



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

DIEGO DARE DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA *FLASH* DE
MONITORAMENTO DE GLICOSE EM CÃES COM
CETOACIDOSE DIABÉTICA**

DIEGO DARE DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA *FLASH* DE
MONITORAMENTO DE GLICOSE EM CÃES COM
CETOACIDOSE DIABÉTICA**

Produtos apresentados ao Programa de Pós-Graduação – Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias do Departamento de Clínicas Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina como requisito à obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo de Souza Zanutto

Londrina
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

S586a Silva, Diego Dare.
Avaliação de um sistema *flash* de monitoramento de glicose em cães com cetoacidose diabética / Diego Dare Silva. - Londrina, 2019.
64 f. : il.

Orientador: Marcelo de Souza Zanutto.
Dissertação (Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias, 2019.
Inclui bibliografia.

1. Diabetes mellitus em cães - Tese. 2. Sistema flash de monitoramento de glicose - Tese. 3. Endocrinologia de cães - Tese. 4. Avaliação da glicemia em cães - Tese. I. Zanutto, Marcelo de Souza. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias. III. Título.

CDU 619

DIEGO DARE DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA *FLASH* DE MONITORAMENTO DE
GLICOSE EM CÃES COM CETOACIDOSE DIABÉTICA**

Produtos apresentados ao Programa de Pós-Graduação – Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias do Departamento de Clínicas Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina como requisito à obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcelo de Souza Zanutto
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Fábio Nelson Gava
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Márcia Marques Jericó de Andrade
Universidade Anhembi Morumbi – Anhembi

Londrina, 31 de julho de 2019.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força concedida para superar as dificuldades e pelo dom de seguir essa profissão.

A todo corpo docente da UEL, sobretudo ao meu orientador Prof. Dr. Marcelo de Souza Zanutto que se tornou um grande amigo nos últimos anos. Agradeço pela paciência, dedicação e confiança depositadas em mim e por todo conhecimento compartilhado.

À minha família e noiva pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

A todos que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho e aos membros da banca examinadora, Profa. Dra Márcia Marques Jericó de Andrade e Prof. Dr. Fábio Nelson Gava por aceitarem avaliar este trabalho.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis”

(José de Alencar)

SILVA, Diego Dare. **Avaliação de um sistema *flash* de monitoramento de glicose em cães com cetoacidose diabética.** 64 folhas. Dissertação de Pós-Graduação – Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

RESUMO

Foram apresentados três produtos finais, separados por capítulos, ao Programa de Pós-Graduação – Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina, formatados nas normas da revista “Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia” (ABMVZ). O primeiro produto é um artigo científico intitulado “Avaliação de um sistema *flash* de monitoramento de glicose em cães com cetoacidose diabética”. O sistema *flash* de monitoramento de glicose (SFMG) Freestyle Libre fornece estimativas da glicemia através da aferição constante da concentração de glicose do líquido intersticial através de um sensor inserido no espaço subcutâneo. O estudo foi realizado com sete cães com cetoacidose diabética (CAD) atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina, foram avaliadas as glicemias pareadas com um glicosímetro portátil (GP) a cada 2 a 4 horas e com o método da hexoquinase a cada 12 horas. As estimativas de glicemia foram fortemente associadas $r: 0,89$ ($p < 0,0001$), a diferença média entre o SFMG e o GP foi de 50,76 mg/dL (0 a 425 mg/dL) e o percentual médio de variação foi 25 % (0 a 102%). A avaliação destes dados usando a análise da grade de erros do consenso mostrou que 95,4% e 94,98% das amostras estavam nas zonas clinicamente aceitáveis (A e B) utilizando o GP e o método da hexoquinase como referência, respectivamente. Conclui-se que o SFMG avaliado deve ser utilizado com cautela em cães com CAD, seus valores podem variar consideravelmente porém quando se faz a análise da grade de erros percebe-se pouca interferência na conduta clínica. O segundo produto é um artigo científico, intitulado “Diabetes *insipidus* central em dois cães”. Descreve aspectos clínico-laboratoriais, diagnóstico e tratamento de dois cães com diabetes *insipidus* central (DIC), ambos com histórico de poliúria e polidipsia desde o nascimento. O terceiro produto é um artigo científico intitulado “Leucemia mieloide aguda em um gato com infecção regressiva pelo vírus da leucemia felina”. Descreve um caso de leucemia mieloide aguda sem maturação (M1) em um felino. O diagnóstico foi obtido com base na contagem de blastos em sangue periférico e medula óssea e a confirmação da origem mieloide se deu por exame de imuno-histoquímica de um fragmento de medula óssea. O felino veio a óbito 35 dias após o primeiro atendimento e diagnóstico, não apresentava viremia detectável para o vírus da leucemia felina porém foi detectado DNA viral (provírus) pelo exame de PCR em aspirado esplênico (*Polymerase Chain Reaction*) o que confirmou a infecção regressiva por FeLV.

Palavras-chave: cetoacidose, *flash*, diabetes, *insipidus*, mieloide

SILVA, Diego Dare. **Evaluation of a flash glucose monitoring system in dogs with diabetic ketoacidosis**. 64 sheets. Post Graduation Course Products of Professional Master's in Veterinary Clinics – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

ABSTRACT

Three final products were presented, separated by chapters, to the Postgraduate Program - Professional Master's Degree in Veterinary Clinics of the Universidade Estadual de Londrina, formatted in the norms of the journal "Brazilian Archive of Veterinary Medicine and Animal Science" (ABMVZ). The first product is a scientific article entitled "Evaluation of a glucose monitoring system in dogs with diabetic ketoacidosis". The Freestyle Libre glucose monitoring system (SFMG) provides estimates of blood glucose by constantly measuring the concentration of glucose in the interstitial fluid through a sensor inserted into the subcutaneous space. The study was carried out with six dogs with diabetic ketoacidosis (CAD) attended at the Veterinary Hospital of the State University of Londrina. The glycemic parameters paired with a portable glucose meter (GP) were evaluated every 2 to 4 hours and with the hexokinase method every 12 hours. The glycemia estimates were strongly associated with $r: 0.89$ ($p < 0.0001$), the mean difference between SFMG and GP was 50.76 mg / dL (0 to 425 mg / dL) and the mean percentage of variation was 25% (0 to 102%). Evaluation of these data using consensus error grid analysis showed that 95.4% and 94.98% of the samples were in the clinically acceptable areas (A and B) using GP and the hexokinase method as reference, respectively. It is concluded that the SFMG evaluated should be used with caution in dogs with CAD, but their values vary considerably; however, when analyzing the error grid, there is little interference with the clinical management. The second product is a scientific paper entitled "Diabetes insipidus central in two dogs". Describes clinical-laboratory aspects, diagnosis and treatment of two dogs with central diabetes insipidus (DIC), both with a history of polyuria and polydipsia since birth. The third product is a scientific paper entitled "Acute myeloid leukemia in a cat with feline leukemia virus regression." Describes a case of acute myelogenous leukemia without maturation (M1) in a feline. The diagnosis was obtained based on the blasts counts in peripheral blood and bone marrow and the confirmation of myeloid origin was given by immunohistochemical examination of a fragment of bone marrow. The feline died 35 days after the first care and diagnosis, did not present detectable viraemia for the feline leukemia virus, but viral DNA (provirus) was detected by Polymerase Chain Reaction (PCR), which confirmed FeLV regression.

Key words: ketoacidosis, flash, diabetes, *insipidus*, myeloid

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1 – AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA *FLASH* DE MONITORAMENTO DE GLICOSE13

Figura 1 – Sensor Freestyle Libre no quinto dia de utilização em um cão, SRD, 10 anos, com CAD, atendido no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina. A – Sensor implantado na região cervical com uma fita adesiva para proteção; B – Sensor após a retirada da fita protetora; C – Monitor Freestyle Libre mostrando a glicemia atual, o gráfico das últimas 8 horas e a seta de tendência; D – Sensor após cinco dias de utilização21

Figura 2 – Gráfico de Bland-Altman da diferença entre os valores de glicemia obtidos pelo SFMG e o método da hexoquinase em cães com CAD (A). Gráfico de Bland-Altman da diferença entre os valores de glicemia obtidos pelo SFMG e o GP em cães com CAD (B). Gráfico da correlação de Pearson entre os valores de glicemia obtidos simultaneamente pelo SFMG e pelo método da hexoquinase em cães com CAD (C); Gráfico da correlação de Pearson entre os valores de glicemia obtidos simultaneamente pelo SFMG e pelo GP em cães com CAD (D).....23

Figura 3 – Avaliação pela análise da grade de erros do consenso (PARKES et al, 2000) do SFMG Freestyle Libre em cães com CAD. Os eixos das ordenadas representam os valores de glicemia obtidos pelo SFMG e os eixos das abscissas representam os valores de glicemia obtidos pelos métodos de referência da hexoquinase (A) e do GP (B)24

CAPÍTULO 3 – LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA EM UM GATO COM INFECÇÃO REGRESSIVA PELO VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA.....42

Figura 1 – A e B: Blastos apresentando cromatina grosseira, núcleos excêntricos, alguns com nucléolos evidentes, citoplasma basofílico, por vezes com grânulos e projeções citoplasmáticas irregulares, anisocitose e anisocariose em esfregaço de medula

óssea. C: Exame histopatológico de medula óssea de fêmur com predomínio de blastos. D: Exame histopatológico de fragmento de fígado mostrando infiltração maciça de células neoplásicas47

Figura 2 – Exame imuno-histoquímico de um fragmento de medula óssea do fêmur de um felino com leucemia mieloblástica aguda. A: Marcador CD3 negativo; B: CD20 negativo; C: CD163 positivo; D: Lisozima positivo; E: Mieloperoxidase positivo; F: K167 positivo48

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO 2 – DIABETES <i>INSIPIDUS</i> CENTRAL EM DOIS CÃES | 29 |
| Tabela 1 – Valores de bioquímica sérica e hemograma de dois cães com DIC atendidos no Setor de Clínica Médica do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina..... | 33 |
| Tabela 2 – Valores de densidade urinária e peso (Kg) do cão 1 durante o teste de privação hídrica modificado realizado no Setor de Clínica Médica do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina | 35 |
| Tabela 3 – Valores de ingestão hídrica diária e densidade urinária após o teste terapêutico com desmopressina e com 45 dias de tratamento em um cão com DIC atendido no setor de Clínica Médica da Universidade Estadual de Londrina | 36 |
| | |
| CAPÍTULO 3 – LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA EM UM GATO COM INFECÇÃO REGRESSIVA PELO VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA | 42 |
| Tabela 1 – Hemogramas seriados de um felino, SRD, macho, 2 anos com leucemia mieloblástica aguda, desde o primeiro atendimento até o momento do óbito..... | 46 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-----------------|--|
| % | Porcentagem |
| Bpm | Batimentos por minuto |
| CAD | Cetoacidose Diabética |
| CEUA | Comitê de Ética na Utilização de Animais |
| DI | Diabetes <i>Insipidus</i> |
| DIC | Diabetes <i>Insipidus</i> Central |
| dL | Decilitro |
| DNA | <i>Deoxyribonucleic acid</i> |
| ELISA | <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> |
| FAB | <i>French-American-British</i> |
| FDA | <i>Food and Drug Administration</i> |
| FeLV | Vírus da leucemia felina |
| GP | Glicosímetro Portátil |
| Hi | <i>High</i> |
| LMA | Leucemia mieloide aguda |
| Lo | <i>Low</i> |
| mg | Miligrama |
| mL | Mililitro |
| mm ² | Milímetro quadrado |
| mm ³ | Milímetro cúbico |
| mmol | Milimol |
| PCR | <i>Polymerase Chain Reaction</i> |
| PD | Polidipsia |
| PU | Poliúria |
| SFMG | Sistema <i>Flash</i> de Monitoramento de Glicose |
| SMCG | Sistema de Monitoramento Contínuo de Glicose |
| SRD | Sem raça definida |
| U | Unidade |
| USA | <i>United States of American</i> |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|--|----|
| 1 | CAPÍTULO 1 AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA <i>FLASH</i> DE MONITORAMENTO DE GLICOSE EM CÃES COM CETOACIDOSE DIABÉTICA | 13 |
| 1.1 | INTRODUÇÃO | 15 |
| 1.2 | MATERIAL E MÉTODOS | 17 |
| 1.2.1 | Crítérios para a Seleção dos Casos | 17 |
| 1.2.2 | Sistema <i>Flash</i> de Monitoramento de Glicose | 17 |
| 1.2.3 | Precisão do SFMG | 18 |
| 1.2.4 | Análise Estatística | 18 |
| 1.3 | RESULTADOS | 19 |
| 1.3.1 | Aplicabilidade | 19 |
| 1.3.2 | Precisão do SFMG | 20 |
| 1.4 | DISCUSSÃO | 23 |
| | REFERÊNCIAS | 26 |
| 2 | CAPÍTULO 2 – DIABETES INSÍPIDUS CENTRAL EM DOIS CÃES | 29 |
| 2.1 | INTRODUÇÃO | 31 |
| 2.2 | RELATO DE CASO 1 | 33 |
| 2.3 | RELATO DE CASO 2 | 35 |
| 2.4 | DISCUSSÃO | 36 |
| | REFERÊNCIAS | 40 |
| 3 | CAPÍTULO 3 – LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA EM UM GATO COM INFECÇÃO REGRESSIVA PELO VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA | 42 |
| 3.1 | INTRODUÇÃO | 44 |
| 3.2 | RELATO DE CASO | 45 |
| 3.3 | DISCUSSÃO | 49 |
| | REFERÊNCIAS | 50 |
| | ANEXOS | 52 |

| | |
|--|----|
| ANEXO A – PROTOCOLO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS | 53 |
| ANEXO B – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DA REVISTA “ABMVZ” | 54 |

**CAPÍTULO 1 – AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA
FLASH DE MONITORAMENTO DE GLICOSE EM
CÃES COM CETOACIDOSE DIABÉTICA**

Avaliação de um sistema *flash* de monitoramento de glicose em cães com cetoacidose diabética

[*Evaluation of a flash glucose monitoring system in dogs with diabetic ketoacidosis*]

D. D. Silva^{1*}; F. N. Chiaro²; L. G. Biz³; M. S. Zanutto⁴

^{1*}Pós-graduando *stricto sensu* – Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias, Universidade Estadual de Londrina (UEL), diegovl13@hotmail.com

²Residente em Clínica Médica de Animais de Companhia, Hospital Veterinário (HV) - UEL

³Centro de Ciências Exatas, Departamento de Estatística, UEL

⁴Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Clínicas Veterinárias, HV-UEL.

RESUMO

O sistema *flash* de monitoramento de glicose (SFMG) Freestyle Libre fornece estimativas da glicemia através da aferição constante da concentração de glicose do líquido intersticial através de um sensor inserido no espaço subcutâneo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a aplicabilidade e precisão desse SFMG em cães com cetoacidose diabética (CAD). Foram incluídos neste estudo sete cães com CAD atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina. O sensor foi colocado na região cervical dorsal logo após o diagnóstico da CAD e mantido durante cinco dias. A aferição da glicemia foi realizada simultaneamente com o glicosímetro portátil veterinário AlphaTRAK 2 (GP) a cada duas a quatro horas e com o método da hexoquinase a cada 12 horas. As estimativas de glicemias foram fortemente associadas ($r: 0,89$; $p < 0,0001$) e o percentual médio de variação em relação ao GP foi de 25% (0 a 102%). A avaliação destes dados usando a análise da grade de erro do consenso mostrou que 95,4% e 94,98% das amostras estavam nas zonas A e B (cl clinicamente aceitáveis) utilizando o GP e o método da hexoquinase como referência, respectivamente. Não houve diferença na precisão do aparelho entre os dias ($p: 0,74$) porém, houve diferença entre as

faixas de glicemia (hipo, normo e hiperglicêmico) ($p < 0,0001$) e o estado de hidratação ($p: 0,019$). Conclui-se que o SFMG avaliado pode ser utilizado em cães com CAD.

Palavras-chave: glicemia, monitoramento, diabetes, Freestyle Libre, glicose intersticial.

ABSTRACT

The Flash Glucose Monitoring System (SFMG) Freestyle Libre provides blood glucose estimates by constantly measuring glucose concentration in the interstitial fluid through a sensor inserted into the subcutaneous space. The aim of this study was to evaluate the applicability and accuracy of this SFMG in dogs with diabetic ketoacidosis (CAD). Seven dogs with CAD treated at the Veterinary Hospital of the State University of Londrina were included in this study. The sensor was placed in the dorsal cervical region soon after the diagnosis of CAD and maintained for five days. Blood glucose measurement was performed simultaneously with the AlphaTRAK 2 (GP) portable veterinary glucometer every two to four hours and the hexokinase method every 12 hours. Estimates of blood glucose were strongly associated ($r: 0.89$; $p < 0.0001$) and the mean percentage of variation in relation to GP was 25% (0 to 102%). The evaluation of these data using consensus error grid analysis showed that 95.4% and 94.98% of the samples were in zones A and B (clinically acceptable) using the GP and hexokinase method as reference, respectively. There was no difference in the accuracy of the device between days ($p: 0.74$) but there was a difference between blood glucose ranges (hypo, normo and hyperglycemia) ($p < 0.0001$) and hydration status ($p: 0.019$). It is concluded that the SFMG evaluated is accurate and can be used in dogs with CAD.

Key words: blood glucose, monitoring, diabetes, Freestyle Libre, interstitial glucose

INTRODUÇÃO

A cetoacidose diabética (CAD) é uma complicação grave do diabetes *mellitus* onde ocorre aumento na produção e acúmulo de cetoácidos (beta-hidroxibutirato, acetoacetato, acetona) levando a acidose metabólica. O principal fator desencadeante é a deficiência relativa ou absoluta de insulina que associada à um aumento de hormônios contra-regulatórios, leva a uma superprodução de corpos cetônicos (DUROCHER, et al 2008; NELSON, 2015).

O diagnóstico consiste nos achados laboratoriais: hiperglicemia/ glicosúria, hipercetonemia/ cetonúria e acidose metabólica. Estes geralmente estão associados à manifestações clínicas condizentes com doença metabólica grave como anorexia, letargia, vômito e desidratação (NELSON, 2015). O ponto chave para o tratamento da CAD em cães é a administração de insulina exógena seja por via intravenosa sob a forma de infusão contínua ou por via intramuscular. Desta forma, o objetivo é cessar a lipólise e consequente formação de corpos cetônicos. O tratamento emergencial também inclui corrigir desequilíbrios hidro-eletrolíticos e ácido-base e abordar doenças concomitantes que possam ser causa de resistência à insulina (MACINTIRE, 1993).

Para a administração adequada de insulina é necessário um monitoramento frequente da glicemia. Recentemente uma forma alternativa de monitoramento glicêmico introduzida na medicina veterinária são os sistemas de monitoramento contínuo de glicose (SMCG). Estes aparelhos foram desenvolvidos para o uso em humanos há mais de duas décadas e desde então, estão cada vez mais sendo aplicados em cães e gatos. Através de um sensor introduzido no espaço subcutâneo, avaliam de forma contínua a concentração de glicose no fluido intersticial que apresenta boa correlação com a glicemia (SURMAN & FLEEMAN, 2013).

A primeira geração desses sistemas permitia apenas uma análise retrospectiva dos valores de glicemia após a desconexão e o carregamento dos dados, além disso, o monitor era

ligado ao sensor através de um fio, tornando necessário a sua fixação ao corpo do animal (REINEKE et al., 2010; AFFENZELLER et al., 2011). Os aparelhos mais recentes permitem visualizar os valores de glicemia em tempo real e apresentam conexão sem fio entre o sensor e o monitor (MORETTI et al., 2010; DIETIKER-MORETTI et al., 2011; HAFNER et al., 2013; SURMAN & FLEEMAN, 2013). A maioria dos trabalhos avaliando esses sistemas em cães e gatos utilizaram animais estáveis, sem comorbidades. Apenas um trabalho avaliou a utilização de um SMCG em pacientes felinos e caninos com cetoacidose diabética, o MiniMed Gold (Medtronic, USA), que demonstrou ter acurácia aceitável (REINEKE et al., 2010), porém o aparelho utilizado não permite a visualização dos valores em tempo real, apenas após a sua desconexão e descarregamento dos dados em um *software* o que torna seu uso obsoleto na prática clínica.

Recentemente, foi introduzido no mercado nacional uma nova categoria de aparelho, o Sistema “Flash” de Monitoramento de Glicose (SFMG) FreeStyle Libre (Abbott Diabetes Care, USA). Este avalia a concentração de glicose do espaço intersticial que é equivalente à glicemia e fornece o resultado na tela do monitor toda vez que este é aproximado do sensor. É o único com um sensor que não necessita de amostras de sangue para calibração e tem duração de até 14 dias. Até o momento apenas dois estudos avaliaram esse aparelho em cães. O primeiro avaliou o aparelho em cães diabéticos estáveis e mostrou boa precisão e aplicabilidade clínica (CORRADINI et al., 2016). Mais recentemente um segundo estudo avaliou esse aparelho em cães com cetoacidose diabética que também mostrou boa precisão clínica quando comparado ao método laboratorial de referência (MALERBA et al., 2019).

O objetivo deste trabalho é avaliar a precisão e aplicabilidade clínica do SFMG Freestyle Libre em cães com cetoacidose diabética atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina.

MATERIAL E MÉTODOS

CRITÉRIOS PARA SELEÇÃO DOS CASOS

Foram incluídos no estudo sete cães com CAD atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina. CAD foi definida como glicemia > 240 mg/dL, pH < 7.3 e/ou bicarbonato < 15 mmol/L na presença de hipercetonemia (beta hidroxibutirato $> 1,9$ mmol/ L) e/ou cetonúria. Estes também deveriam apresentar sinais clínicos compatíveis, como desidratação, anorexia, letargia ou vômito. Animais com volume globular inferior a 30% ou superior a 55% foram excluídos do estudo visando diminuir a interferência do volume globular na precisão do glicosímetro portátil que foi um dos métodos utilizados como referência (PAUL et al, 2011).

Antes da inclusão dos cães no estudo, os proprietários assinaram um termo de consentimento e o protocolo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (CEUA Nº 86/2017).

SISTEMA FLASH DE MONITORAMENTO DE GLICOSE

O SFMG Freestyle Libre consiste de um sensor descartável e um monitor. O sensor tem forma arredondada e apresenta um filamento flexível (5 mm de comprimento) que deve ser introduzido no espaço subcutâneo de forma transcutânea por meio do aplicador fornecido pelo fabricante. Após 60 minutos da aplicação do sensor, este transmite a glicemia atual para o monitor toda vez que é aproximado (distância inferior a 4 cm). Também aparece na tela uma seta indicativa se a glicemia está aumentando ou diminuindo e um gráfico com o histórico das últimas oito horas.

O aparelho mede a concentração de glicose do líquido intersticial do espaço subcutâneo que é equivalente à concentração de glicose no plasma. O sensor utiliza o método da glicose-oxidase, que mede uma corrente elétrica proporcional à concentração de glicose.

Esta aferição é realizada a cada um minuto e pode ser visualizada sempre que o monitor é aproximado do transmissor, caso isso não ocorra o sensor armazena os valores de glicemia em intervalos de quinze minutos durante até oito horas. Os limites de detecção do aparelho são de 20 a 500 mg/ dL, valores abaixo ou acima desse limite são transcritos como “Lo” e “Hi” respectivamente.

No presente estudo, o sensor foi introduzido no espaço subcutâneo da região cervical dorsal, lateralmente aos processos espinhosos. Uma área em torno de 5 x 5 cm foi tricotomizada, realizado limpeza com álcool 70%, e o sensor inserido com o auxílio do aplicador fornecido pelo fabricante, fixado com uma fita adesiva de polietileno microperfurado com adesivo acrílico hipoalergênico (Transpore^{mr} – 3M) e uma atadura de algodão cobriu toda a região cervical para uma maior proteção do sensor. Foi realizada a inspeção do local de aplicação diariamente para avaliar a presença de inflamação ou desprendimento do sensor.

PRECISÃO DO SFMG

Para a avaliação da precisão do SFMG foi realizada a aferição de forma simultânea da glicemia pelo SFMG e pelo glicosímetro portátil (GP) AlphaTRAK 2 (Zoetis, USA) a cada duas a quatro horas durante cinco dias. Vários trabalhos avaliaram esse GP veterinário em cães e gatos e demonstraram boa precisão quando comparado ao método laboratorial da hexoquinase (COHEN et al, 2009; ZINI et al, 2009). Também foram coletadas amostras pareadas de sangue total por punção da veia jugular externa e armazenadas em um tubo heparinizado a cada 12 horas, para aferição da glicemia pelo método laboratorial da hexoquinase (Dimension® Vista 1500, Siemens AG, Germany). Após a coleta do sangue, foi realizada a separação do plasma e a aferição da glicemia foi realizada em até 30 minutos para minimizar alterações no resultado devido consumo de glicose pelas células sanguíneas.

As amostras pareadas foram separadas pelos dias (1° ao 5°), pelas faixas de glicemia (hipoglicemia: <70 mg/dL, normoglicemia 70 – 180 mg/dL, hiperglicemia > 180 mg/dL) e pela escala de hidratação (0 a 3). A hidratação foi avaliada com base em uma escala de avaliação clínica (DAVIS et al, 2013), sendo classificada em 0 – normohidratado; 1 – desidratação leve; 2 – desidratação moderada e 3 – desidratação grave.

O volume globular (%) foi avaliado a cada 24 horas, animais que apresentaram VG > 55% ou inferior a 30% foram descartados do estudo.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram avaliados utilizando *software* estatístico (R Core Team, 2019). A correlação total entre os valores de glicemia pareados foi obtida utilizando-se o teste de Pearson.

Variações na precisão do aparelho em função do dia de utilização, da faixa de glicemia ou da escala de hidratação foram avaliadas utilizando-se a correlação de Spearman e o teste de Kruskal-Wallis com base na diferença dos valores SFMG e GP. A diferença foi considerada significativa se $p < 0,05$.

As diferenças entre os resultados pareados SFMG/GP e SFMG/hexoquinase foram plotados em relação aos valores de referência (GP e método da hexoquinase) usando o gráfico de diferenças Bland & Altman (BLAND & ALTMAN, 1986).

A precisão clínica da glicemia obtida pelo SFMG, em relação àquelas obtidas pelo método da hexoquinase e pelo GP, foi avaliada pela análise da grade de erro do consenso (PARKES et al, 2000). Os valores obtidos foram distribuídos em zonas que representam o risco resultante de uma medida incorreta: a zona A representa erros sem efeito clínico; a zona B representa valores que apresentam um desvio maior que 20% dos valores de referência, mas com pouco ou nenhum efeito no resultado clínico; zona C, erros que provavelmente afetarão o

desfecho clínico; zona D, pode ter risco médico significativo e zona E, erros que podem induzir a uma condução clínica de consequências perigosas (PARKES et al, 2000).

RESULTADOS

APLICABILIDADE

O SFMG foi bem tolerado nos pacientes que permaneceram com o sensor por cinco dias, sua aplicação foi fácil e aparentemente indolor em todos os cães, utilizou-se o aplicador fornecido pelo fabricante. Nos dois primeiros animais utilizados no estudo o sensor foi mantido durante 14 dias, nestes pacientes houve dermatite de contato importante ao adesivo que vem junto ao sensor e à fita adesiva utilizada para fixação. A dermatite de contato se resolveu poucos dias após a retirada do sensor, apenas com tratamento tópico.

Nos demais cães, o sensor foi retirado ao final do quinto dia, não havendo sinais significativos de inflamação cutânea (Fig. 1 B). Todos os cães do estudo receberam alta hospitalar ao quinto dia.

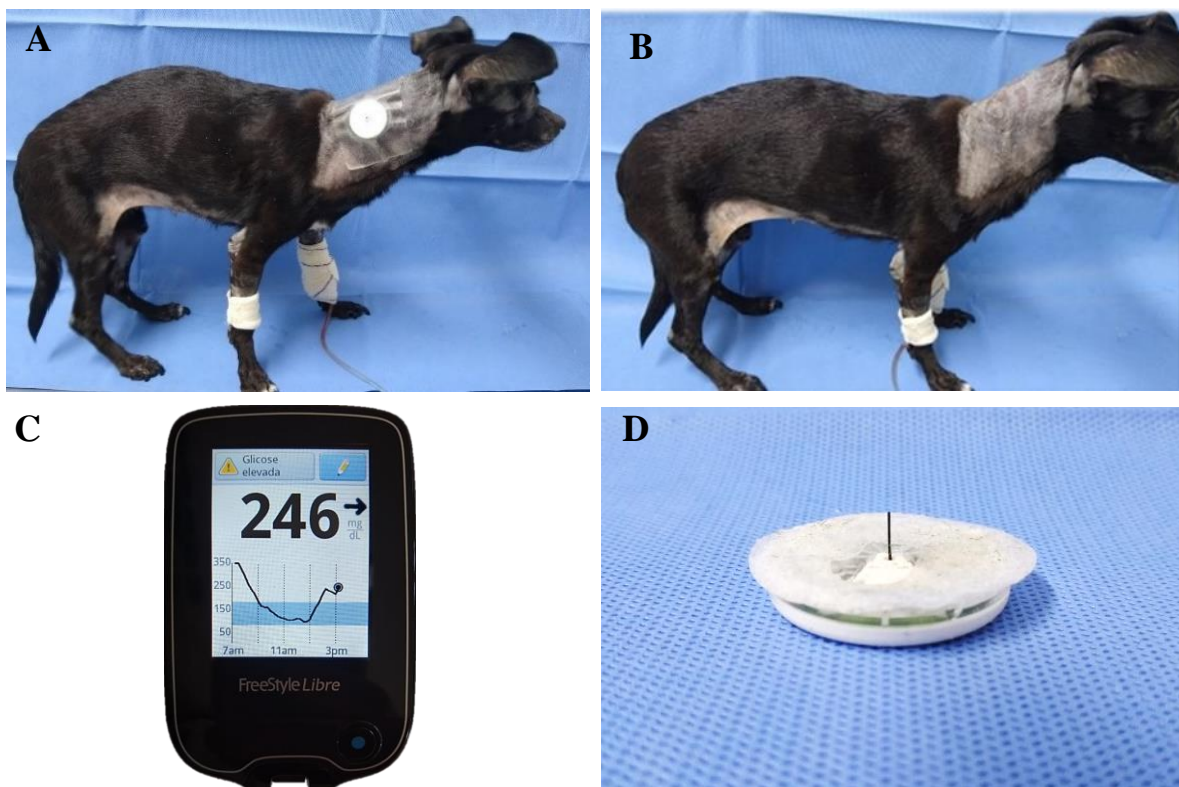


Figura 1 – Sensor Freestyle Libre no quinto dia de utilização em um cão, SRD, 10 anos, com CAD, atendido no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina. A – Sensor implantado na região cervical com uma fita adesiva para proteção; B – Sensor após a retirada da fita protetora; C – Monitor Freestyle Libre mostrando a glicemia atual, o gráfico das últimas 8 horas e a seta de tendência; D – Sensor após cinco dias de utilização;

PRECISÃO DO SFMG

Foram obtidas 239 amostras pareadas entre o SFMG e o GP, destas 7% (16) na faixa hipoglicêmica, 33% (80) na faixa normoglicêmica e 60% (143) na faixa hiperglicêmica. Foram coletadas 62 amostras pareadas entre o SFMG e o método da hexoquinase, 3% (2) na faixa hipoglicêmica, 24% (14) na faixa normoglicêmica e 79% (46) na faixa hiperglicêmica. Em um cão houve mau funcionamento do sensor e este foi excluído do estudo, portanto a análise estatística foi realizada com os dados de seis cães.

As glicemias medianas obtidas pelo SFMG, GP e hexoquinase foram respectivamente 198, 212 e 246 mg/dL. Utilizando o GP como referência, o SFMG subestimou os valores de glicemia em 79,9% dos dados, hiperestimou em 19,3% e foram idênticos em 0,8% (Fig. 2B). Com o método da hexoquinase como referência, o SFMG hipoestimou as glicemias em 84% das amostras, hiperestimou em 14% e foi idêntico em 2 % das amostras (Fig. 2A). A diferença entre os métodos foram plotadas em um gráfico de dispersão de Bland & Altman (1986), a média das diferenças entre os resultados obtidos pelo SFMG e o GP foi 50,76 mg/dL (0 a 425 mg/dL) e o percentual médio de variação foi 25 % (0 a 102%). Entre o SFMG e o método da hexoquinase a média das diferenças foi 42,17 mg/dL (0 a 322 mg/dL) e o percentual médio de variação foi 19% (0 a 73%).

A correlação entre os valores pareados do SFMG e o GP e dos valores pareados do SFMG e o método da hexoquinase foi significativa, $r: 0,89$ ($p < 0,0001$) (Fig. 2 C e E). Esta correlação quando separada pelas faixas de glicemias diminuiu consideravelmente. Utilizando o GP como referência, na correlação com os valores do SFMG foi $r: 0,33$, $r: 0,49$, $r: 0,74$ nas

faixas hipoglicêmicas, normoglicêmicas e hiperglicêmicas, respectivamente. A correlação entre os dois métodos de referência, GP e hexoquinase foi $r: 0,94$ ($p < 0,0001$).

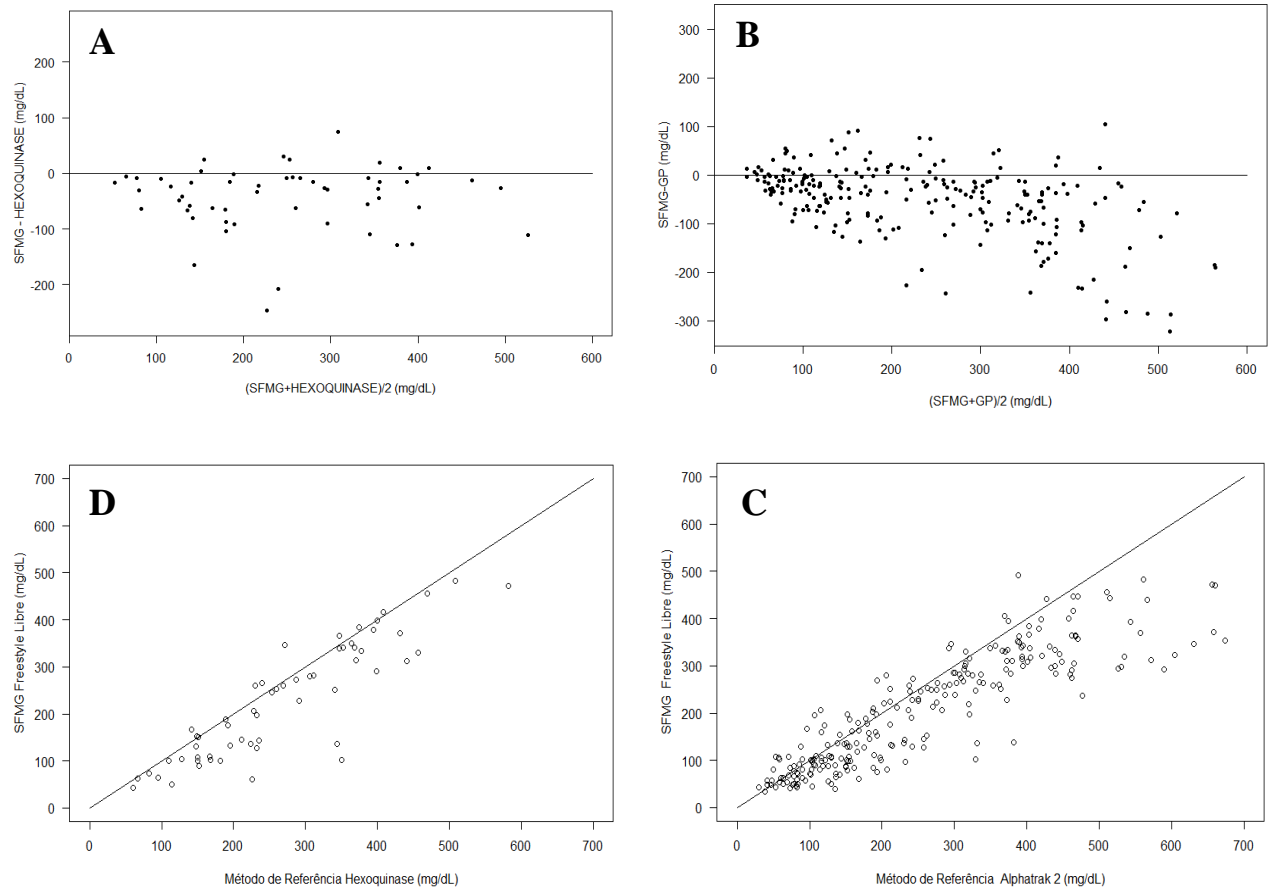


Figura 2. Gráfico de Bland-Altman da diferença entre os valores de glicemia obtidos pelo SFMG e o método da hexoquinase em cães com CAD (**A**). Gráfico de Bland-Altman da diferença entre os valores de glicemia obtidos pelo SFMG e o GP em cães com CAD (**B**). Gráfico da correlação de Pearson entre os valores de glicemia obtidos simultaneamente pelo SFMG e pelo método da hexoquinase em cães com CAD (**C**); Gráfico da correlação de Pearson entre os valores de glicemia obtidos simultaneamente pelo SFMG e pelo GP em cães com CAD (**D**).

Houve diferença estatística entre as faixas de glicemia (Kruskal-Wallis; $p < 0,0001$) sendo ligeiramente menos preciso na faixa hipoglicêmica. Com relação à hidratação, houve diferença significativa na precisão do aparelho (Kruskal-Wallis; $p: 0,019$), sendo menos

preciso em animais desidratados. Não houve diferença estatística na precisão do SFMG entre os dias (Kruskal Wallis; $p: 0,739$).

Pela análise da grade de erro do consenso (Parkes et al, 2000), utilizando o GP como referência, 49,79% dos valores de glicemia caíram na zona A, 45,61% na zona B totalizando 95,4% das amostras. Apenas 4.6 % dos dados caíram na zona C, nenhum dado caiu na zona D ou E. Utilizando o método da hexoquinase como referência, 60,35% dos valores de glicemia caíram na zona A, 34,48% na zona B e 5,17% na Zona C. Nenhum dado caiu na zona D ou E (Fig. 3).

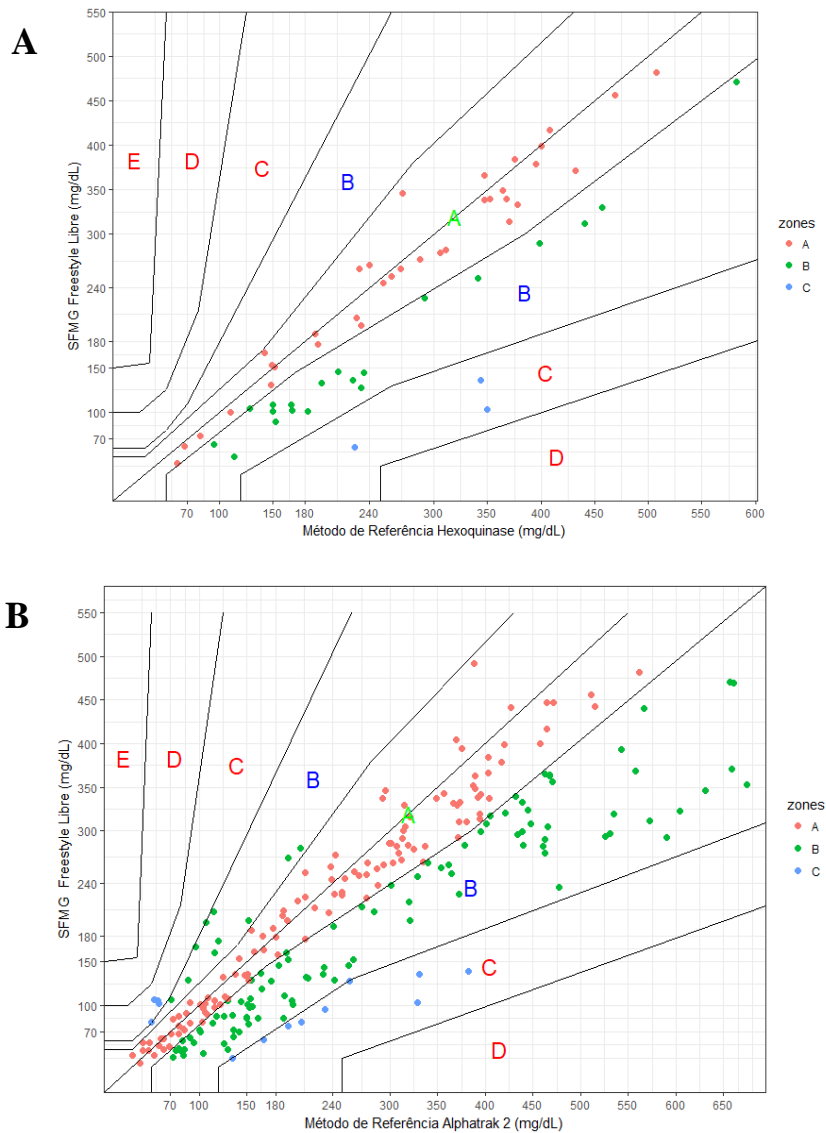


Figura 3. Avaliação pela análise da grade de erros do consenso (PARKES et al, 2000) do SFMG Freestyle Libre em cães com CAD. Os eixos das ordenadas representam os valores de glicemia obtidos pelo SFMG e os eixos das abscissas representam os valores de glicemia obtidos pelos métodos de referência da hexoquinase (A) e do GP (B).

DISCUSSÃO

Esse estudo foi realizado para avaliar o uso clínico e a precisão de um SFMG em cães com cetoacidose diabética. O monitoramento frequente da glicemia é imprescindível em animais com CAD e geralmente é realizado através de glicosímetros portáteis com amostras de sangue capilar. O uso de um SFMG dispensa a coleta de múltiplas amostras de sangue, portanto diminui o estresse durante a internação e também a carga de trabalho da equipe médica. Além disso os valores glicêmicos podem ser obtidos com um intervalo de tempo bem menor, proporcionando um ajuste mais precoce da insulino terapia, otimizando desta forma o tratamento (SURMAN & FLEEMAN, 2013; MALERBA et al, 2019).

Apesar de cada sensor ter durabilidade de até 14 dias, este estudo ateu-se aos primeiros cinco dias de tratamento após o diagnóstico de CAD que é o período onde um monitoramento mais frequente da glicemia é requerido. Também é neste período onde ocorre uma maior incidência de fatores que poderiam influenciar na precisão do SFMG como desidratação, hipoperfusão tecidual, acidose metabólica e rápidas flutuações da glicemia devido infusão de insulina de ação rápida ou de solução com glicose intravenosa (JACOBS et al, 2010; REINEKE et al, 2010).

A correlação entre os valores de glicemia obtidos pelo SFMG e os valores de glicemia do paciente tanto pelo GP quanto pelo método da hexoquinase foi significativa $r = 0,89$ ($p < 0,0001$). Semelhante ao trabalho anterior que avaliou esse mesmo aparelho em cães com cetoacidose diabética, onde a correlação foi $r = 0,88$ durante a CAD e $r = 0,93$ após a sua

resolução (MALERBA et al, 2019). Em um estudo avaliando um outro SMCG em cães e gatos com CAD, a correlação foi de $r = 0,86$ ($p < 0,001$) (REINEKE et al, 2010).

No presente estudo, a correlação foi menor quando separada pelas faixas de glicemia sendo inferior na faixa hipoglicêmica ($r = 0,33$) do que na normoglicêmica ($r = 0,49$) e hiperglicêmica ($r = 0,74$). Esta menor correlação na faixa hipoglicêmica era esperada, devido a um menor número de amostras quando comparado às outras faixas de glicemia. Corradini et al (2016) também relatou menor correlação na faixa hipoglicêmica avaliando este SFMG, porém, também teve um reduzido número de amostras nessa faixa glicêmica. Houve diferença estatística da precisão do aparelho entre as faixas de glicemia ($p > 0,05$), sendo menos preciso na faixa hipoglicêmica. Esta menor precisão do Freestyle Libre em menores concentrações de glicose também é descrita em pacientes humanos (FOKKERT et al, 2017).

Houve diferença na precisão do aparelho entre os diferentes escores de hidratação, sendo menos preciso em animais desidratados ($p < 0,05$). Em um trabalho avaliando um outro SMCG em cães com CAD também houve associação entre o estado de hidratação e a precisão do aparelho sendo ligeiramente mais preciso em cães hidratados (REINEKE et al, 2010). Em humanos não se recomenda o uso desse SFMG em pacientes gravemente enfermos ou desidratados pois os resultados podem não ser precisos (BLUM, 2018), portanto deve ser utilizado com cautela em cães com desidratação importante.

Diversos fatores podem interferir na concentração de glicose intersticial, há uma constante difusão de glicose pelos capilares e liberação de glicose no interstício. Apesar de haver um equilíbrio entre a concentração de glicose no plasma e no interstício essa difusão não é imediata e pode ocorrer um atraso quando ocorre uma mudança rápida na glicemia. Rebrin & Steil (2000) perceberam um atraso de cinco a 12 minutos para um equilíbrio entre a glicose plasmática e intersticial. Em gatos, o atraso médio foi de 11,4 minutos (intervalo: 8,8-19,7 minutos) após um bolus intravenoso de glicose (MORETTI et al, 2010). Em estudos em

humanos avaliando o Freestyle libre o tempo de atraso foi de 4,5 a 4,8 minutos (BAILEY et al, 2015). Isto é relevante em animais com CAD visto que geralmente são utilizadas insulinas de ação rápida e estes animais necessitam constantemente de infusão de soluções com glicose. Neste estudo, não foi avaliado o período necessário para o equilíbrio da concentração de glicose no interstício após uma brusca mudança da glicemia, porém sabe-se que é uma causa de imprecisão durante a CAD.

Clarke et al, (1987) criaram uma análise de grade de erro para avaliação clínica de precisão de métodos de aferição da glicemia baseada em suposições que refletem nas práticas clínicas dentro da medicina humana. Parkes et al (2000) adaptaram e criaram uma nova análise de grade de erro por meio de um consenso com mais de 100 endocrinologistas. Esta divide os valores pareados em cinco zonas de risco clínico com base no erro do sistema avaliado. O SFMG do presente estudo apresentou 95,4% dos valores nas zonas A e B que são as zonas clinicamente aceitáveis, onde há pouco ou nenhum efeito no resultado clínico, 4,6% dos dados caíram na zona C que pode induzir a alteração desnecessária no tratamento. Nenhum dado caiu nas zonas D e E. A zona D representa mudança na conduta clínica e pode ter risco significativo, a zona E representa tratamento contrário ao requerido (PARKES et al, 2000).

Algumas desvantagens para o uso do SFMG em cães e gatos são a necessidade de fitas adesivas e bandagens para proteção do sensor o que gera desconforto e pode ocasionar dermatite de contato. Isto foi minimizado quando o sensor permaneceu por apenas cinco dias e não quatorze que é o período máximo de utilização. Uma outra limitação é o risco de mal funcionamento do sensor que pode ocorrer em alguns animais, em nosso estudo, um cão foi excluído devido mal funcionamento do sensor. Diversas causas podem ser aventadas, como a colocação inadequada do sensor não atingindo o espaço subcutâneo, a movimentação do animal também pode levar a danos no filamento do sensor que fica inserido no subcutâneo ou

levar ao desprendimento do mesmo do local de inserção. Também pode ocorrer hemorragia local ou formação de trombo prejudicando a acuidade do sistema. Embora não tenha sido encontrada uma causa evidente no momento da retirada do sensor, recomenda-se sempre a aferição da concentração de glicose sanguínea por outro método quando os valores não forem os esperados ou não forem condizentes com os sinais clínicos apresentados.

Este estudo apresenta diversas limitações como o número reduzido de animais, a utilização de apenas um sensor por animal e o reduzido número de amostras em animais hipoglicêmicos. Para uma melhor avaliação serão necessários mais estudos com um número maior de animais avaliando diversas outras variáveis que podem afetar a precisão do aparelho durante a CAD.

Segundo os resultados encontrados, conclui-se que o SFMG Freestyle Libre é clinicamente preciso e pode ser utilizado em cães com CAD. Como esperado, a precisão do aparelho é inferior nesse grupo de animais quando comparado a animais estáveis, sem comorbidades, entretanto, quando se avalia o erro do aparelho em uma grade de erro, apresenta pouca influência no desfecho clínico. Recomenda-se a confirmação da glicemia com outros métodos laboratoriais, sempre que os valores não forem os esperados ou se aproximarem da faixa hipoglicêmica, visto que a precisão foi menor nessa faixa glicêmica.

REFERÊNCIAS

- AFFENZELLER, N. et al. Home-based subcutaneous continuous glucose monitoring in 10 diabetic dogs. **Veterinary Record-English Edition**, v. 169, n. 8, p. 206, 2011. doi: 10.1136/vr.d4315.
- BAILEY, T. et al. The performance and usability of a factory-calibrated flash glucose monitoring system. **Diabetes technology & therapeutics**, v. 17, n. 11, p. 787-794, 2015. doi: 10.1089/dia.2014.0378.

BLAND, J. M.; ALTMAN, D.G. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. **The lancet**, v. 327, n. 8476, p. 307-310, 1986. doi: 10.1016/S0140-6736(86)90837-8.

BLUM, Alyson. Freestyle Libre Glucose Monitoring System. **Clinical Diabetes**, v. 36, n. 2, p. 203-204, 2018. doi: 10.2337/cd17-0130.

CLARKE, W. L. et al. Evaluating clinical accuracy of systems for self-monitoring of blood glucose. **Diabetes Care**, v. 10, n. 5, p. 622-628, 1987. doi: 10.2337/diacare.10.5.622.

COHEN, T. A. et al. Evaluation of six portable blood glucose meters for measuring blood glucose concentration in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 235, n. 3, p. 276-280, 2009. doi: 10.2460/javma.235.3.276

CORRADINI, S. et al. Accuracy of a flash glucose monitoring system in diabetic dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 2016, 30.4: 983-988. doi: 10.1111/jvim.14355.

DAVIS, H., et al. 2013 AAHA/AAFP fluid therapy guidelines for dogs and cats. **Journal of the american animal hospital association**, 49(3), 149-159, 2013. doi: 10.5326/JAAHA-MS-5868.

DIETIKER-MORETTI, et al. Comparison of a continuous glucose monitoring system with a portable blood glucose meter to determine insulin dose in cats with diabetes mellitus. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 25, n. 5, p. 1084-1088, 2011. doi: 10.1111/j.1939-1676.2011.00778.x.

DUROCHER, L. L. et al. Acid-base and hormonal abnormalities in dogs with naturally occurring diabetes mellitus. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 232, n. 9, p. 1310-1320, 2008. doi: 10.2460/javma.232.9.1310.

FOKKERT, M. J. et al. Performance of the FreeStyle Libre Flash glucose monitoring system in patients with type 1 and 2 diabetes mellitus. **BMJ Open Diabetes Research and Care**, v. 5, n. 1, p. e000320, 2017. doi: 10.1136/bmjdr-2016-000320.

HAFNER, M. et al. Evaluation of sensor sites for continuous glucose monitoring in cats with diabetes mellitus. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 15, n. 2, p. 117-123, 2013. doi: 10.1177/1098612X12463925.

JACOBS, B. et al. Continuous glucose monitoring system in a rural intensive care unit: a pilot study evaluating accuracy and acceptance. **Journal of diabetes science and technology**, v. 4, n. 3, p. 636-644, 2010. doi: 10.1177/193229681000400318.

MACINTIRE, D. K. Treatment of diabetic ketoacidosis in dogs by continuous low-dose intravenous infusion of insulin. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 202, n. 8, p. 1266-1272, 1993.

MALERBA, E. et al. Accuracy of a flash glucose monitoring system in dogs with diabetic ketoacidosis. **Journal of veterinary internal medicine**, 2019. doi: 10.1111/jvim.15657

MORETTI, S. et al. Evaluation of a novel real-time continuous glucose-monitoring system for use in cats. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 24, n. 1, p. 120-126, 2010.

NELSON, R. W. Diabetic Ketoacidosis. In FELDMAN, E.C., NELSON, R.W., REUSCH, C.E., SCOTT-MONCRIEFF, C.R. (eds) **Canine and Feline Endocrinology**. St Louis, Elsevier Saunders, 2015. 4 ed, cap 8, p. 315 – 347.

PARKES, J. L. et al. A new consensus error grid to evaluate the clinical significance of inaccuracies in the measurement of blood glucose. **Diabetes care**, v. 23, n. 8, p. 1143-1148, 2000. doi: 10.2337/diacare.23.8.1143

PAUL, A. E., SHIEL, R. E., JUVET, F. et al. Effect of hematocrit on accuracy of two point-of-care glucometers for use in dogs. **American journal of veterinary research**, v. 72, n. 9, p. 1204-1208, 2011. doi: 10.2460/ajvr.72.9.1204.

REBRIN, K; STEIL, G. M. Can interstitial glucose assessment replace blood glucose measurements? **Diabetes technology & therapeutics**, v. 2, n. 3, p. 461-472, 2000. doi: 10.1089/15209150050194332.

REINEKE, E. L. et al. Accuracy of a continuous glucose monitoring system in dogs and cats with diabetic ketoacidosis. **Journal of veterinary emergency and critical care**, 20(3), 303-312, 2010. doi: 10.1111/j.1476-4431.2010.00538.x.

SURMAN, S.; FLEEMAN, L. Continuous glucose monitoring in small animals. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 43, n. 2, p. 381-406, 2013. doi: 10.1016/j.cvsm.2013.01.002.

ZINI E.; MORETTI S.; TSCHUOR F. et al. Evaluation of a new portable glucose meter designed for the use in cats. **Schweizer Archiv für Tierheilkunde**, v. 151, n. 9, p. 448-451, 2009. doi: 10.2460/javma.247.4.343.

**CAPÍTULO 2 – DIABETES *INSIPIDUS* CENTRAL
EM DOIS CÃES**

Diabetes insipidus central em dois cães

[*Central diabetes insipidus in two dogs*]

D. D. Silva^{1*}; *L. Padovani*²; *M. R. S. Balarin*³; *M. S. Zanutto*⁴

¹ Mestrando Profissional em Clínicas Veterinárias, Universidade Estadual de Londrina (UEL), PR, Brasil. E-mail: diegovl13@hotmail.com.

² Mestre Profissional em Clínicas Veterinárias, UEL, Londrina, PR, Brasil.

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Centro de Ciências Agrárias da UEL, PR, Brasil.

⁴ Departamento de Clínicas Veterinárias, Centro de Ciências Agrárias da UEL, PR, Brasil.

Resumo

O presente trabalho descreve aspectos clínico-laboratoriais, diagnóstico e tratamento de dois cães com diabetes *insipidus* central (DIC), ambos com histórico de poliúria e polidipsia desde o nascimento. O cão 1, sem raça definida, com três anos de idade, foi diagnosticado com DIC completo, onde há deficiência total de vasopressina e o teste confirmatório utilizado foi o de privação hídrica modificado. O cão 2, Yorkshire terrier, com sete anos de idade apresentou DIC parcial e o teste confirmatório utilizado foi o terapêutico com desmopressina. Ambos os testes confirmatórios só foram realizados após uma avaliação clínica detalhada e a exclusão das causas mais frequentes de poliúria e polidipsia.

Palavras-chave: poliúria, polidipsia, vasopressina, desmopressina, hipostenúria

Abstract

The present study describes clinical-laboratory aspects, diagnosis and treatment of two dogs with central diabetes insipidus (DIC), both with a history of polyuria and polydipsia since birth. The dog 1, mixed breed, three years old, was diagnosed with complete DIC, where there was total vasopressin deficiency and the confirmatory test used was modified water deprivation. The dog 2, Yorkshire terrier, seven years old, presented partial DIC and the confirmatory test used was the therapeutic one with desmopressin. Both confirmatory tests were only performed after a detailed clinical evaluation and exclusion of the most frequent causes of polyuria and polydipsia.

Keywords: polyuria, polydipsia, vasopressin, desmopressin, hyposthenuria.

Introdução

Diabetes *insipidus* (DI) é uma desordem poliúrica primária com polidipsia compensatória sendo classificada em diabetes *insipidus* central (DIC), quando decorrente de uma produção ou liberação deficiente de vasopressina, e diabetes *insipidus* nefrogênico, quando os rins apresentam uma resposta deficiente às ações da vasopressina a despeito da sua produção normal (Nelson, 2015). A vasopressina é produzida nos núcleos supra-óptico e paraventricular do hipotálamo e armazenada na neuro-hipófise de onde é secretada. Em cães é secretada de forma pulsátil e o principal estímulo para a sua liberação é o aumento da osmolalidade plasmática (van Vonderen et al, 2004).

A ação antidiurética da vasopressina deve-se pela ligação desta com receptores V2 localizados na membrana basolateral (intersticial) das células do ducto coletor. A ativação desses receptores leva a uma cascata de eventos celulares que culmina com a inserção de canais de água (aquaporina 2) na membrana apical dos ductos coletores levando a um aumento da permeabilidade à água da membrana luminal das células do ducto coletor. A água

reabsorvida deixa a célula de forma passiva através das aquaporinas 3 e 4 localizadas no lado basolateral da célula para o interstício hipertônico. Após a reabsorção de água suficiente, os níveis séricos de vasopressina diminuem e os canais de aquaporina 2 são internalizados da membrana apical. Desta forma, há o controle da quantidade de água excretada (Robben et al, 2006).

O DIC pode ser completo, quando não há produção de vasopressina, ou parcial, quando há produção, porém, insuficiente para a concentração adequada da urina e conservação de água. Embora casos idiopáticos sejam os mais comuns, qualquer afecção que danifique a produção ou a secreção de vasopressina pelo sistema hipotalâmico-hipofisário pode levar ao DIC (Nelson, 2015). Neoplasias primárias ou metástases em hipotálamo/hipófise ou estruturas adjacentes podem causar DIC principalmente em cães de meia idade a idosos (Harb et al, 1996). Traumatismo craniano ou procedimentos cirúrgicos como a hipofisectomia transfenoidal podem causar DIC transitório ou permanente (Authement et al, 1989; Teshima et al, 2011). Em cães também há relato de hipofisite linfocítica ocasionando DIC (Meij et al, 2012).

Os sinais clínicos do DI geralmente limitam-se a poliúria e polidipsia, mas podem haver outras manifestações clínicas associados à causa subjacente (Harb et al, 1996). Alterações ao hemograma e bioquímica sérica não são comuns, à urinálise animais com DIC geralmente apresentam hipostenúria como única alteração. Densidade urinária nos valores de isostenúria (1,008–1,015) não descartam a doença em cães com a forma parcial da doença (Harb et al, 1996; Nelson, 2015).

O diagnóstico baseia-se na exclusão das causas mais frequentes de poliúria/ polidipsia e em testes específicos como o teste terapêutico com a desmopressina ou o teste de privação hídrica modificado (Harb et al, 1996; Nichols, 2000). O tratamento do DIC consiste na administração exógena de vasopressina ou análogos como a desmopressina, o prognóstico é

dependente da causa subjacente, em casos idiopáticos ou congênitos geralmente há uma boa resposta ao tratamento (Nelson, 2015).

O objetivo deste trabalho é relatar dois casos caninos de DIC atendidos pelo Setor de Clínica Médica do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina ressaltando aspectos clínico-laboratoriais, diagnóstico e tratamento.

Relato de caso 1

O caso 1 trata-se de um canino, sem raça definida, macho, de três anos de idade, 8,15 Kg, não castrado, com queixa de poliúria e polidipsia desde o nascimento. Também foi referido noctúria e ingestão da própria urina quando havia alguma privação à ingestão de água. Ao exame físico e exames complementares (hemograma, bioquímica sérica, ultrassonografia abdominal total), não apresentou alterações significativas exceto leve hipocalemia (Tab. 1). À urinálise observou-se hipostenúria acentuada (densidade urinária de 1,002) como única alteração. Foi realizado urocultura sem crescimento bacteriano. A relação proteína/ creatinina urinária foi de 0,13 mg/ dL.

Tabela 1. Valores de bioquímica sérica e hemograma de dois cães com DIC atendidos no Setor de Clínica Médica do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina.

| Exame | Caso 1 | Caso 2 | Valores de Referência |
|---------------------------------------|--------|--------|-----------------------|
| Creatinina (mg/ dL) | 1,3 | 1,2 | (0,5 – 1,5) |
| Uréia (mg/ dL) | 45 | 39 | (21,4 – 60) |
| Alanina aminotransferase (U/L) | 68 | 32 | (11 – 87) |
| Fosfatase alcalina (U/L) | 63 | 54 | (12 – 110) |
| Proteínas totais (g/ dL) | 7,4 | 6,5 | (6 – 8) |
| Glicose (mg/ dL) | 110 | 102 | (70 – 110) |
| Sódio (mmol/ L) | 144,7 | 145,4 | (132 – 152) |
| Potássio (mmol/ L) | 3,58 | 3,99 | (3,9 – 5,8) |
| Cálcio ionizado (mmol/ L) | 1,36 | 1,35 | (1,25 – 1,5) |
| Hematócrito (%) | 38,8 | 51,8 | (37 – 55) |
| Leucócitos totais (/mm ³) | 12800 | 8900 | (6000 – 17000) |
| Plaquetas (/mm ³) | 300000 | 421000 | (200000 – 500000) |

Como o cão não apresentava alterações clínico-laboratoriais condizentes com outras causas de poliúria e polidipsia foi internado para realização do teste de privação hídrica modificado. Inicialmente, mensurou-se a ingestão diária de água *ad libitum* que foi em torno

de 3,7 litros (450 mL/Kg/dia). No dia seguinte foi iniciada a restrição hídrica gradual, sendo que no primeiro dia foram oferecidos 300 mL/Kg de água, no segundo 200 mL/Kg, no terceiro 100 mL/Kg e no quarto dia foi mantida a ingestão diária de 100 mL/Kg. As densidades urinárias nos quatro dias foram em ordem cronológica de 1,006, 1,004, 1,001 e 1,002.

No quinto dia a privação hídrica total teve início, essa fase consiste na privação total da ingestão de água até que o animal perca 3 a 5% do peso corpóreo ou a densidade urinária ultrapasse 1,030. O fornecimento de alimento foi interrompido 12 horas antes do início e durante o teste. Inicialmente a vesícula urinária foi esvaziada por sondagem uretral e a densidade urinária avaliada, o peso inicial do animal foi de 8,15 Kg. A cada duas horas o animal foi pesado após esvaziamento vesical e a densidade urinária foi avaliada. Durante a privação hídrica o cão apresentou densidade urinária abaixo de 1,002 durante as seis horas observadas (Tab. 2), tempo que levou para perder 3,7% do peso corporal (de 8,15 Kg para 7,85 Kg), mostrando incapacidade de concentrar a urina em resposta à desidratação. Neste momento, aplicou-se o acetato de desmopressina (preparação intranasal 0,1 mg/ml), sob forma de colírio, duas gotas em cada saco conjuntival e o cão apresentou densidade urinária de 1,014 e 1,022, duas e quatro horas após respectivamente, confirmando o diagnóstico de DIC. Após quatro horas da aplicação da desmopressina a ingestão de água foi gradativamente reinstituída. Prescreveu-se terapia com acetato de desmopressina, porém o proprietário optou pelo não tratamento por este ser dispendioso, o cão foi acompanhado durante cinco anos e não apresentou qualquer outra alteração clínica.

Tabela 2. Valores de densidade urinária e peso (Kg) do cão 1 durante o teste de privação hídrica modificado realizado no Setor de Clínica Médica do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina.

| Tempo (horas) | Densidade urinária | Peso (Kg) |
|-----------------------------|--------------------|-----------|
| 00:00 | 1,002 | 8,15 Kg |
| 02:00 | 1,001 | 8,05 Kg |
| 04:00 | 1,001 | 7,95 Kg |
| 06:00 | 1,002 | 7,85 Kg |
| *Aplicação de desmopressina | | |
| 08:00 | 1,014 | |
| 10:00 | 1,022 | |
| 12:00 | 1,016 | |

Relato de caso 2

O caso 2 trata-se de um canino, Yorkshire terrier, fêmea, sete anos, 4,7 Kg, castrado, com histórico de poliúria e polidipsia desde o nascimento. O proprietário também referiu cistite e urolitíase recidivantes, o animal já havia sido submetido a três procedimentos de cistotomia para retirada de cálculos vesicais em uma outra instituição, a última delas há cerca de um ano.

No momento do atendimento a única queixa referida pelo proprietário foi PU/ PD, o animal não apresentou alterações dignas de nota ao exame físico, hemograma, bioquímica sérica e ultrassonografia abdominal (Tab. 1). Foi realizado urinálise que mostrou densidade urinária de 1,008, o animal já havia realizado diversas urinálises anteriores onde a densidade urinária variou de 1,002 a 1,016. No momento do atendimento o animal não apresentou sinais de inflamação/infecção de trato urinário e na urocultura não houve crescimento bacteriano, a relação proteína/creatinina urinária foi de 0,1 mg/dL. À ultrassonografia abdominal também não apresentou alterações dignas de nota. O teste de supressão com baixa dose de dexametasona não mostrou hipercortisolismo.

Visto que o cão não apresentava alterações clínico-laboratoriais condizentes com outras causas de poliúria e polidipsia foi iniciado o teste de diagnóstico terapêutico com desmopressina para confirmação do DIC. Antes do início do teste a quantidade de água diária ingerida foi estimada com base em uma média de 3 dias consecutivos e foi de 1048 mL/ dia

(223 mL/Kg). Também foi utilizada a solução de desmopressina spray nasal (0,1 mg/ mL) no saco conjuntival, uma gota em cada olho a cada 12 horas durante sete dias e a ingestão hídrica diária e a densidade urinária foi reavaliada. O animal apresentou diminuição superior a 50% da ingestão diária de água com o tratamento e a densidade urinária no momento da reavaliação foi 1,032 (Tab. 3) confirmando o diagnóstico de DIC.

Tabela 3. Valores de ingestão hídrica diária e densidade urinária após o teste terapêutico com desmopressina e com 45 dias de tratamento em um cão com DIC atendido no setor de Clínica Médica da Universidade Estadual de Londrina.

| | Inicial | 7 dias de tratamento | 45 dias de tratamento |
|------------------------------|---------|----------------------|-----------------------|
| Densidade urinária | 1,008 | 1,032 | 1,030 |
| Ingestão de água (ml/Kg/dia) | 223 | 90 | 96 |

Foi instituído a terapia com acetato de desmopressina comprimido (0,05 mg) a cada 12 horas e o animal foi reavaliado com 45 dias de terapia. O proprietário referiu ingestão diária de água inferior a 100 mL/Kg, o animal deixou de apresentar noctúria significativa. A densidade urinária na reavaliação clínica foi de 1,030, não foi relatado qualquer efeito adverso com a terapia durante este período.

Discussão

O diabetes *insipidus* central não é frequente no cão, porém é um diagnóstico diferencial importante sempre que PD (ingestão de água > 100 mL/Kg/dia) e PU (quantidade de urina > 50 mL/Kg/dia) estão presentes, especialmente quando há hipostenúria (Nelson, 2015; Harb et al, 1996). PU e PD são sempre os sinais clínicos mais marcantes e geralmente únicos em animais com DI, embora outros sinais possam coexistir relacionados à causa subjacente como neurológicos em casos de trauma ou neoplasia (Authement et al, 1989; Nelson, 2015). Os animais do presente estudo apresentavam PU/PD importante desde o nascimento e não apresentaram alterações clínicas adicionais no momento do diagnóstico. No

primeiro caso a ingestão de água era 450 mL/Kg/dia e no segundo, 223 mL/Kg/dia. O desejo insaciável por água pode levar cães com DI à ingestão de qualquer líquido incluindo a própria urina (Nelson, 2015), o que foi relatado no caso 1.

A hipostenúria é definida como densidade urinária menor que 1,008 e indica que a osmolalidade da urina é inferior à do plasma. Urinálises aleatórias de cães e gatos com DI comumente mostram densidades urinárias menores que 1,006 (Aroch et al, 2005; Nelson, 2015). São poucas as condições que levam a essa extrema diluição urinária, dentre elas, as principais são diurese pós desobstrução uretral, fluidoterapia em excesso, uso de diuréticos, hiperadrenocorticismo, diabetes *insipidus* central ou nefrogênico e polidipsia psicogênica (Nelson, 2015). Em um estudo de 20 casos de cães com DIC, 16 destes apresentavam densidade urinária menor que 1,008, os demais na faixa isostenúrica (Harb et al, 1996). O cão 1 apresentou densidade urinária menor que 1,006 em todas as avaliações anteriores à administração de desmopressina, no caso 2 os valores variaram da faixa hipostenúrica até ligeiramente acima da faixa isostenúrica (1,002 a 1,016).

No caso 1, após a exclusão das causas mais frequentes de PU/PD, o diagnóstico definitivo foi realizado com base em um teste de privação hídrica modificado que avalia se o animal é capaz de liberar vasopressina endógena de forma adequada em resposta a desidratação e se os rins respondem a esse hormônio (Mulnix et al, 1976). O tempo necessário para que o cão desidratasse 3%, que é a desidratação necessária para que se tenha o pico de secreção de vasopressina, foi de apenas seis horas. Isto remete à forma completa da doença visto que cães com deficiência total de vasopressina desidratam rapidamente, demorando de três a dez horas para perder 3% do peso corporal. Cães com a forma parcial da doença ou polidipsia psicogênica podem demorar um período de tempo maior (Nelson, 2015). O cão não apresentou nenhuma resposta à desidratação visto que permaneceu hipostenúrico durante toda

essa fase de restrição hídrica não alcançando nem a faixa isostenúrica (Tab. 2) o que reforça o diagnóstico de DIC completo.

Neste primeiro caso não foi possível um acompanhamento terapêutico visto que o proprietário optou pelo não tratamento. Desde que o animal tenha acesso irrestrito à água, a ausência de terapia não traz maiores consequências, haja visto que o animal consegue manter a homeostase através da ingestão compensatória de líquidos. A principal desvantagem é que se, por algum motivo, o animal venha a interromper o consumo de água, poderá apresentar desidratação hipertônica importante dentro de poucas horas, visto que a deficiência de vasopressina impossibilita a concentração adequada urinária e conservação de água (Harb et al, 1996; Nelson, 2015).

No caso 2 o teste confirmatório foi o teste terapêutico com desmopressina, um análogo da vasopressina que apresenta maior efeito antidiurético, mínimo efeito vasoconstritor e é mais resistente à degradação metabólica que o hormônio natural (Richardson e Robinson, 1985). Atualmente, tem-se priorizado a utilização deste teste visto a sua maior praticidade e segurança. O teste de privação hídrica modificado, apesar de tradicionalmente indicado na literatura, traz maiores riscos relacionados à desidratação hipertônica (Nelson, 2015). A resposta ao tratamento foi avaliada apenas ao sétimo dia visto que a hipertonicidade da medular renal pode estar comprometida em animais com poliúria crônica o que pode impedir a concentração adequada da urina nos primeiros dias (Nichols, 2000). A diminuição da ingestão diária de água superior a 50% como aconteceu neste caso confirma o diagnóstico de DIC (Nichols, 2000). Como em densidades urinárias anteriores ao tratamento, o animal atingiu a faixa isostenúrica e até ligeiramente acima (1,016), pode-se concluir tratar-se de uma deficiência parcial de desmopressina e não completa como no caso anterior.

Uma condição atípica no caso 2 é o histórico de urolitíase vesical recidivante, sabe-se que para a formação de urólitos vesicais, a concentração urinária é um fator importante e

desencadeante, porém neste caso a urina era extremamente diluída devido ao DIC. É a primeira vez que urolitíase é relatada em um cão com DI. Pode-se inferir como um possível fator desencadeante a infecção bacteriana de trato urinário inferior, fato confirmado em urinálises e uroculturas anteriores, porém os procedimentos de cistotomia não foram realizados em nossa instituição e os urólitos não foram avaliados quanto à sua composição mineral. Estas infecções vesicais bacterianas podem estar associadas à extrema diluição urinária visto que a alta osmolalidade/densidade urinária é um fator protetor (Seguin, 2003). Harb et al. (1996) relataram crescimento bacteriano em quatro de 17 uroculturas realizadas em cães com DIC. No momento do diagnóstico o cão do caso 2 não apresentava qualquer sinal clínico ou laboratorial de inflamação/infecção vesical há pelo menos um ano e na urocultura não houve crescimento bacteriano.

O prognóstico é dependente da etiologia e está intimamente ligado à idade. Em cães mais jovens com DIC, o prognóstico é favorável visto que geralmente ocorre a forma idiopática. Em cães mais velhos com DIC adquirido, o prognóstico é reservado a ruim, especialmente em casos onde há sinais neurológicos, visto que neoplasia é uma causa importante nestes animais (Harb et al, 1996; Nelson, 2015). Os cães 1 e 2 apresentavam três e sete anos respectivamente, porém a PU e PD foram relatadas desde o nascimento o que torna o prognóstico mais favorável. O cão 1 foi acompanhado durante cinco anos após o diagnóstico e o cão 2 por um ano, ambos não apresentaram qualquer alteração clínica adicional.

Com estes dois casos conclui-se que apesar de não ser uma doença frequente, DI deve entrar no diagnóstico diferencial de doenças que cursam com poliúria e polidipsia principalmente quando há hipostenúria. Urina na faixa isostenúrica não descarta a doença em cães com deficiência parcial de vasopressina. Os testes diagnósticos confirmatórios como o

terapêutico ou o de privação hídrica modificado só devem ser realizados após a exclusão das causas mais frequentes de poliúria e polidipsia.

Referências

- AROCH, I., MAZAKI-TOVI, M., SHEMESH, O., SARFATY, H., & SEGEV, G. (2005). Central diabetes *insipidus* in five cats: clinical presentation, diagnosis and oral desmopressin therapy. *Journal of feline medicine and surgery*, v. 7, n. 6, p. 333-339, 2005.
- AUTHEMENT, J. M.; BOUDRIEAU, R. J.; KAPLAN, P. M. Transient, traumatically induced, central diabetes *insipidus* in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 194, n. 5, p. 683-685, 1989.
- HARB, M. F., NELSON, R. W., FELDMAN, E. C., SCOTT-MONCRIEFF, J. C., & GRIFFEY, S. M. (1996). Central diabetes *insipidus* in dogs: 20 cases (1986-1995). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 209, n. 11, p. 1884-1888, 1996.
- MEIJ, B. P., VOORHOUT, G., GERRITSEN, R. J., GRINWIS, G. C. M., & IJZER, J. (2012). Lymphocytic hypophysitis in a dog with diabetes *insipidus*. *Journal of comparative pathology*, 147(4), 503-507.
- MULNIX, J. A.; RIJNBERK, A.; HENDRIKS, H. J. Evaluation of a modified water-deprivation test for diagnosis of polyuric disorders in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 169, n. 12, p. 1327-1330, 1976.
- NELSON, R. W. Water Metabolism and Diabetes *insipidus*. In FELDMAN, E.C., NELSON, R.W., REUSCH, C.E., SCOTT-MONCRIEFF, C.R. (eds) *Canine and Feline Endocrinology*. St Louis, Elsevier Saunders, 2015. 4 ed, cap 1, p. 1 – 36.

NICHOLS, R: Use of DDAVP in the diagnosis and treatment of diabetes *insipidus*. In Bonagura JD (ed): *Current Veterinary Therapy XIII*. Philadelphia, WB Saunders, 2000, p 325-326.

RICHARDSON, D. W., & ROBINSON, A. G. (1985). Drugs five years later: desmopressin. *Annals of internal medicine*, 103(2), 228-239.

ROBBEN, J. H.; KNOERS, N. VAM; DEEN, P. M. Cell biological aspects of the vasopressin type-2 receptor and aquaporin 2 water channel in nephrogenic diabetes *insipidus*. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, v. 291, n. 2, p. F257-F270, 2006.

SEGUIN, M. A., VADEN, S. L., ALTIER, C., STONE, E., & LEVINE, J. F. (2003). Persistent urinary tract infections and reinfections in 100 dogs (1989–1999). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17(5), 622-631.

TESHIMA, T., HARA, Y., TAODA, T., TERAMOTO, A., & TAGAWA, M. (2011). Central diabetes *insipidus* after transphenoidal surgery in dogs with Cushing's disease. *Journal of Veterinary Medical Science*, 73(1), 33-39.

VAN VONDEREN, I. K. et al. Pulsatile secretion pattern of vasopressin under basal conditions, after water deprivation, and during osmotic stimulation in dogs. *Domestic animal endocrinology*, v. 27, n. 1, p. 1-12, 2004.

**CAPÍTULO 3 – LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA
EM UM GATO COM INFECÇÃO REGRESSIVA
PELO VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA**

Leucemia mieloide aguda em um gato com infecção regressiva pelo vírus da leucemia felina

[Acute myeloid leukemia in a cat with feline leukemia virus regression]

D. D. Silva^{1}; S. I. Miyashiro²; K. K. M. C Flaiban³; G. W. Di Santis³; M. S. Zanutto⁴*

¹ Mestrando Profissional em Clínicas Veterinárias, Universidade Estadual de Londrina (UEL), PR, Brasil. E-mail: diegovl13@hotmail.com.

² Patologista clínica – Idexx Laboratories, São Paulo, SP, Brasil.

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Centro de Ciências Agrárias da UEL, PR, Brasil.

⁴ Departamento de Clínicas Veterinárias, Centro de Ciências Agrárias da UEL, PR, Brasil

Resumo

Descreve-se um caso de leucemia mieloide aguda em um felino, sem raça definida, macho, 2 anos atendido no Hospital Veterinário da Universidade de Londrina. O diagnóstico de leucemia foi obtido com base na contagem de figuras blásticas em sangue periférico e medula óssea. A confirmação da origem mieloide se deu através de imuno-histoquímica que mostrou positividade para o marcador mieloperoxidase, lisozima e CD163 e foi negativa para marcadores linfóides como CD20, CD79a, PAX5 e CD3. A classificação como M1 se deu pela presença de pelo menos 90% de blastos na medula óssea, e positividade para mieloperoxidase em >3% das células. O felino veio a óbito 35 dias após o primeiro atendimento, durante esse período houve um crescimento expressivo na contagem de blastos circulantes que chegou a 72.096/mm². O mesmo apresentou anemia grave arregenerativa durante todo esse período a despeito de quatro transfusões sanguíneas realizadas. Foi realizado um teste rápido com metodologia ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) para detecção de antígenos (p27) do vírus da leucemia felina (FeLV) ou anticorpos para o vírus da imunodeficiência felina (FIV), ambos negativos. Após o óbito foi realizado PCR de aspirado esplênico que mostrou a presença de material genético viral (provírus).

Considerando que o animal não era virêmico pode-se concluir tratar de uma infecção regressiva por FeLV levando a leucemia mieloide aguda.

Palavras-chave: retrovírus, neoplasia, FeLV, oncogênese, anemia

Abstract

A case of acute myeloid leukemia in a feline, undefined, male, 2 years old is described. The diagnosis was obtained based on the count of blastic figures in peripheral blood and bone marrow. Confirmation of myeloid origin occurred through immunohistochemistry that showed positivity for myeloperoxidase, lysozyme and CD163 and was negative for lymphoid markers such as CD20, CD79a, PAX5 and CD3. The classification as M1 was due to the presence of > 90% of blasts in the bone marrow, and positivity to myeloperoxidase in > 3% of the cells. The feline died 35 days after the first care, during that period there was an expressive growth in the count of circulating blasts that reached 72096 / mm². He presented severe arregenerative anemia throughout this period despite seven blood transfusions. A rapid ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) ELISA test for feline leukemia virus (FeLV) or feline immunodeficiency virus (FIV) antibodies, both negative, was performed. After death, PCR was performed on a spleen fragment that showed the presence of viral genetic material (provirus). Considering that the animal was not viremic it can be concluded that it treats a regressive infection by FeLV leading to acute myeloid leukemia.

Keywords: retrovirus, neoplasia, FeLV, oncogenesis, anemia

Introdução

Leucemia mieloide aguda (LMA) é uma neoplasia de origem hematopoiética incomum em felinos caracterizada pela presença de >20% de blastos de origem mieloide na medula óssea (McManus, 2005). A literatura veterinária em relação à LMA é limitada, especialmente em relação aos felinos (Prihirunkit et al, 2008).

A maioria dos felinos com LMA é positiva para o vírus da leucemia felina (FeLV). em um estudo com 44 gatos com LMA (28) ou síndrome mielodisplásica (16), cerca de 84% dos animais eram virêmicos (Blue et al, 1988). Todas as linhagens de células hematopoiéticas são susceptíveis à transformação pelo FeLV, o que pode resultar em doenças mieloproliferativas ou síndromes mielodisplásicas (Blue et al, 1988; Breuer et al, 1999).

As leucemias mieloides e síndromes mielodisplásicas em humanos são classificadas de acordo com os critérios *French-American-British* (FAB). Esta classificação avalia a citomorfologia e análise citoquímica de células da medula óssea e de sangue periférico (Bennett et al, 1976). Foi adaptada para cães e gatos posteriormente (Jain et al, 1991) o que permitiu uma maior padronização da classificação das leucemias nestes animais.

Leucemia mielóide aguda pode ser confundida com linfóide aguda se os blastos forem classificados apenas por esfregaços corados em Romanowsky (Prihirunkit et al, 2008), portanto, testes adicionais como citoquímica ou imunofenotipagem geralmente são necessários. Leucemia mieloblástica aguda sem maturação (M1) ou com maturação (M2) e eritroleucemia (M6) são consideradas as variantes mais comuns de neoplasias mieloides reconhecidas em gatos. Em um estudo com 107 gatos com LMA, leucemia mieloblástica aguda sem diferenciação (M1) e com diferenciação (M2) juntas foram as mais frequentes (30,9%) (Jain, 1993).

Na leucemia a medula óssea é preenchida por figuras blásticas e a hematopoiese normal é suprimida o que pode resultar em citopenias dos demais tipos celulares (Hisasue et al, 2009). O objetivo deste trabalho é descrever aspectos clínico-laboratoriais de um caso de leucemia mielóide aguda em um gato com infecção regressiva pelo vírus da leucemia felina.

Relato de caso

Foi atendido no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina um felino, macho, sem raça definida (SRD), dois anos, 4 kg, não castrado, com histórico inespecífico de apatia, hiporexia há 2 dias e perda de peso há cerca de 3 semanas. Ao exame físico, o animal apresentava desidratação moderada, hepatomegalia e esplenomegalia importante, mucosas pálidas, baixo escore de condição corporal (3/9), taquicardia, taquipneia, apresentando aumento leve de linfonodos submandibulares e poplíteos, não apresentava febre. Ao hemograma apresentou anemia arregenerativa grave, leucocitose e presença de blastos circulantes semelhantes a linfoblastos (Fig. 1 A e B). Aos exames de bioquímica sérica apenas leve azotemia pré-renal (desidratação). Animal foi internado e realizado a primeira transfusão sanguínea, deste momento até o óbito, o animal permaneceu com anemia grave a despeito de outras três transfusões realizadas.

Ao longo de 35 dias de acompanhamento, a contagem de figuras blásticas teve um aumento significativo acompanhada de uma diminuição de quase todos os demais tipos celulares, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1. Hemogramas seriados de um felino, SRD, macho, 2 anos com leucemia mieloblástica aguda, desde o primeiro atendimento até o momento do óbito.

| DIA | DIA 1* | DIA 3 | DIA 4 | DIA 6 | DIA 17* | DIA 19* | DIA 24 | DIA 33* |
|---------------------------------------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|--------|---------|
| HEMATÓCRITO (%) | 9,7% | 12,9% | 12% | 11,3% | 6,7% | 6,5% | 7,3% | 6,7% |
| RETICULÓCITOS (/MM ³) | 2190 | 3040 | 2880 | 2690 | - | 1650 | 1840 | 1550 |
| LEUCÓCITOS TOTAIS (/MM ³) | 30800 | 24400 | 28300 | 30300 | 47000 | 33300 | 47400 | 75100 |
| NEUTRÓFILOS (/MM ³) | 7084 | 4148 | 3396 | 9999 | 1880 | 999 | 2370 | 3004 |
| BLASTOS (/MM ³) | 20444 | 19276 | 24621 | 19392 | 44180 | 32301 | 44556 | 72096 |
| PLAQUETAS (/MM ³) | 420000 | 350000 | 129000 | 140000 | 98000 | 48000 | 69000 | 45000 |

* Realização de transfusão sanguínea (sangue total).

Fonte: Arquivo HV-UEL

Realizou-se o teste Snap Combo Plus (Idexx, EUA) para verificar a presença de anticorpos contra o Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) ou antígenos (p27) circulantes do Vírus da Leucemia Felina (FeLV), utilizando o método ELISA, ambos negativos.

O exame citológico de aspirado de medula óssea, corado pelo método Giemsa, mostrou grande número de blastos com citoplasma abundante basofílico, cromatina frouxa, nucléolo evidente e várias figuras de mitose correspondendo a cerca de 90% da população celular. Granulócitos diferenciados e monócitos somaram menos que 10% da população celular. Havia hipoplasia importante da série eritróide o que justificou a anemia arregenerativa. Neste primeiro momento a leucemia foi classificada erroneamente como de origem linfoide devido à morfologia semelhante a linfoblastos.

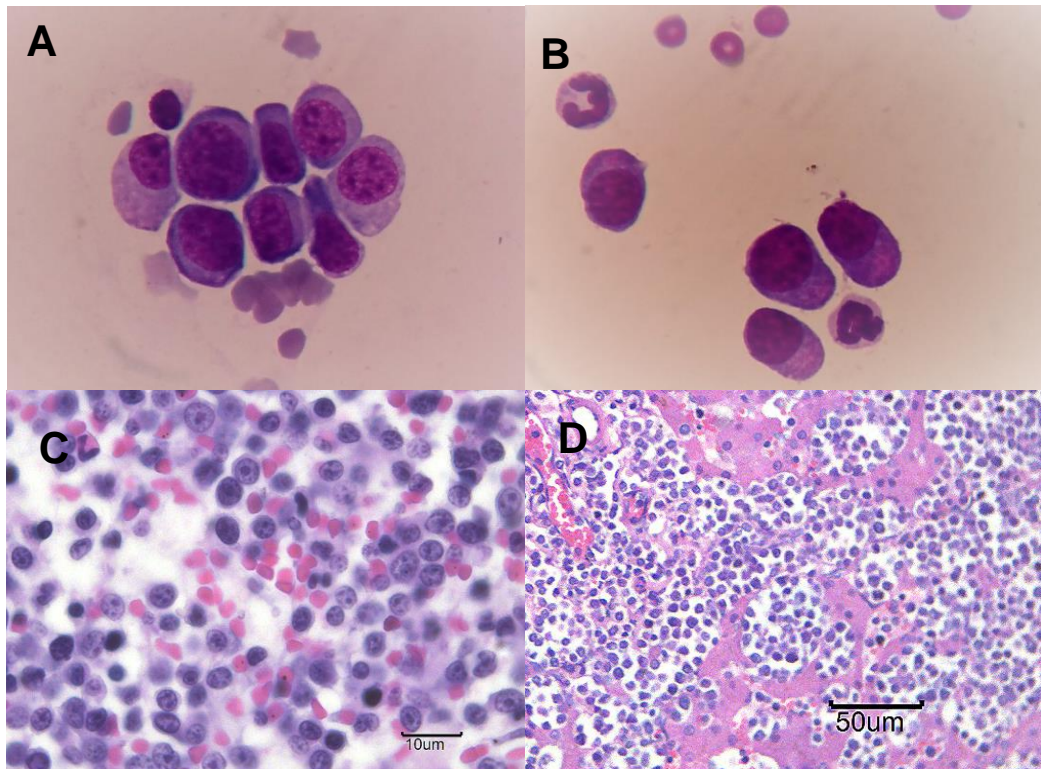


Figura 1: A e B: Blastos apresentando cromatina grosseira, núcleos excêntricos, alguns com nucléolos evidentes, citoplasma basofílico, por vezes com grânulos e projeções citoplasmáticas irregulares, anisocitose e anisocariose em esfregaço de medula óssea. C: Exame histopatológico de medula óssea de fêmur com predomínio de blastos. D: Exame histopatológico de fragmento de fígado mostrando infiltração maciça de células neoplásicas.

O animal veio a óbito cerca de 35 dias após o primeiro atendimento, não foi realizado nenhum protocolo quimioterápico exceto corticoterapia (Prednisona 4 mg/ kg a cada 12 horas). Durante esse período apresentou aumento exponencial do número de blastos circulantes correspondendo a mais de 72.000 células/mm³ no último hemograma realizado. O diagnóstico definitivo só foi obtido *post mortem* com a necropsia e análise imuno-histoquímica de um fragmento da medula óssea. A necropsia evidenciou invasão neoplásica maciça da medula óssea e em diversos órgãos avaliados como fígado, baço, linfonodo jejunal e rins (Fig. C e D). Ao exame imuno-histoquímico de fragmento de medula óssea não houve marcação para marcadores de linfócitos (CD20, CD79a, PAX5, CD3, Granzima B) porém foi positivo para marcadores mieloides (Mieloperoxidase, CD163 e Lisozima) o que confirmou a origem mielóide. Também foi positivo para o marcador de proliferação celular K167 (Fig. 2).

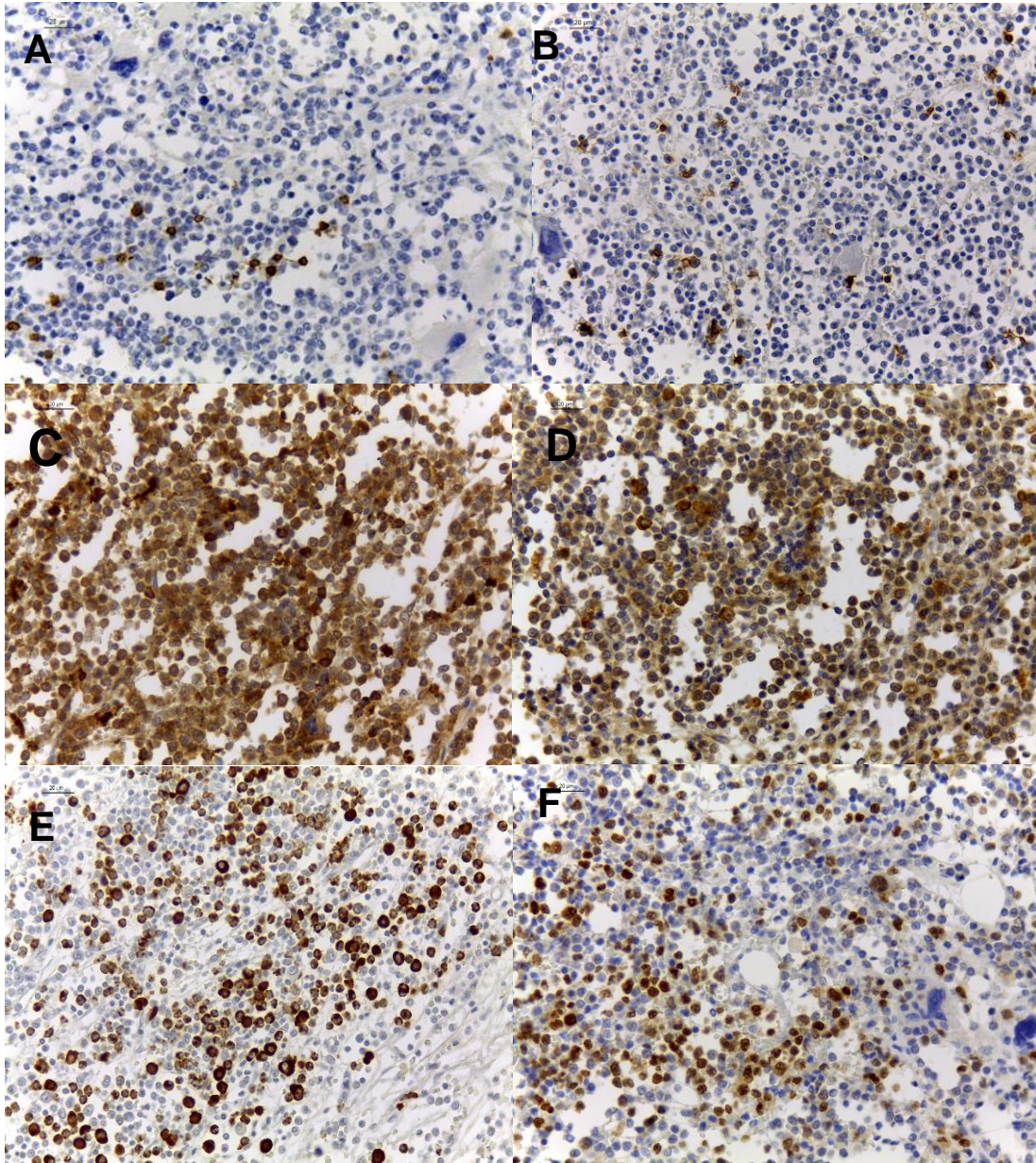


Figura 2. Exame imuno-histoquímico de um fragmento de medula óssea do fêmur de um felino com leucemia mieloblástica aguda. **A:** Marcador CD3 negativo; **B:** CD20 negativo; **C:** CD 163 positivo; **D:** Lisozima positivo; **E:** Mieloperoxidase positivo; **F:** K167 positivo.

Foi realizada PCR (*Polymerase Chain Reaction*) de aspirado esplênico que amplificou material genético específico para o provírus (DNA proviral) do FeLV, portanto, considerando que o mesmo não era virêmico, confirmou-se a infecção regressiva pelo FeLV levando a transformação neoplásica da linhagem mieloide.

Discussão

O presente trabalho descreve aspectos clínico-laboratoriais de um felino com leucemia mieloide aguda. As leucemias mielóides são classificadas como leucemia aguda indiferenciada, ou de M1 a M7 de acordo com o tipo celular e o grau de maturação (Jain et al 1991). Para essa classificação, são utilizadas avaliação citomorfológica de esfregaços de sangue periférico e aspirado de medula óssea corados em Romanowski e avaliação citoquímica do material (Jain et al 1991). No presente trabalho a avaliação citoquímica foi substituída pela caracterização imunofenotípica da linhagem celular.

O diagnóstico inicial foi realizado apenas pela avaliação citomorfológica e a leucemia foi classificada erroneamente como linfoblástica aguda devido à semelhança das figuras blásticas a linfoblastos. Posteriormente após a realização da imuno-histoquímica a leucemia foi reclassificada com mieloide aguda sem maturação (M1). Esse é um erro comum em leucemias mieloides quando se utiliza apenas esfregaços de medula óssea corados em Romanowski ou Giemsa para a classificação (MASHITA et al, 2006).

No caso relatado, a imuno-histoquímica foi positiva para mieloperoxidase em > 3% das células neoplásicas, o que comprova a origem mieloide e visto o grande número de blastos (90%) e a pequena maturação granulocítica a leucemia foi classificada como M1. Segundo o consenso, para ser classificada em M1 o animal deve apresentar >90 % de figuras blásticas e monócitos e granulócitos < 10% (Jain et al, 1991).

A infecção pelo FeLV é relatada em diversos casos de leucemia mieloide aguda (Mylonakis et al, 2008; Rohn et al, 1994). Em um trabalho onde uma cepa de FeLV oriunda de um felino com LMA foi injetada em outros gatos induziu síndrome mielodisplásica em 41% dos animais, alguns destes evoluíram para LMA (Hisasue et al, 2009). O felino relatado não apresentava viremia detectável porém ao exame de PCR foi detectado DNA viral (provírus) que estava associado ao genoma do animal, confirmando a infecção regressiva. É sabido que animais com infecção regressiva também podem desenvolver neoplasias devido a inserção do DNA viral (provírus) de forma aleatória no genoma do hospedeiro. Essa inserção pode levar a ativação de oncogenes, inativação de genes supressores de tumores ou ainda, o próprio vírus pode conter oncogenes que são englobados ao genoma do felino infectado. Apesar de menos frequente no gato regressor, esses distúrbios proliferativos podem ocorrer (Jackson et al, 1993; Rohn et al, 1994).

O prognóstico de leucemias mieloides agudas é mau, visto que ocorre uma rápida substituição dos precursores da medula óssea por células blásticas levando à citopenias muitas

vezes incompatíveis com a vida (Jain, 1993). O felino do presente estudo tinha 2 anos no momento do diagnóstico e teve um tempo de sobrevivência de apenas 35 dias após o primeiro atendimento.

Referências

- BENNETT, J. M., CATOVSKY, D., DANIEL, M. T., et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias French-American-British (FAB) Co-operative Group. *British journal of haematology*, 33(4), 451-458, 1976.
- Blue JT, French TW, Kranz JS. Non-lymphoid hematopoietic neoplasia in cats: a retrospective study of 60 cases. *Cornell Vet.*; 78:21–42, 1988.
- Breuer, W., Hermanns, W., & Thiele, J. Myelodysplastic syndrome (MDS), acute myeloid leukaemia (AML) and chronic myeloproliferative disorder (CMPD) in cats. *Journal of comparative pathology*, 121(3), 203-216, 1999.
- Hisasue, M., Nagashima, N., Nishigaki, K., Fukuzawa, I., Ura, S., Katae, H., ... & Tsujimoto, H. Myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia in cats infected with feline leukemia virus clone33 containing a unique long terminal repeat. *International journal of cancer*, 124(5), 1133-1141, 2009.
- Jackson, M. L., Haines, D. M., Meric, S. M., & Misra, V. Feline leukemia virus detection by immunohistochemistry and polymerase chain reaction in formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissue from cats with lymphosarcoma. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 57(4), 269, 1993.
- Jain, N. C. Classification of myeloproliferative disorders in cats using criteria proposed by the Animal Leukaemia Study Group: A retrospective study of 181 cases (1969–1992). *Comparative Haematology International*, 3(3), 125-134, 1993.
- Jain, N. C., Blue, J. T., Grindem, C. B., Harvey, J. W., Koclba, G. J., Krehbiel, J. D., ... & Zinkl, J. G. Proposed criteria for classification of acute myeloid leukemia in dogs and cats. *Veterinary clinical pathology*, 20(3), 63-82, 1991.
- MASHITA, T., SHIMODA, T., YOSHIOKA, H., TAKAHASHI, Y., & MITSUDA, M. A cat with acute myeloblastic leukemia without maturation (M1) treated with combination chemotherapy. *Journal of veterinary medical science*, 68(1), 97-101, 2006.
- McManus, P. M. Classification of myeloid neoplasms: a comparative review. *Veterinary clinical pathology*, 34(3), 189-212, 2005.

Mylonakis, M. E., Petanides, T. A., Valli, V. E., Vernau, W., Koytinas, A. F., & Michael, R. S. Acute myelomonocytic leukaemia with short-term spontaneous remission in a cat. *Australian veterinary journal*, 86(6), 224-228, 2008.

Prihirunkit, K., Narkkong, N. A., & Apibal, S. Acute monoblastic leukemia in a FeLV-positive cat. *Journal of veterinary science*, 9(1), 109-111, 2008.

Rohn, J. L., Linenberger, M. L., Hoover, E. A., & Overbaugh, J. Evolution of feline leukemia virus variant genomes with insertions, deletions, and defective envelope genes in infected cats with tumors. *Journal of Virology*, 68(4), 2458-2467, 1994.

ANEXOS

ANEXO A – PROTOCOLO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OF. CIRC. CEUA Nº 86/2017

Londrina, 03 de Julho de 2017.

Prezado (a) professor (a)

Certificamos que o projeto intitulado: “Avaliação da precisão de um aparelho de monitoramento contínuo de glicemia em cães e gatos.” protocolo CEUA nº12589.2017.35 sob a responsabilidade de **Marcelo de Souza Zanutto**, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (CEUA/UEL), em reunião realizada em **27/06/2017**.

O objetivo é avaliar a precisão do aparelho de monitoramento contínuo de glicemia Freestyle Libre (Abbott, RU) em cães e gatos atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina no período de julho/2017 a fevereiro/2019. Grau de invasividade=1

| | |
|----------------------------|---|
| Vigência do Projeto | 01/07/2017 a 28/02/2019 |
| Espécie/linhagem | Cão (Grupo IV) / Variável Gato / Variável |
| Nº de animais | Cão - 60 e Gato - 60 |
| Peso/idade | Variável / Variável Variável / Variável |
| Sexo | Machos e Fêmeas / Machos e Fêmeas |
| Origem | Hospital Veterinário - UEL |
| Amostras a serem coletadas | Sangue |

Cumpra-se orientar que caso pretendam-se quaisquer alterações no protocolo experimental aprovado, deve-se submeter o novo protocolo à apreciação da CEUA/UEL anteriormente à execução das modificações.

Coloco-me à disposição para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessária. Sem mais para o momento, subscrevo, cordialmente.

Profa. Dra Glaura Scantamburlo Alves Fernandes
Coordenadora da CEUA/UEL

Ilmo.(a) Sr.(a)
Prof. (a) Dr (a). Marcelo de Souza Zanutto
Responsável pelo projeto
Departamento DCV

C/C para a Clínica Veterinária
C/C para a Chefia do Depto DCV
C/C para a Direção de Centro do CCA

ANEXO B – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DA “ABMVZ”

Política Editorial

O periódico **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** (Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science), ISSN 0102-0935 (impresso) e 1678-4162 (on-line), é editado pela FEPMVZ Editora, CNPJ: 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de artigos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal, aquacultura e áreas afins.

Os artigos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). Os artigos cujos textos necessitarem de revisões ou correções serão devolvidos aos autores. Os aceitos para publicação tornam-se propriedade do **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (ABMVZ)** citado como **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclusiva ao **ABMVZ**.

Reprodução de artigos publicados

A reprodução de qualquer artigo publicado é permitida desde que seja corretamente referenciado. Não é permitido o uso comercial dos resultados.

A submissão e tramitação dos artigos é feita exclusivamente on-line, no endereço eletrônico
<<http://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo>>.

Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no endereço www.scielo.br/abmvz.

Orientações Gerais

- Toda a tramitação dos artigos é feita exclusivamente pelo Sistema de publicação online do Scielo – ScholarOne, no endereço <http://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo> sendo necessário o cadastramento no mesmo.
- Leia "[PASSO A PASSO – SISTEMA DE SUBMISSÃO DE ARTIGOS POR INTERMÉDIO DO SCHOLARONE](#)"
- Toda a comunicação entre os diversos autores do processo de avaliação e de publicação (autores,

revisores e editores) será feita apenas de forma eletrônica pelo Sistema, sendo que o autor responsável pelo artigo será informado automaticamente por e-mail sobre qualquer mudança de status do mesmo.

- Fotografias, desenhos e gravuras devem ser inseridos no texto e quando solicitados pela equipe de editoração também devem ser enviados, em separado, em arquivo com extensão JPG, em alta qualidade (mínimo 300dpi), zipado, inserido em "Figure or Image" (Step 6).
- É de exclusiva responsabilidade de quem submete o artigo certificar-se de que cada um dos autores tenha conhecimento e concorde com a inclusão de seu nome no texto submetido.
- O **ABMVZ** comunicará a cada um dos inscritos, por meio de correspondência eletrônica, a participação no artigo. Caso um dos produtores do texto não concorde em participar como autor, o artigo será considerado como desistência de um dos autores e sua tramitação encerrada.

Comitê de Ética

É indispensável anexar cópia, em arquivo PDF, do Certificado de Aprovação do Projeto da pesquisa que originou o artigo, expedido pelo CEUA (Comitê de Ética no Uso de Animais) de sua Instituição, em atendimento à Lei 11794/2008. O documento deve ser anexado em "Ethics Conmitee" (Step 6). Esclarecemos que o número do Certificado de Aprovação do Projeto deve ser mencionado no campo Material e Métodos.

Tipos de artigos aceitos para publicação

Artigo científico

É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente na "Title Page" – Step 6), Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão), Conclusões, Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a 15, incluindo tabelas, figuras e Referências.

O número de Referências não deve exceder a 30.

Relato de caso

Contempla principalmente as áreas médicas em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente na "Title Page" - Step 6), Resumo, Abstract, Introdução, Casuística, Discussão e Conclusões (quando pertinentes), Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a dez, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

Comunicação

É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental digno de publicação, embora insuficiente ou inconsistente para constituir um artigo científico.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente na "Title Page" - Step 6). Deve ser compacto, sem distinção das seções do texto especificadas para "Artigo científico", embora seguindo àquela ordem. Quando a Comunicação for redigida em português deve conter um "Abstract" e quando redigida em inglês deve conter um "Resumo".

O número de páginas não deve exceder a oito, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

Preparação dos textos para publicação

Os artigos devem ser redigidos em português ou inglês, na forma impessoal.

Formatação do texto

- O texto **NÃO** deve conter subitens em nenhuma das seções do artigo, deve ser apresentado em arquivo Microsoft Word e anexado como "Main Document" (Step 6), no formato A4, com margem de 3cm (superior, inferior, direita e esquerda), na fonte Times

New Roman, no tamanho 12 e no espaçamento de entrelinhas 1,5, em todas as páginas e seções do artigo (do título às referências), **com linhas numeradas**.

- Não usar rodapé. Referências a empresas e produtos, por exemplo, devem vir, obrigatoriamente, entre parêntesis no corpo do texto na seguinte ordem: nome do produto, substância, empresa e país.

Seções de um artigo

Título: Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e não ultrapassar 50 palavras.

Autores e Filiação: Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com identificação da instituição a qual pertencem. O autor e o seu e-mail para correspondência devem ser indicados com asterisco somente no "Title Page" (Step 6), em arquivo Word.

Resumo e Abstract: Deve ser o mesmo apresentado no cadastro contendo até 200 palavras em um só parágrafo. Não repetir o título e não acrescentar revisão de literatura. Incluir os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-los, quando for o caso. Cada frase deve conter uma informação completa.

Palavras-chave e Keywords: No máximo cinco e no mínimo duas*.

* na submissão usar somente o Keyword (Step 2) e no corpo do artigo constar tanto keyword (inglês) quanto palavra-chave (português), independente do idioma em que o artigo for submetido.

Introdução: Explanação concisa na qual os problemas serão estabelecidos, bem como a pertinência, a relevância e os objetivos do trabalho. Deve conter poucas referências, o suficiente para balizá-la.

Material e Métodos: Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Nos trabalhos que envolvam animais e/ou organismos geneticamente modificados **deverão constar obrigatoriamente o número do Certificado de Aprovação do CEUA**. (verificar o Item Comitê de Ética).

Resultados: Apresentar clara e objetivamente os resultados encontrados.

Tabela. Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela. O título da tabela recebe

inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Tabela 1.). No texto, a tabela deve ser referida como Tab seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Tab. 1), mesmo quando referir-se a várias tabelas (ex.: Tab. 1, 2 e 3). Pode ser apresentada em espaçamento simples e fonte de tamanho menor que 12 (o menor tamanho aceito é oito). A legenda da Tabela deve conter apenas o indispensável para o seu entendimento. As tabelas devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

Figura. Compreende qualquer ilustração que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema etc. A legenda recebe inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Figura 1.) e é citada no texto como Fig seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Fig.1), mesmo se citar mais de uma figura (ex.: Fig. 1, 2 e 3). Além de inseridas no corpo do texto, fotografias e desenhos devem também ser enviados no formato JPG com alta qualidade, em um arquivo zipado, anexado no campo próprio de submissão, na tela de registro do artigo. As figuras devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

Nota: Toda tabela e/ou figura que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, informação sobre a fonte (autor, autorização de uso, data) e a correspondente referência deve figurar nas Referências.

Discussão: Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. (Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto a juízo do autor, sem prejudicar qualquer uma das partes).

Conclusões: As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada e serem apresentadas de forma objetiva, **SEM** revisão de literatura, discussão, repetição de resultados e especulações.

Agradecimentos: Não obrigatório. Devem ser concisamente expressados.

Referências: As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, dando-se preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. Livros e teses devem ser referenciados o mínimo possível, portanto, somente quando indispensáveis. São adotadas as normas gerais da ABNT, **adaptadas** para o ABMVZ, conforme exemplos:

Como referenciar:

1. Citações no texto

A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para

evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:

- autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88);
- dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974);
- mais de dois autores: (Ferguson *et al.*, 1979) ou Ferguson *et al.* (1979);
- mais de um artigo citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson *et al.* (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson *et al.*, 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para artigos do mesmo ano.

Citação de citação. Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão **citado por** e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Nas Referências deve-se incluir apenas a fonte consultada.

Comunicação pessoal. Não faz parte das Referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

2. Periódicos (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores *et al.*):

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.

3. Publicação avulsa (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores *et al.*):

DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. *Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte*. 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

4. Documentos eletrônicos (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores *et al.*):

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critca16.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. Miami Herald, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-Summit-RelatedArticles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.

Taxas de submissão e de publicação

- **Taxa de submissão:** A taxa de submissão de R\$60,00 deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico do Conveniar <http://conveniar.fepmvz.com.br/eventos/#servicos> (necessário preencher cadastro). Somente artigos com taxa paga de submissão serão avaliados. Caso a taxa não seja quitada em até 30 dias será considerado como desistência do autor.
- **Taxa de publicação:** A taxa de publicação de R\$150,00 por página, por ocasião da prova final do artigo. A taxa de publicação deverá ser paga por meio de depósito bancário, cujos dados serão fornecidos na aprovação do artigo.
OBS.: Quando os dados para a nota fiscal forem diferentes dos dados do autor de contato deve ser enviado um e-mail para abmvz.artigo@abmvz.org.br comunicando tal necessidade.

SOMENTE PARA ARTIGOS INTERNACIONAIS

- **Submission and Publication fee.** The publication fee is of US\$100,00 (one hundred dollars) per page, and US\$50,00 (fifty dollars) for manuscript submission and will be billed to the corresponding author at the final proof of the article. The publication fee must be paid through a bank slip issued by the electronic article submission system. When requesting the bank slip the author will inform the data to be intle invoice issuance.

Recursos e diligências

- No caso de o autor encaminhar resposta às diligências solicitadas pelo ABMVZ ou documento de recurso o mesmo deverá ser anexado em arquivo Word, no item "Justification" (Step 6), e também enviado por e-mail, aos cuidados do Comitê Editorial, para abmvz.artigo@abmvz.org.br.
- No caso de artigo não aceito, se o autor julgar pertinente encaminhar recurso o mesmo deve ser feito pelo e-mail abmvz.artigo@abmvz.org.br.