtenção do hematócrito. Em seguida os tubos eram centrifugados (3000 rpm/ 5 minutos) e o plasma separado da papa de hemácia em outro frasco e devidamente identificado. Posteriormente adicionava-se 3mL de solução de NaCl 0,009% e o material era novamente centrifugado e descartado todo o sobrenadante. Essa etapa era realizada por três vezes até obter a papa de hemácia após a lavagem. As hemácias eram ressuspensas em 3mL de NaCl 0,9%, posteriormente adicionavam-se 40 µL do papa de hemácia e homogeneizava-se. Esse procedimento era realizado para a amostra do doador e para a amostra do receptor. Identificavam-se quatro lâminas de microscopia, e eram depositados 10 µl de solução de eritrócitos + 30 µl de plasma em cada lâmina: Controle doador (solução de eritrócitos do doador + plasma do doador); Prova maior (solução de eritrócitos do doador + plasma do receptor); Prova menor (solução de eritrócitos do receptor + plasma doador) e Controle receptor (solução de eritrócitos do receptor + plasma do receptor), todas eram cobertas com lamínula de vidro e incubadas em câmara úmida à temperatura ambiente durante 10 minutos (GONZÁLES; SILVA, 2006). Após decorrido esse tempo eram realizadas as avaliações microscópicas diferenciando entre aglutinação e rouleaux eritrocitário.

Após análise microscópica os resultados de cada paciente eram registrados, impressos e revisados para posterior liberação. O tempo para conclusão do laudo era de até duas horas.

1.2.1.1.2.5. Hemograma

Todas as amostras eram devidamente homogeneizadas por inversão consecutiva e suave por no mínimo 10 vezes; depois seguia-se com o preenchimento e centrifugação de tubo capilar para obtenção dos valores de hematócrito utilizando o cartão de leitura de hematócrito e/ou proteína plasmática total (PPT) utilizando o refratômetro. Para centrifugação, utilizava-se a centrífuga para micro hematócrito KHT-400® com velocidade fixa de 12.000 rpm, com ajuste do tempo conforme a espécie (5 minutos para carnívoros, aves e equídeos; 10 minutos para bovinos e 15 minutos para caprinos e ovinos) (THRALL, 2007).

Após a confecção do esfregaço de sangue em lâmina de vidro, este era seco e depois corado com Corante rápido – RenyLab® e submetido à microscopia óptica para avaliação celular e contagem diferencial de leucócitos, anotações pertinentes como presença de hemoparasitos, alterações morfológicas e quantitativas. Quando observada presença superior a 10% de metarrubricitos o valor de leucócitos era corrigido, visto que a metodologia automática não é capaz de diferenciar células nucleadas entre a série vermelha e linfócitos, conforme a fórmula (THRALL, 2007):

$$\left(\text{Valor de leucócitos corrigidos} = \frac{\text{leucócitos totais}}{100 + n^{\circ} \text{ de metarrubricitos contados}} \times 100 \right)$$

As amostras eram processadas de forma manual, pelo método do hemocítômetro utilizando a solução de Turk na proporção de 20µL de sangue/400µL de solução (1:20) e posteriormente o resultado obtido era multiplicado por 52,5 para obtenção da leucometria global e a solução de Gower na proporção de 20µL de sangue/4mL de solução (1:200) e posteriormente o resultado obtido era multiplicado por 10.050 para obtenção do quantitativo de hemácias. A obtenção do quantitativo de plaquetas era obtido através do método indireto, realizada na lâmina de microscopia contendo o esfregaço sanguíneo corado na qual contava-se 10 campos microscópicos no aumento de 1000x, posteriormente realizava-se a média e multiplicava-se por 15.000 ou 20.000 de acordo com o microscópio utilizado Olympus BX41® ocular WH10x/22 (Figura 4) e Olympus CH30 ocular NCNHK 10/18L (Figura 4) (THRALL, 2007; STOCKMAN; SCOTT, 2011).



Figura 4. Microscópios utilizados no LPCV/UFRPE para realização das leituras dos esfregaços sanguíneos e realização das demais técnicas.

1.2.1.1.3. Fase pós analítica

Nessa fase eram realizadas as conferências dos resultados, digitação dos laudos por um membro do LPCV e posteriormente um membro diferente do digitador conferia os resultados digitados. Os laudos poderiam ser encaminhados para correção ou liberados. Os resultados eram entregues na recepção do HOVET em duas vias que eram anexados a ficha do paciente e posteriormente consultadas e retiradas pelo médico veterinário responsável pelo atendimento.

1.2.1.2. Quantitativo de exames realizados

Os exames que lideraram as solicitações no ano de 2018 foram a análise de bioquímica sérica, seguido por hemograma, urinálise, análise de derrames cavitários e testes de compatibilidade sanguínea. No ano de 2019 os exames que lideraram as solicitações foram análises bioquímicas, urinálises, hemogramas, análises de derrames cavitários e testes de compatibilidade de acordo com a Figura 5.

Em comparação entre os diversos exames entre os anos de 2018 e 2019 houve um decréscimo na execução de hemogramas de 78% (Figura 1) e um decréscimo de 0,1% (Figura 1) nos testes de compatibilidade, sendo pouco solicitado na rotina da clínica veterinária tendo em vista o fato de estar relacionado com os casos de emergência. Em contrapartida houve um aumento no número de solicitações de

urinálise de 60% (Figura 1) este fato pode estar relacionado às discussões de casos clínicos e a importância do exame para o diagnóstico. Quanto a análise de líquidos cavitários houve um aumento de 29% (Figura 1) fato também agregado a discussões de casos clínicos, nos quais ressaltava-se a importância do exame para o diagnóstico. Na bioquímica sérica houve um aumento de 19% (Figura 1), o que se deu também a devido a discussão de casos clínicos e a importância de cada analito para as suspeitas clínicas.

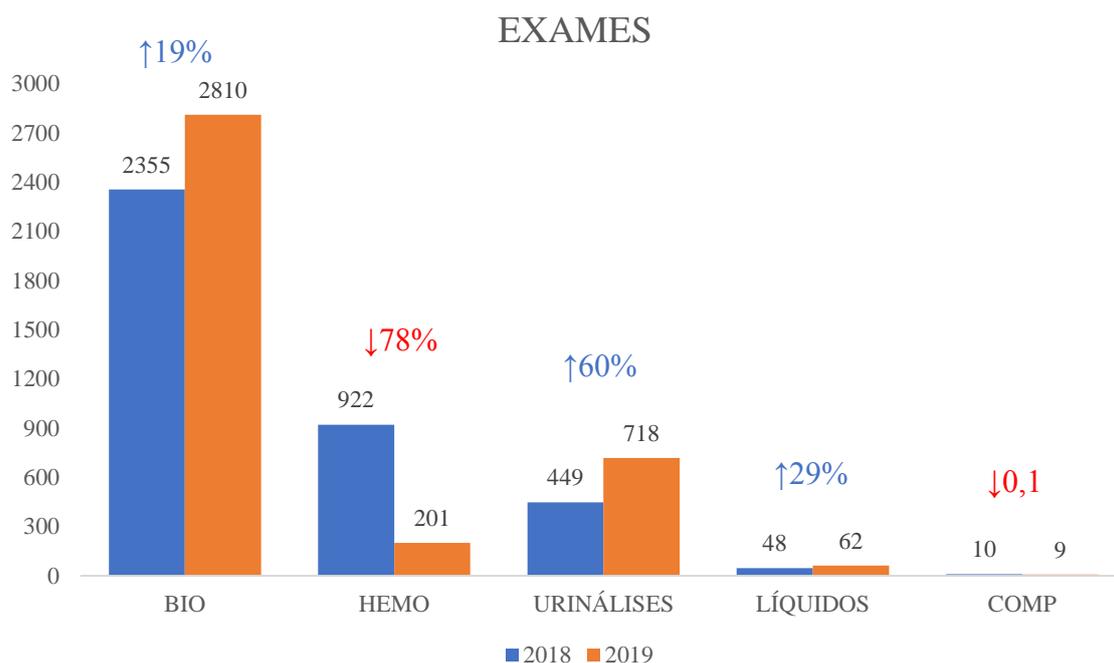


Figura 5. Comparativo de exames realizados no LPCV nos anos de 2018 e 2019. Hemo – Hemograma; Comp – Teste de Compatibilidade; Bio – Bioquímicos

Durante os dois anos de residência no LPCV a análise bioquímica foi responsável por 68,10% da totalidade dos exames solicitados, seguido de urinálises (15,39%), hemograma (14,81%), derrames cavitários (1,45%) e teste de compatibilidade (0,25%) (Figura 5 e Tabela 1).

Tabela 1. Quantitativo de exames realizados no LPCV nos anos de 2018 e 2019.

| Natureza do exame | Ano | | Total | % |
|----------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| | 2018 | 2019 | | |
| Bioquímico | 2.355 | 2.810 | 5.165 | 68,10 |
| Hematológico | 922 | 201 | 1.123 | 14,81 |
| Urinálise | 449 | 718 | 1.167 | 15,39 |
| Derrames Cavitários | 48 | 62 | 110 | 1,45 |
| Compatibilidade Sanguínea | 10 | 9 | 19 | 0,25 |
| Total | 3.784 | 3.800 | 7.584 | 100% |

Os analitos mais realizados na bioquímica sérica foram creatinina seguidos de ureia, ALT/TGP, albumina, proteína total e fosfatase alcalina conforme demonstrado no Figura 6.

TESTES BIOQUÍMICOS

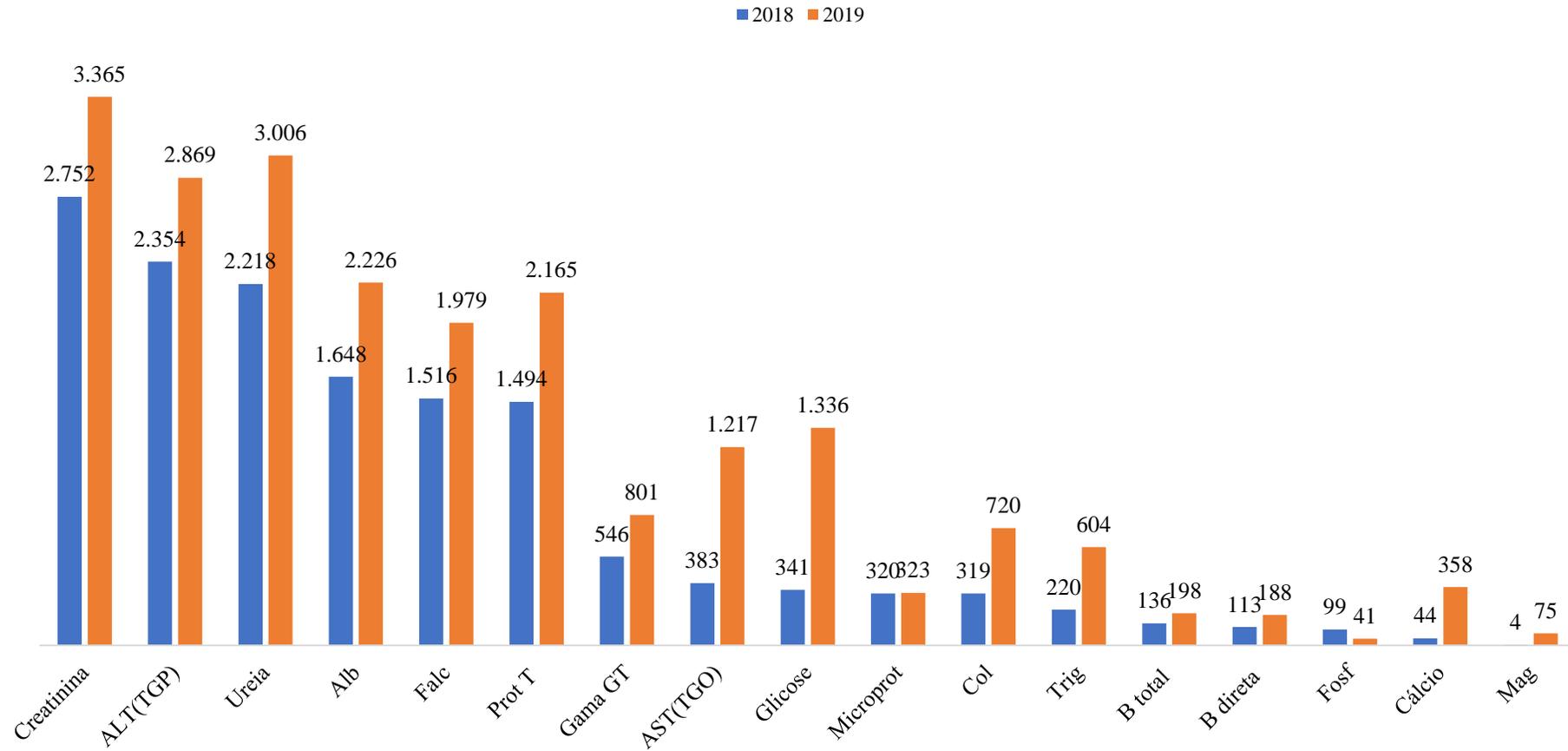


Figura 6. Quantitativo dos analitos analisados no LPCV durante os anos de 2018 e 2019. AST (TGO)Asparto Aminotransferase (transaminase glutâmico-oxalacética) ALT (TGP) - alanina aminotransferase (transaminase glutâmico-pirúvica) Falc – Fosfatse Alcalina; Gama GT - gamaglutamiltransferase; Prot T – Proteína Total; Alb -Albumina; B total – Bilirrubina Total; B direta – Bilirrubina direta; Col – colestrerol; Trig – Triglicerídeos; Fosf – Fosforo; Mag – Magnésio; Microprot – Microprotéínas

Após dois anos no programa de residência foi possível evidenciar as dificuldades que uma instituição pública passa durante a execução das suas tarefas e muitas vezes fatores que fogem ao nosso controle. Estes muitas vezes impossibilitam a execução das tarefas de forma completa e eficiente. Com isso tivemos algumas defasagens durante esse período de aprendizagem, como por exemplo a falta de material de trabalho. Esse período foi de suma importância para o crescimento profissional e pessoal, tendo em vista que o objetivo da residência foi atingido no sentido de maximizar a vivência prática associando a teoria ao ponto de resolução de casos, sendo de extrema importância na Clínica Médica, Cirúrgica, Anestésica dos Animais Domésticos e Silvestres.

1.3. Vivência na Saúde Pública

Como parte dos requisitos da residência multiprofissional na área da saúde em medicina veterinária cumprimos uma carga horária de 960 horas nos municípios de Camaragibe na Região Metropolitana de Recife e em Recife.

1.3.1. Vivência nas Vigilâncias em Saúde

A vivência na Vigilância em Saúde foi realizada no município de Recife, Distrito Sanitário III, durante os meses de julho de 2018 a outubro de 2018 com carga horária de 60 horas semanais perfazendo um total de 720 horas e foi dividida em três setores: Vigilância Epidemiológica (240 horas), Vigilância Sanitária (240 horas) e Vigilância Ambiental (240 horas).

A vivência, teve como objetivo inserir os residentes nos princípios e diretrizes do SUS, realizando de forma direta atividades que atendam às necessidades social e epidemiológica no contexto em determinada região. Assim, minhas atividades foram realizadas no Distrito Sanitário III da cidade do Recife, Pernambuco, que abrange os bairros de Aflitos, Alto do Mandu, Apipucos, Casa Amarela, Casa Forte, Derby, Dois Irmãos, Espinheiro, Graças, Jaqueira, Monteiro, Parnamirim, Poço, Santana, Sítio dos Pintos, Tamarineira, com sede em Casa Amarela, na qual pude obter conhecimentos específicos através de atividades teórico-práticas, visando as melhores condutas segundo determinação da vigilância abrangente. Realizando atividades na Vigilância em Saúde, nos três principais segmentos, Vigilância Epidemiológica, Ambiental e Sanitária.

O distrito Sanitário III, conta com uma estrutura adequada para atendimento à população, embora seu espaço físico não seja ideal para pessoas com limitações físicas, uma vez que o prédio não conta com estruturas de acessibilidades para estas pessoas. Em termos estruturais físicos, o prédio conta com escadas e batentes, inacessíveis a cadeirantes, uma vez que todas as vigilâncias se encontram no primeiro andar. Em termos organizacionais, os setores são bem distribuídos de forma a comportar as atividades determinadas no setor específico.

Minha vivência teve início na vigilância Epidemiológica, seguido da Ambiental e finalizada na Sanitária. Junto a Vigilância Epidemiológica, realizei inúmeras atividades no contexto de investigação, bloqueio epidemiológico, notificações, levantamento de dados, coletas para análises e confirmações de agravos patológicos. Na ambiental, foram acompanhadas as atividades de coletas de amostras, estruturação da campanha de vacinação antirrábica de cães e gatos e registros dos relatórios semanais dos ASACES. Na sanitária, foram acompanhadas as visitas técnicas para obtenção da licença sanitárias dos estabelecimentos, denúncias, ações socioeducativas, investigações conjuntas com a vigilância epidemiológica e ações multiprofissionais.

Na vigilância epidemiológica foram acompanhadas discussões de casos de fetos mortos, em que eram analisadas as declarações de óbitos, estudando se em alguns casos algo poderia ser realizado para evitar a ocorrência do óbito. Tendo como base a participação de uma médica, que em conjunto com os demais participantes, discute as possíveis causas da morte, mostrando possíveis ações básicas que poderiam ser abordadas para que outros casos parecidos não viessem a se repetir. Também foram realizadas investigações de casos de surtos de alguns agravos, as quais eram realizadas seguindo a conduta de prioridades de notificações. Por exemplo, sarampo, leptospirose e arboviroses, onde as investigações foram realizadas com as visitas, coletas de amostras para confirmação dos agravos e realização dos bloqueios vacinais de contactantes, em que os mesmos, caso não houvessem como comprovar vacinação ou não tivessem sido vacinados, eram realizadas as vacinas a fim de realizar o bloqueio vacinal e orientação sobre o agravo. Também foram realizados dois levantamentos, um de atendimento de notificações de vacinação antirrábica humana e de notificações de ataques de animais peçonhentos, ambos os levantamentos foram publicados no anais da Semana Acadêmica de Medicina Veterinária (IX SEMEVET e V CICLOFEL) da Universidade Federal da Paraíba, no Campus II, na cidade de Areia-PB.

Na vigilância ambiental, foram acompanhadas as coletas de amostras de mechas de algodões em córregos e rios para análises de Cólera – *Vibrio cholerae*; as amostras eram coletadas e enviadas para o laboratório municipal. Foi acompanhado o levantamento dos resumos semanais dos ASACES, para o cumprimento de metas e assim receberem o Incentivo Financeiro de Campo (IFC). Durante o período de vivência na vigilância ambiental, foram iniciadas as atividades da campanha de vacinação antirrábica de cães e gatos, sendo realizadas a pré-campanha, em que ocorriam visitas em áreas afastadas dos pontos de vacinação e visitas às casas em que haviam criatórios com mais de cinco animais, entre cães e gatos. Durante as visitas, eram analisados os animais que estivessem doentes, que apresentavam lesões com características sugestivas de esporotricoses em casos dos felinos e leishmaniose no caso dos caninos, o mesmo foi realizado no pós-campanha. No dia “D” da campanha de vacinação, foi realizada supervisão dos postos, com orientações cabíveis para a melhor conduta e realização da campanha, afim de evitar acidentes e infecções. Antes da campanha, também foi realizada capacitação dos vacinadores.

Na vigilância sanitária, foram realizadas visitas em farmácias, escolas, cantinas, petshops, clínicas médicas humanas e veterinárias e restaurantes. Os estabelecimentos davam entrada na licença sanitária e de acordo com a demanda, era realizada a visita, no qual eram observados manipulações de alimentos, descartes de materiais, higienização dos materiais, alimentos e ambiente, visando o melhor bem-estar do trabalhador e afim de evitar agravos a população. Durante as visitas eram realizadas as notificações e as orientações cabíveis, análises das documentações e então eram estabelecidos prazos para que os proprietários realizassem as notificações e retornando ao estabelecimento após o prazo para uma nova investigação. Também foi realizada a visita em uma escola, na qual houve uma solicitação da vigilância epidemiológica, para investigação de um surto de escarlatina, em que a vigilância ambiental realizou coletas de água para análises e interdição dos bebedouros. Também foi acompanhada a denúncia a um asilo, em que houve uma ação de multiprofissionais para a investigação e notificações do estabelecimento. Na ação socioeducativa, foi realizada orientação de boas práticas de condutas para higienização e manipulação dos alimentos no Colégio da Polícia Militar de Pernambuco.

Com a vivência pude aprender bastante sobre os deveres e direito da população em relação ao SUS. Ter uma melhor visão do que pode ser feito em relação aos agravos no caso da vigilância epidemiológica, visando as melhores condutas. Foi possível observar a importância de

multiprofissionais em cada setor, principalmente em relação a cada agravo. A ambiental foi possível entender como funciona as campanhas de vacinação antirrábica animal, mostrado também a importância de médicos veterinários no setor. Na sanitária, aprendi as condutas a serem realizadas com as denúncias e organizações dos mais variados setores.

As equipes sempre bastante prestativas, realizando treinamentos e explicando como funciona o setor organizacional de cada vigilância, condutas a serem realizadas em determinadas situações, mostrando mais especificamente como fazer o setor funcionar de forma correta e coerente.

1.3.2. Núcleo de Apoio a Saúde da Família - NASF

As ações do médico veterinário no NASF são bastante amplas apesar de pouco conhecidas e reconhecidas. As atividades vão muito além da clínica médica, estendendo-se por áreas como a reprodução, manejo e nutrição animal, pesquisa, gestão e planejamento em saúde, além da vigilância sanitária, epidemiológica e ambiental. Quando tratamos da relação homem/animal é imprescindível falarmos de animais de companhia, especialmente cães e gatos.

As atividades do NASF foram realizadas entre os meses de agosto a outubro de 2019, sendo em dois momentos; primeiro foi vivenciada a experiência em nível central, onde acompanhei a coordenadora geral do NASF-Recife, nas atividades mais administrativas, em que foram realizados boletins sobre as atividades semestrais, dos NASF distritais, sendo esses constituídos por oito NASF's distritais e reuniões com as coordenadoras dos NASF's distritais; também foram realizadas como atividades as entrevistas em Unidades Básicas de Saúde (UBS), acerca do desempenho do NASF que atende a determinada unidade, sendo realizadas três entrevistas. Ainda no nível central, participei da organização do Seminário de Saúde mental, intitulado Seminário NASF e Saúde Mental: Prevenção às Violências Autoprovocadas na Atenção Básica que ocorreu nos dias 3 e 4 de outubro de 2019.

No segundo momento, fui encaminhado junto com Letícia Bezerra, para acompanhar as atividades junto ao NASF 2.1, locado no Distrito Sanitário II. Onde acompanhei os atendimentos realizados pela fonoaudióloga, assistente social e psicólogo, realizando visitas domiciliares e atendimento ambulatorial. Nas atividades, também participei de reunião de planejamento mensal e planejamento da organização do evento Outubro Rosa, realizado na Unidade de Saúde da Família Chão de Estrela.

1.3.3. Avaliação crítica da vivência na Saúde Pública.

O principal desafio foi me encaixar em cada atividade, porém por ter sido bem recepcionado, acabou sendo de fácil realização. Sempre foi dada oportunidade de participação e interação com as atividades. Sempre foram prestativos e compreensivos em questões de não ter domínio sobre o determinado assunto.

Foi muito importante a participação das atividades e aprendizados. Aprendi sobre as condutas a serem realizadas em cada situação em relação a cada vigilância. Pude entender como cada vigilância funciona, o que é preciso para que o serviço seja realizado mesmo dependente das dificuldades.

Um ponto fraco foi ter saído da rotina do laboratório de patologia clínica do hospital veterinário, para realização das atividades da vivência do SUS. No qual vinha em uma rotina de aprendizado e foi quebrada com a minha saída, sendo alterada totalmente com um tempo em que poderia estar me adequado melhor no setor em que minha residência era alocada, aprendendo mais a prática de atividades laboratoriais.

Quanto a vivência no NASF, não foi muito interessante no ponto de vista, em que inicialmente fiquei mais no nível central, tendo uma melhor visão do setor administrativo e obtendo pouca experiência do papel do médico veterinário inserido no NASF, pelas poucas visitas realizadas à campo.

1.4. Estágio Optativo

O Estágio Vivência Optativo foi desenvolvido no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, localizado no Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, o Hospital Veterinário da Universidade Estadual Paulista - UNESP, no campus de Jaboticabal-SP do dia 18/06/2019 à 18/07/2019 com carga horária diária de 12 horas totalizando 60 horas semanais.

Neste período, foi possível acompanhar as atividades de rotina do laboratório supervisionadas pelo técnico, de nível superior e por três residentes um R1 e dois R2. Os exames realizados foram hemograma, análise de efusões cavitárias, urinálises, citologias de pele, citologias de ouvido, citologias de nódulos, neoformações e/ou aumentos de volumes.

O estágio de vivência no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária-UNESP nesse período foi de extrema importância para acrescentar nos meus conhecimentos adquiridos junto aos dois anos de residência em Medicina Veterinária na área de Patologia Clínica Veterinária-UFRPE, uma vez que ocorreu a troca de conhecimentos e aprimoramentos em certas atividades, com isso trouxe conhecimento adquiridos e deixei um pouco do meu conhecimento para os envolvidos no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da UNESP-Jaboticabal.

1.5. Participação em eventos e publicações

Durante a residência pude participar de dois eventos, sendo um no ano de 2018, intitulado de Encontro Nacional de Patologia Clínica Veterinária (ENPCV-2018), realizado na cidade de Jaboticabal-SP e no ano de 2019 pude participar do Congresso Medvep Internacional de Especialidades Veterinárias 2019 (Medvep-2019), realizado na cidade de Curitiba-PR.

Também foram realizadas publicações em alguns eventos durante os dois anos de residência. As publicações foram publicadas em formatos de resumos simples ou expandidos, conforme as normativas de cada evento Tabela 2.

Tabela 2. Relação das publicações realizadas nos anos de 2018 e 2019.

| Título | Evento | Ano |
|---|-----------|------|
| Importância do hemograma como ferramenta de suporte no tratamento de caninos com tumor venéreo transmissível | Anclivepa | 2018 |
| Análise da efusão pleural como auxílio no diagnóstico – relato de caso | ENPCV | 2018 |
| Transmissão transplacentária de Babesia spp. em uma bezerra - relato de caso | ENPCV | 2018 |
| Importância da urinálise para o diagnóstico clínico: relato de caso | JEPEX | 2018 |
| Utilização de ferramentas lúdicas no aprendizado de patologia clínica veterinária | JEPEX | 2018 |
| Estudo retrospectivo de casos de atendimento antirrábico humano no período de janeiro de 2016 a junho de 2018 no Distrito Sanitário III da cidade do Recife, PE | SEMEVET | 2018 |
| Estudo retrospectivo dos ataques de animais peçonhentos do Distrito Sanitário III da cidade do Recife, PE: janeiro de 2016 a junho 2018 | SEMEVET | 2018 |
| Análise da bioquímica sérica de bovinos leiteiros da raça girolando criados no município de Camaragibe – PE | SIMFA | 2019 |
| Análise dos parâmetros hematológicos de bovinos da raça girolando criados no município de Camaragibe – PE | SIMFA | 2019 |

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução Nº 287 de 08 de outubro de 1998. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/1998/res0287_08_10_1998.html> Acessado em: 15 jan 2019.

BRASIL. Portaria Interministerial MEC/MS nº 1077 de 12/11/2009. Dispõe sobre a Residência Multiprofissional em Saúde e a Residência em Área Profissional da Saúde, e institui o Programa Nacional de Bolsas para Residências Multiprofissionais e em Área Profissional da Saúde e a Comissão Nacional de Residência Multiprofissional em Saúde. Disponível em: <<https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=219599>> Acessado em: 15 jan 2019.

COWELL, R. L.; TYLER, R. D.; MEINKOTH, J. H.; DENICOLA, D. B. **Diagnóstico Citológico e Hematologia de Cães e Gatos**. 3.ed., São Paulo: MedVet, 2009. 480p.

GONZÁLES, F.H.D. & SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2º ed., Porto Alegre: Editora da UFRGS, p. 13-37, 2006.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 729p.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. 1590p.

UNA-SUS – UNIVERSIDADE ABERTA DO SUS. **Residência Multiprofissional recebe inscrições até 3 de outubro**. 2014. Disponível em: <<http://www.unasus.gov.br/noticia/residencia-multiprofissional-recebe-inscricoes-ate-3-de-outubro>> Acesso em: 15 jan 2019.

CAPÍTULO II

Relação Gama-glutamyl transferase: Creatinina urinária no diagnóstico de patologias renais em caninos

(Gamma-glutamyl transferase: urinary creatinine ratio in the diagnosis of renal pathologies in canines)

Antônio Rodrigues de **ARAÚJO NETO***¹, Carolina Beatriz Ribeiro dos **SANTOS**¹, Anna Carmen Rocha **CAVALCANTI**¹, Andressa Paloma Cavalcante **CÂNDIDO**¹, Janaina Azevedo **GUIMARÃES**¹, Miriam Nogueira **TEIXEIRA**¹.

¹Departamento de Medicina Veterinária; Universidade Federal Rural do Pernambuco (URFPE), Recife, PE, Brasil. *Contato: e-mail: digoraneto@gmail.com

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar o uso da relação gama-glutamyl transferase:creatinina (GGT:CRT) urinária como marcador de patologias renais, bem como analisar os possíveis efeitos nas amostras submetidas ao congelamento. Foram utilizadas trinta e seis amostras de urinas de cães que deram entradas no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural de Pernambuco. As amostras foram classificadas em dois estágios: sem doença renal ou sadios (S) e doentes (D), separadas por Grupo I, composto por aquelas amostras analisadas em até quatro horas e Grupo II as amostras foram congeladas a -20° por até oito dias. No grupo I, os pacientes no estágio S a média da GGT:CRT foi de 0,56 ($\pm 0,21$) e no estágio D, os valores médios da GGT:CRT foi de 2,27 ($\pm 0,91$). No grupo II, os valores da relação GGT:CRT foram inferiores àqueles observados no grupo I em todos os estágios da doença. Salienta-se que a diferença na variação do estágio D quando comparado aos pacientes do grupo S foi de 1,41 vezes superior. Conclui-se que a relação

GGT:CRT urinária é um bom marcador para avaliação de lesão renal ativa em caninos. Quanto a conservação das amostras, as análises das amostras de urina realizadas até quatro horas após a coleta apresentam boa sensibilidade de avaliação diagnóstica e o congelamento deve ser evitado.

Palavras-chave: doença renal, bioquímica urinária, cães

ABSTRACT

This study aimed to evaluate or use the urinary gamma-glutamyl transferase: creatinine (GGT: CRT) ratio as a marker of renal pathologies, as well as to analyze the possible effects on frozen analyzes. Thirty-six dog urine tablets were used, which were admitted to the Veterinary Clinical Pathology Laboratory of the Veterinary Medicine Department of the Veterinary Hospital of the Federal Rural University of Pernambuco. The samples were classified into three stages: no renal or sadistic disease (S) and sick (D), recorded by Group I, composed of those samples analyzed within four hours and Group II as the samples. frozen at -20° for up to eight days. In group I, stage S patients with mean GGT: CRT were $0.56 (\pm 0.21)$, in D stage, mean GGT: CRT values were $2.27 (\pm 0.91)$. In group II, the GGT: CRT ratio values were lower than those observed in group I at all stages of the disease. It is noteworthy that the difference in the variation of the D parameters when the patients in group S were 1.41 times higher. It concluded that the GGT: urinary CRT ratio is a good marker for evaluation of active kidney injury in dogs. As for the conservation of the samples, as analyzes of the urine samples, performed up to four hours after the sample collection, good sensitivities of diagnostic evaluation and freezing were detected.

Keywords: renal disease, urinary biochemistry, dogs

INTRODUÇÃO

A insuficiência renal aguda é uma injúria clínica comum e crítica. É caracterizada pelo declínio abrupto da função renal, levando a incapacidade da excreção de resíduos metabólicos (Singri et al., 2003). O auxílio de novos marcadores laboratoriais para a detecção de injurias

renais precoces constituem importantes ferramentas de avaliação, tendo em vista que algumas análises são bastante tardias, sendo detectados seu aumento quando ultrapassa a perda de pelo menos 66% da funcionalidade dos néfrons (Stockham e Scott, 2011; Freitas et al., 2014).

A gama-glutamil transferase (GGT) urinária, a proteína urinária, cistatina C, entre outros, são testes fáceis de serem realizados na rotina clínica veterinária e têm se mostrado bons marcadores para injúrias renais precoces (Pressler, 2013; Freitas et al., 2014). A atividade sérica da enzima gama-glutamil transferase (GGT) tem sido rotineiramente utilizada na avaliação de doenças hepáticas e do trato biliar. A enzima, porém, se expressa em diferentes tecidos incluindo as células epiteliais da superfície apical do túbulo contorcido proximal do néfron e alça de Henle, liberando certa quantidade da enzima na urina (Rivers et al., 1996; Brunker et al., 2009). Esse dado tem conduzido a vários estudos e, em cães, têm demonstrado que a avaliação da GGT urinária pode servir como indicador de lesão renal (Brunker et al., 2009). Normalmente um aumento de duas a três vezes o valor basal da GGT urinária sugere lesão do epitélio tubular renal sendo por isso considerada um marcador precoce de dano tubular (Clemo, 1998). O uso de alguns medicamentos pode levar a lesão tubular, a exemplo da gentamicina, que em poucos dias após a administração leva ao aumento da GGT urinária bem antes que outros marcadores e/ou apresentar alterações na sedimentoscopia, como aparecimentos de cilindros e células epiteliais (Hennemann et al., 1997; Melchert et al., 2007; Freitas et al., 2014).

A atividade da GGT urinária avaliada de forma isolada pode estar mascarada pelas variações na concentração da urina. Sendo assim, fatores de correção relacionados à densidade ou produtos de excreção constantes como a creatinina, podem ser utilizados para corrigir e padronizar a interpretação dos achados (Santin et al., 2006; Brunker et al., 2009; Stockham e Scott, 2011).

Este estudo teve como objetivo avaliar o uso da relação gama-glutamil transferase:creatinina (GGT:CRT) urinária como marcador de patologias renais, bem como analisar os possíveis efeitos nas amostras submetidas ao congelamento.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a execução deste estudo foram utilizadas trinta e seis amostras de urina de pacientes caninos encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica Veterinária (LPCV) do Departamento de Medicina Veterinária (DMV) do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), para a realização da urinálise. As amostras foram submetidas a centrifugação (Excelsa Baby II, modelo 206-R, FANEM, São Paulo-SP) a 1500 rpm por cinco minutos. O sobrenadante foi envasado em microtubos de polietileno (*eppendorf*®) devidamente identificados e separados em dois grupos aleatórios para análise em dois momentos diferentes. O grupo I foi formado por 10 amostras mantidas a temperatura ambiente e analisadas até quatro horas após a coleta e o grupo II, foi formado por 26 amostras as quais foram congeladas a -20°C e analisadas até oito dias após a coleta.

Foi mensurada a atividade da enzima gama-glutamil transferase (GGT) e a concentração da creatinina (CRT) urinárias utilizando kits bioquímicos (Gama GT cinética SZASZ modificado – K080-2, creatinina cinética de tempo fixo – K067-1, BIOCLIN, Belo Horizonte-MG) e analisador bioquímico automático Bioclin 1000 plus (BIOCLIN, Belo Horizonte-MG). As amostras do grupo II, passavam pelo processo de descongelamento até atingir a temperatura ambiente e em seguida eram analisadas.

O sedimento urinário foi avaliado por microscopia óptica (Olympus, BX41, Japão), em aumento de 400x, incluindo a identificação e quantificação das estruturas. Amostras sanguíneas dos mesmos pacientes foram submetidas centrifugação e separação do soro. A avaliação da creatinina sérica foi realizada seguindo o mesmo protocolo citado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

De acordo com os resultados, os pacientes foram classificados em dois estágios: sem doença renal ou sadios (S) aqueles que apresentavam apenas raras estruturas na sedimentoscopia aliada a ausência de cilindros e sem alteração na creatinina séricas ($<1,5$ mg/dl, KANEKO et al., 2008) (GI=3 e GII=13); doentes (D), constituiu-se daqueles que apresentavam cilindrúria e/ou células renais na sedimentoscopia e/ou aumento da creatinina sérica, independente dos achados da sedimentoscopia (GI=7 e GII=13) (Tabela 2).

No grupo I, os pacientes que não apresentaram alteração ou sadios (S), a média da GGT:CRT foi de $0,56 (\pm 0,21)$. Apesar dos valores encontrarem-se abaixo daqueles sugeridos por Pressler (2013) (1,93 - 28,57) e por Bruncker et al. (2009) ($13,49 \pm 7,03$), no estágio D, os valores médios da GGT:CRT foram de $2,27 (\pm 0,91)$, ou 3,9 vezes superior ao dos animais do estágio S. O aumento da relação GGT:CRT relaciona-se ao escape da enzima das células epiteliais tubulares resultante da lesão. Os achados corroboram o descrito por Pressler (2013) e Souza (2019), que avaliaram um cão submetido ao segundo dia de aplicação de um fármaco nefrotóxico, que apresentou inicialmente um aumento discreto, chegando a triplicar após o oitavo dia, momento em que o tratamento foi suspenso. O aumento sérico da creatinina, ocorre quando há lesão de 75% dos néfrons foram destruídos e perderam a sua função, e os remanescentes não são suficientes para suprir a necessidade de excreção (Pressler, 2013; Freitas et al., 2014; Thrall et al., 2015). Sendo assim, os animais no estágio DC ratificam a gravidade do comprometimento renal caracterizado pelo aumento crescente da relação GGT:CRT aliada a hipercreatinemia.

A precocidade e sensibilidade da GGT urinária observada em pacientes submetidos a terapias com fármacos de ação nefrotóxica tem direcionado o seu uso mais frequente na avaliação da injúria renal e nos riscos ao paciente. Nestes casos, a avaliação prévia antes do início da terapia tem funcionado como valor de referência individual (Santin et al., 2006; Souza, 2019). Na

rotina clínica a GGT urinária tem sido subutilizada, uma vez que os achados da urinálise especialmente os da sedimentoscopia, como a presença de cilindros, sugerem um comprometimento tubular, diminuindo assim os custos no atendimento clínico. Por outro lado, a antecipação das alterações da GGT urinária tem sido demonstrada, sugerindo que a enzimúria significativa ocorra dias antes da cilindrúria. Nesta pesquisa, pacientes com processo recente de lesão tubular renal podem ter sido eventualmente considerados saudáveis. Sendo assim, a intensidade do aumento aliada a uma avaliação seriada são fatores que podem servir como parâmetro da intensidade da lesão, conforme observado em estudos de pacientes submetidos a terapias nefrotóxicas (Pressler, 2013, Santin et al., 2006; Cobrin et al., 2013; Lippi et al., 2018, Perondi et al., 2019, Souza, 2019). Nestes casos a GGT proporciona uma avaliação mais detalhada do paciente prevenindo injúrias irreversíveis.

No grupo II, os valores da relação GGT:CRT foram inferiores àqueles observados no grupo I em todos os estágios da doença. Salienta-se que a diferença na variação do estágio D quando comparado aos pacientes do grupo S foi de 1,41. Tais variações, porém, foram inferiores àquelas observadas entre os estágios dos pacientes do grupo I. A expressiva diminuição nos valores da relação GGT:CRT nas amostras armazenadas até oito dias a -20°C , pode ter ocorrido devido a degradação da GGT ao passar pelo processo de congelamento, o que corrobora com o que já foi defendido por Smees et al. (2016), no qual relatam que este processo afeta severamente a GGT urinária. Souza (2019) refere que a avaliação da GGT urinária deve ser mensurada até quatro horas após a coleta, e a urina deve ser mantida refrigerada entre dois a quatro graus. Brunner et al. (2009), analisaram a GGT urinária em até oito horas após a coleta da urina, e obtiveram uma variação de 1,93 a 28,57 nos resultados.

O método de correção dos valores da GGT urinária utilizado neste trabalho o qual baseou-se na divisão pela creatinina urinária, difere do utilizado por outros autores, os quais

optaram pela correção por meio da densidade urinária (DE Schepper et al., 1989; Hennemann et al., 1997; Santin et al., 2006; Smee et al., 2016). Apesar de ser considerado um método menos oneroso, o primeiro pode ser considerado mais preciso, uma vez que em uma avaliação seriada durante o acompanhamento do paciente, pequenas variações podem ser importantes para uma tomada de decisão.

Fatores relacionados ao número de amostras analisadas e às condições de realização das técnicas na determinação destes analitos podem ter influenciado os resultados, o que reforça a importância da obtenção dos valores de referência próprios de cada laboratório (Thrall et al., 2015). Sendo assim, as avaliações seriadas podem servir como melhor indicador para os processos de lesão renal.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a relação GGT:CRT urinária é um procedimento simples e de baixo custo, constituindo um bom marcador para avaliação de lesão renal ativa em caninos. Quanto a conservação das amostras, as análises das amostras de urina realizadas até quatro horas após a coleta apresentam boa sensibilidade de avaliação diagnóstica e o congelamento deve ser evitado, tendo em vista uma considerável diminuição na atividade da GGT urinária podendo dificultar a verificação do processo patológico.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declararam não existir conflito de interesse.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Residência em Área Profissional da Saúde em Medicina Veterinária DMV/UFRPE.

REFERÊNCIA

- BRUNKER, J.D.; PONZIO, N.M.; PAYTON, M.E. Indices of urine N-acetyl- β -D-glucosaminidase and γ -glutamyl transpeptidase activities in clinically normal adult dogs. **American Journal of Veterinary Research**, 70(2): 297-301, 2009.
- CLEMO, F. Urinary Enzyme Evaluation of Nephrotoxicity in the Dog. **Toxicologic Pathology**, 26(1): 29-32, 1998.
- COBRIN, R.; BLOIS, S.L.; KRUTH, S.A.; ABRAMS-OGG, A.C.G.; DEWEY, C. Biomarkers in the assessment of acute and chronic kidney diseases in the dog and cat. **Journal of Small Animal Practice**, 54: 647–655, 2013.
- De SCHEPPER, J.; De COCK, I.; CAPIAU, E. Urinary gamma-glutamyltransferase and degree of renal dysfunction in 75 bitches with pyometra. **Research in Veterinary Science**, 6(3): 396-400, 1989.
- FREITAS, G.C.; VEADO, J.C.C.; CARREGADO, A.B. Testes de avaliação de injúria renal precoce em cães e gatos. **Ciências Agrárias**, 35(1): 411-426, 2014.
- HENNEMANN, C.R.A., SILVA, C.F., SCHOENAU, W., KOMMERS, G.D., POLYDORO, A.S., LEITZKE, M.R.M. Atividade da gama glutamil transpeptidase urinária, dosagens séricas de ureia e creatinina como meios diagnósticos auxiliares na nefrotoxicidade induzida por aminoglicosídeo em cães. **Ciência Rural**, 27(2): 237-244, 1997.
- HENNEMANN, C.R.A.; SILVA, C.F.; SCHOENAU, W.; KOMMERS, G.D.; POLYDORO, A.S.; LEITZKE, M.R.M. Atividade da gama glutamil transpeptidase urinária, dosagens séricas de ureia e creatinina como meios diagnósticos auxiliares na nefrotoxicidade induzida por aminoglicosídeo em cães. **Ciência Rural**, 27(2): 237-244, 1997.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6.ed., Academic Press: San Diego, 2008. 928p.

- LIPPI, I.; PERONDI, F.; MEUCCI, V.; BRUNO, B.; GAZZANO, V.; GUIDI, G. Clinical utility of urine kidney injury molecule-1 (KIM-1) and gammaglutamyl transferase (GGT) in the diagnosis of canine acute kidney injury. **Veterinary Research Communications**, 42(2): 95-100, 2018.
- MELCHERT, A; LAPOSY, C. B; MOTTA, Y. P; GARCIA, A. C. F. Z. Gama-glutamyl transpeptidase urinária como indicador de insuficiência renal aguda induzida por gentamicina em cães. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, 10(2): 111-116, 2007.
- PERONDI, F.; LIPPI, I.; CECCHERINI, G.; MARCHETTI, V.; GUIDI, G. Evaluation of urinary γ -glutamyl transferase and serum creatinine in non-azotaemic hospitalised dogs. **Veterinary Record**, 185(2): 52, 2019.
- PRESSLER, B. Clinical Approach to Advanced Renal Function Testing in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, 43(6): 1193–1208, 2013.
- RIVERS, B.J.; WALTER, P.A.; BRIEN, T.D.; KING, V.L.; POLZIN, D.J. Evaluation of urine gamma-glutamyl transpeptidase-to-creatinine ratio as a diagnostic tool in na experimental model of aminoglycoside-induced acute renal failure in the dog. **Journal of the American Animal Hospital Association**, 32(4): 323-336, 1996.
- SANTIN, F.; MOUTINHO, F.Q.; AMARAL, A.S.; TAKAHIRA, R.K. Acompanhamento laboratorial da função renal de cães sadios tratados experimentalmente com doses terapêuticas de anfotericina B. **Ciência Rural**, 36(6): 1816-1823, 2006.
- SANTIN, F.; MOUTINHO, F.Q.; AMARAL, A.S.; TAKAHIRA, R.K. Acompanhamento laboratorial da função renal de cães sadios tratados experimentalmente com doses terapêuticas de anfotericina B. **Ciência Rural**, 36(6): 1816-1823, 2006.
- SINGRI, N.; AHYA, S.N.; LEVIN, M.L. Acute renal failure. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 289(6): 747-751, 2003.

SMEE, N.M.; POHLMAN, L.M.; VAHL, C.I.; SANDERSON, M.W.; GRAUER, G.F. Effect of Storage Time and Temperature on Canine Urine Enzymes N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) and γ -glutamyl transpeptidase (GGT). **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, 14(1): 114-121, 2016.

SOUZA, J.V.A. Mensuração da concentração da dimetilarginina simétrica (SDMA) e gamaglutamil transferase (GGT) urinário como marcadores precoces de lesão renal em cães em tratamento com sulfato de vincristina. Dissertação (Dissertação Inovação e Tecnologia Integradas à Medicina Veterinária) – UFAL. Maceió, p.48, 2019.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 729p.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. 1590p.

Tabela 3. Valores da relação GGT: CRT urinária de caninos atendidos no Hospital Veterinário do DMV/UFRPE, com análises realizadas até 4 horas nas amostras conservadas a temperatura ambiente (GI) e com até 8 dias nas amostras conservadas a -20C (GII), valores representados em média±desvio padrão.

| GGT: CRT | | |
|-----------------|-----------------------|------------------------|
| | GI (x ± dp) | GII (x ± dp) |
| Sadios | 0,56±0,21 (n=3) | 0,43±0,32 (n=13) |
| Doentes | 2,27±0,91 (n=7) | 0,47±0,50 (n=13) |

ANEXO I

Diretrizes para os autores – Revista Científica Medicina Veterinária (UFRPE)

INSS: 1809-4678

Informações Gerais

A revista Medicina Veterinária (UFRPE) do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), com publicação trimestral, tem o objetivo de divulgar manuscritos originais em forma de artigo científico, artigo de revisão, relato de caso e comunicação breve nas áreas de Medicina Veterinária, Zootecnia, Ciências Biológicas e áreas correlatas. Os manuscritos deverão ser destinados com exclusividade. A revista é indexada nas fontes: **AGRIS, CAB Abstracts, Latindex, Web of Science e Web of Science – Science Index Expanded.**

Os artigos enviados pelos autores deverão estar devidamente formatados conforme as normas de instruções aos autores vigentes desse periódico. Os artigos encaminhados fora das normas vigentes da revista serão automaticamente devolvidos para adequação.

O Artigo Científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Keywords; Introdução; Material e Métodos; Resultados; Discussão ou Resultados e Discussão; Conclusão (opcional); Conflito de Interesse; Comitê de Ética; Agradecimentos e Referências.

O Artigo de Revisão deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Keywords; Introdução; Desenvolvimento (podem ser utilizados subtítulos); Considerações Finais e Referências.

A Comunicação Breve consiste em um artigo curto que descreva observações experimentais relevantes e que não justifiquem ainda sua publicação como artigo científico completo. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Keywords; Texto sem divisão das seções, mas contendo Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusão; Conflito de Interesse; Comitê de Ética; Agradecimentos e Referências.

O Relato de Caso consiste na descrição de casos que incluam observações clínicas ou que representem originalidade de um diagnóstico ou tratamento, ou ainda que ilustre situações pouco frequentes. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Keywords; Introdução; Descrição do Caso; Discussão; Conclusão (opcional); Conflito de Interesse; Agradecimentos e Referências.

Os trabalhos, em geral, podem ser redigidos nos idiomas Português ou Inglês e devem ser preparados no Microsoft, Word para os textos e Excel para os Figuras.

Os conceitos e opiniões no manuscrito são de exclusiva responsabilidade dos autores e não refletem, necessariamente, a opinião do Comitê Editorial da revista.

Preparação do Manuscrito

O **texto** deverá ser digitado no tamanho do papel A4, fonte Times New Roman tamanho 12, espaço entre linhas 2,0 (espaço duplo), margens superior e esquerda de 3,0cm, inferior e direita de 2,0cm, com linhas numeradas (numeração contínua). O máximo de páginas será 15 para artigos científicos, 20 para artigo de revisão e 12 para relato de caso e comunicação breve. Tabelas, Figuras e demais figuras devem ser incluídos após as referências e não serão consideradas nesse número total de páginas.

O **título** deverá ser redigido em português acompanhado de tradução em inglês, logo abaixo e entre parênteses. Em caso de ser redigido em inglês, o título em português será colocado logo abaixo e entre parênteses.

Os **nomes dos autores** deverão ser escritos por completo com o último nome em negrito. Deverão ser colocados abaixo do título, um ao lado do outro separados por vírgula, seguidos de números sobrescritos, os quais serão repetidos imediatamente abaixo dos nomes para indicar afiliação (departamento, instituição, cidade, estado e país) e indicação com símbolo de asterisco (*) do autor para correspondência. O e-mail do autor para correspondência deve ser colocado imediatamente após a filiação.

O **Resumo** e o **Abstract** deverão conter no máximo 250 palavras, incluindo introdução (opcional), objetivo(s), material e métodos, resultados e conclusão. **Palavras-chaves:** no máximo cinco, separadas por ponto e vírgula, devendo-se evitar a repetição de palavras presentes no título.

A **Introdução** deverá conter explanação concisa, na qual são estabelecidos, de forma breve e contextualizada, o problema, a relevância, a justificativa e os objetivos do trabalho.

O **Material e Métodos** deverá citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos utilizados e análise estatística ou referenciar corretamente os métodos já publicados.

Os **Resultados** devem ser apresentados de forma clara e objetiva, podendo-se utilizar tabelas, Figuras e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor.

A **Discussão** deverá basear-se nos resultados obtidos no trabalho. É importante ressaltar que os dados sejam discutidos e não simplesmente comparados com dados de outros autores.

A **Conclusão** ou **Considerações Finais** deverão ser redigidas no “tempo presente do verbo” e estarem fundamentadas nos resultados da pesquisa, sem incluir informações presentes na revisão de literatura e discussão.

As **Tabelas e Figuras** que já tenham sido publicadas devem ser devidamente referenciadas e conter, abaixo da legenda, a fonte (autor e data).

a) Tabela: conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação do cabeçalho e no final da tabela. A legenda recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico. O título da tabela deve ser escrito na parte superior da mesma.

b) **Figura:** qualquer ilustração, desenho, fotografia, Figura, fluxograma ou esquema. As legendas recebem inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico. O título da figura deve ser escrito na parte inferior da mesma. As figuras devem ser enviadas em formato tiff com ao menos 800dpi.

O Conflito de Interesse deverá ser incluído após a discussão ou conclusão. Os autores devem divulgar quaisquer relações financeiras e pessoais com outras pessoas ou organizações que poderiam indevidamente influenciar o seu trabalho. Exemplos de potenciais conflitos de interesse incluem o emprego, consultorias, propriedade de ações, honorários, testemunhos de especialistas pagos ou financiamento direto ou indireto. Se não se aplicar ao artigo, sugere-se redigir a seguinte frase: Os autores declaram não existir conflito de interesse.

O Comitê de Ética deverá ser incluído no artigo científico e comunicação breve, após o conflito de interesse, constando o número do parecer da comissão de Ética do Uso de Animais de Experimentação, confirmando sua aprovação. No caso da pesquisa que foi realizada com animais silvestres no Brasil, deve-se acrescentar o número da licença do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). Sugere-se redigir a seguinte frase: o projeto de pesquisa foi aprovado pelo comitê de ética do(a) **nome da instituição**, sob o número **1111/1111**.

Os Agradecimentos (opcional) devem ser incluídos imediatamente após o item comitê de ética e devem ser expressos de maneira concisa.

As Referências devem ser relacionadas em ordem alfabética. Quando houver mais de uma referência de um mesmo autor, deve-se usar a ordem cronológica.

As citações dos autores no texto deverão ser feitas conforme os exemplos que seguem:

Esses resultados estão de acordo com os reportados por Mota e Alves (2001) e Weppert et al. (2005), como uma má formação congênita (Tudury, 2003; Coelho et al., 2004; Monteiro e Almeida, 2005).

Se o mesmo autor tiver mais de um trabalho publicado no mesmo ano, utilizar letras minúsculas após o ano de publicação (tanto na citação no texto, quanto na lista de referências), conforme exemplo: (Teixeira et al., 2016a; Teixeira et al., 2016b).

As citações dos autores nas referências deverão ser colocadas no final do artigo. As referências devem ser ordenadas alfabeticamente.

As normas para citações e referências foram elaboradas, com adaptações, do estilo Vancouver. Por favor, siga os exemplos abaixo:

Citação de livro:

(autor(es) / título: subtítulo, se houver / edição / cidade da publicação / editora / ano / total de páginas)

Austin, C.R.; Short, F.R.S. **Reproduction in mammals: hormonal control of reproduction**. 2nd ed. Cambridge: University Press, 1988. v.3, 244p.

Willemse, T. **Dermatologia clínica de cães e gatos: guia para o diagnóstico e terapêutica**. São Paulo: Manole, 2002. 143p.

Capítulo de livro com autoria:

(autor(es) do capítulo / título do capítulo: subtítulo, se houver / In: / autor(es) da obra / título da obra: subtítulo, se houver / edição / cidade da publicação / editora / ano / página inicial-final do capítulo)

Lima, P.F.; Paes Barreto, M.B.; Coletto, Z.F. Biopsia e esfregaço vaginal como instrumentos para viabilizar o diagnóstico de gestação. In: Santos, M.H.B.; Oliveira, M.A.L.; Lima, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. p.35-40.

Santos, M.H.B.; Oliveira, M.A.L.; Lima, P.F. Diagnóstico de gestação. In: _____. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. p.117-136. (Quando o autor do livro é também autor do capítulo).

Capítulo de livro sem autoria:

Nesses casos subentende-se que o autor do capítulo é o mesmo autor do livro.

Almeida, J.M. Teratologia: as más-formações congênicas e os fatores que as ocasionam. In: _____. **Embriologia veterinária comparada**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.65-66.

Artigo completo:

(autor(es) do artigo / título do artigo / nome do periódico / volume / número / página inicial-final / ano)

Andrade, J.C.O.; Oliveira, M.A.L.; Lima, P.F.; Santos Filho, A.S.; Pina, V.M.R. Use of steroid hormone treatments prior to superovulation in Nelore donors. **Animal Reproduction Science**, 69(1): 9-14, 2002.

Alves, J.D.; Oliveira, M.A.L.; Lima, P.F.; Caldas, J.G.L.; Santos Filho, A.S.; Barreto, M.B.P. High concentrations of FSH-p on the in vitro maturation of *Bos indicus* oocytes. **Ciência Rural**, 31(5): 645-649, 2001.

-

Artigo não publicado: (deve ser evitado)

Ferreira-Silva, J.C.; Basto, S.R.L.; Tenório Filho, F.; Moura, M.T.; Silva Filho, M.L.; Oliveira, M.A.L. Reproductive performance of postpartum ewes treated with insulin or progesterone hormones in association with ram effect. **Reproduction in Domestic Animals**, 2017a. doi: 10.1111/rda.12956. (aceito com doi).

Ferreira-Silva, J.C.; Moura, M.T.; Silva, T.D.; Oliveira, L.R.S.; Chiamenti, A.; Freitas, V.J.F.; Oliveira, M.A.L. Full-term potential of goat in vitro produced embryos after different cryopreservation methods. **Cryobiology**. 2017b. (aceito).

Será considerado no prelo, o artigo que já estiver sendo referenciado com o volume, número de páginas e ano de publicação.

Documentos eletrônicos:

(Nome(s) do(s) autor(es), instituição ou órgão governamental* / título / publicação / endereço eletrônico / data de acesso).

*Nota: Quando se tratar de órgãos governamentais da administração (Ministérios, Secretarias e outros) entrar pelo nome geoFigura em caixa alta (país, estado ou município), considerando a subordinação hierárquica, quando houver.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa N° 62, de 29 de dezembro de 2011.** Disponível em: <http://www.leitedascrianças.pr.gov.br/arquivos/File/legislacao/IN62_2011_MAPA.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2017.

A revista Medicina Veterinária (UFRPE) não aceita a citação de trabalhos apresentados em eventos científicos (anais de eventos de qualquer natureza), trabalhos de monografias, dissertações de mestrado, teses de doutorado, bem como informações verbais ou similar.

As dúvidas devem ser direcionadas ao Comitê Editorial da revista Medicina Veterinária (UFRPE) através do e-mail: revmedvet@ufrpe.br