

PERFIL BIOQUÍMICO EM AVES: UTILIDADE NA PRÁTICA*

Introdução

Na maioria dos casos, o perfil bioquímico das aves é tomado como uma ferramenta que apenas é usada para a pesquisa ou em trabalhos científicos e poucas vezes se considera como uma técnica diagnóstica útil para a clínica aviária; além disso, que o critério geral é que só pode ser empregada para casos relacionados com aves silvestres e animais de companhia, e especialmente para indivíduos e não para populações.

O perfil bioquímico é utilizado em diversas espécies domésticas para monitorar a saúde e para a identificação de possíveis doenças subclínicas. Nas aves o uso desta ferramenta está limitado a lotes comerciais porque muitas vezes não se conta com valores de referência para explorações avícolas, assim, a principal dificuldade é que muitas das vezes os dados são obtidos a partir de indivíduos e não de populações. Isso constitui um problema quando se querem fazer comparações. Outro problema é que a maior parte dos dados se baseia num tamanho pequeno de amostras, o que pode diminuir a significância estatística dos resultados porque muitos parâmetros obtidos de indivíduos têm influência de fatores específicos como a idade, o sexo, e o estado produtivo (Bowes et al., 1989)

A clínica aviária está relacionada com uma medicina de populações, sendo que muitas vezes as inferências que podem ser feitas em um lote não são úteis quando se quer avaliar um indivíduo. Atualmente o uso do perfil bioquímico nas aves está aumentando por o incremento na demanda por atenção aos mascotes; outro aspecto a destacar é que hoje a quantidade de sangue requerida para a realização de provas bioquímicas é pequena, por causa do desenvolvimento dos chamados micro-métodos (Kaneko et al., 1997).

Na clínica aviária, como em outras espécies, os perfis laboratoriais devem ser considerados como uma ferramenta que contribui ao diagnóstico de uma doença. O veterinário deve fazer uso destes resultados em combinação com o histórico do caso, o exame clínico, e as lesões observadas (González e Silva, 2006) tentando sempre fazer um diagnóstico integral. O presente trabalho procurará amostrar a utilidade do perfil bioquímico em aves, tanto para casos individuais (aves silvestres, mascotes de estimação) como para situações que se apresentam com certa frequência na indústria avícola onde se pratica a medicina de populações.

* Seminário apresentado pela aluna MARTHA PULIDO LANDINEZ na disciplina BIOQUÍMICA DO TECIDO ANIMAL, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no primeiro semestre de 2010. Professor responsável pela disciplina: Félix H. D. González.

1. Coleta das amostras em aves

A coleta das amostras de sangue nas aves tem a particularidade que pode oferecer perigo para a vida do paciente se não se têm em conta as condições específicas desses animais. Assim, é importante lembrar vários aspectos da fisiologia e anatomia das aves que estão relacionados com a coleta de amostras:

1.1.Cuidados a ter no momento da coleta da amostra

O primeiro que o clínico deve saber e que a frequência cardíaca das aves é muito maior que nas outras espécies. Um pássaro pequeno (ex. canário) pode ter uma frequência cardíaca entre 500 até 1000 pulsações por minuto (Swenson e O'Reece, 1996), então a simples manipulação para começar a avaliação clínica pode ser crítica para o coração. Por isso é muito importante que o veterinário não faça o exame clínico imediatamente após a chegada do animal ao consultório, sendo necessário que o pássaro tenha um tempo de adaptação ao lugar. É preferível que o pássaro esteja sempre com o dono e seja esta a pessoa que faça a manipulação inicial; em caso contrário a mascote pode apresentar uma alta frequência cardíaca e morte por falha cardíaca. No possível a iluminação no consultório deve ser branca, pois a luz da cor amarela pode gerar maior nervosismo nas aves. Outra coisa importante é que a pessoa que vai a fazer a coleta não tenha as mãos frias, pois pode gerar um grau de desconforto no paciente; também recomendasse usar uma toalha ou um pano e luvas finas para pegar o animal (Laboratório de Patologia Aviária, Universidade Nacional da Colômbia, LPA-UN, 2010).

Em relação à coleta de amostras na granja é importante saber que muitas enzimas podem ser alteradas se as aves são estressadas demais no momento da coleta. Esta é uma das principais causas dos falsos positivos em diferentes provas. É importante procurar que as aves fiquem tranquilas no momento da coleta. O principal problema nas granjas muitas vezes está relacionado com o lugar anatômico para a coleta da amostra, tema que será discutido a seguir.

1.2.Coleta das amostras

Sempre que se coleta sangue em aves, em particular se for uma ave pequena, deve pensar-se nas possíveis respostas do animal à perda do sangue. As aves podem suportar melhor a perda de sangue que um mamífero porque têm uma maior capacidade para a mobilização do fluido extra-

vascular (Lumeij, 1997). Um gato ou um cão podem morrer mais rápido, tirando uma porcentagem de sangue menor, do que uma galinha ou pombo.

Em aves saudáveis é possível tirar uma quantidade de sangue até 3% de seu peso corporal sem efeito deletério. Quando se trabalha com aves doentes pode-se tirar um máximo de 1% do peso corporal do paciente. Na prática recomenda-se coletar máximo 1 mL para aves pequenas y máximo 5 mL para pássaros maiores. Também se deve ter em conta que se a análise é feita no plasma, é necessária maior quantidade de sangue. É importante salientar que o uso de apenas uma amostra de sangue em mascotes pode limitar a análise e levar a informações erradas (Lumeij, 1997), por isso recomenda-se coletar duas amostras de cada indivíduo.

1.3. Principais vasos sanguíneos e locais para a coleta da amostra

- Veia jugular direita: é utilizada com frequência porque é uma veia com baixa predisposição a formar hematomas. Embora, a manipulação errada do paciente pode trazer consequências negativas para a vida do animal (afogamento) (Figura 1). Tem que evitar-se usar esta veia especialmente em avestruzes, pelo o risco para o pássaro e o veterinário.
- Veia metatársica medial: pode usar-se para a coleta de múltiplas amostras em aves grandes e que tenham problemas para acessar a veia jugular como é o caso dos pombos e em geral as aves que tenham comida em o papo (Figura 1) (Boettcher, 2004)
- Veia da asa ou veia ulnar: é o sítio mais usado atualmente para aves comerciais. Oferece a possibilidade de poder observar fácil a veia porque a área tem poucas penas ao redor (Figura 1). Pode-se desinfetar a zona com algodão e álcool para uma melhor visualização. Em animais da companhia não se recomenda usar a veia da asa por sua predisposição a formar hematomas.
- Crista: a crista das aves é um lugar muito irrigado; não é recomendado tirar sangue desta zona devido à possibilidade de produzir hemorragia, principalmente em climas muito frios. Este lugar é utilizado para a coleta da amostra de sangue periférico, necessária para a realização de esfregaço na avaliação de hemoparasitas (ex. *Leucocytozoon spp*, *Aegyptinella pullorum*).
- Seio venoso-occipital: é usado com sucesso em aves de todo tamanho, em especial pássaros pequenos. O lugar da coleta está na união da base do crânio com a primeira vértebra cervical. Em aves pequenas têm que extremar os cuidados devido a possibilidade de colocar a agulha muito perto do cérebro e ocasionar a morte (Figura 1).

- Coração: Não é recomendado o uso da punção cardíaca por causa da formação de coágulos que podem causar tamponamento. É frequente que as aves morram depois da coleta de sangue com este método. A pessoa que use este lugar para a coleta de sangue tem que ter muita habilidade para não incorrer em erros (Figura 1).
- Corte de dedo: Não se recomenda atualmente. É um método que causa dor nas aves, além de que as amostras podem contaminar-se com fluidos e fezes e o volume de sangue extraído ser limitado.

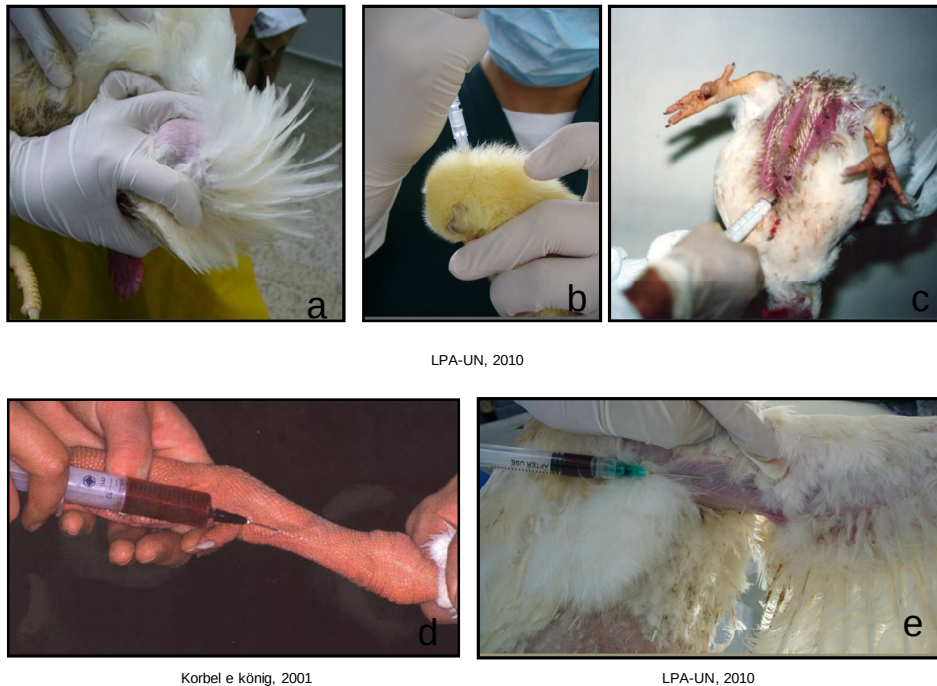


Figura 1. Principais locais para a coleta da amostra de sangue nas aves: a: veia jugular direita. B: seio venoso-occipital c: coração d: veia metatársica medial e: veia ulnar ou veia da asa.

1.4.Cuidados manejo da amostra

Para ter resultados confiáveis no perfil bioquímico das aves é necessário que o clínico tenha uma rotina específica, que incluía a obtenção da amostra sempre no mesmo lugar (preferivelmente a veia da asa ou ulnar) e utilizar materiais de boa qualidade (se recomenda usar tubos com vácuo de 3 mL). Como regra geral, muito importante em mascotes, o local para a coleta da amostra sempre tem que ser desinfetado; podendo ser usado álcool. Deve ser usada apenas uma agulha para cada ave (em especial para mascotes e aves silvestres) e processar a

amostra rapidamente. Devido a que muitas das provas bioquímicas são colorimétricas, a amostra não deve receber muita luminosidade.

O consumo de alimento ou o jejum podem influenciar os resultados. Em estudos realizados em pombos por Lumeij (1997), o jejum por quatro dias não provocou hipoglicemia, mas três dias sem alimento causaram hiperglicemia. O aumento do ácido úrico e da concentração total de bile foram evidentes quando a amostra foi coletada no período imediatamente depois do consumo de alimento. Embora, seja muito difícil garantir que as aves com saúde não consumam alimento; no caso contrário, nas aves doentes, pode ser um sinal da enfermidade a anorexia. Também podem influir o ritmo circadiano, a idade, a nutrição e o estado produtivo (postura) (Bowes, 1989; Lumeij, 1997; Schmidt et al., 2007). A lipemia pode interferir nas análises, muitas vezes as amostras de sangue podem ficar gelificadas por o alto conteúdo de gorduras, por isso é recomendado obter as amostras de aves com jejum, sempre à mesma hora; mas isso é tarefa complicada. Esta recomendação pode aplicar-se para pesquisas onde o consumo do alimento possa controlar-se. Além disso, considerando a natureza da anatomia e fisiologia digestiva destes animais, é difícil a obtenção de um estado de jejum seguro (Campbell, 2004). Por estas razões é recomendado que cada laboratório tenha uma rotina específica e valores de referência que permitam fazer comparações com os valores obtidos em cada prova.

Com relação ao anticoagulante a usar, existe discrepância sobre qual é o melhor; muitos laboratórios preferem a heparina (Campbell, 2004). Está comprovado que o EDTA causa rompimento dos eritrócitos em muitas espécies de aves, causando hemólise progressiva (grua, corvo, pavão). Os anticoagulantes como EDTA, oxalato e citrato não devem ser utilizados para determinações bioquímicas porque podem quelar íons e assim interferir com as provas enzimáticas (González e Silva, 2006; Schmidt et al., 2007).

Muitos autores recomendam que as amostras de sangue das aves sejam processadas rapidamente, não podendo ultrapassar mais de 60 minutos entre a coleta e o processamento. Um dos exemplos para ilustrar esta recomendação está no metabolismo do potássio; este elemento pode diminuir no sangue de pombos até 10% em 10 minutos, 30% em meia hora e mais de 65% em 2 horas. Em frangos, o potássio pode diminuir até 29% em duas horas. O AMP cíclico produzido pela liberação das catecolaminas durante a coleta de amostras de sangue em aves é o mediador do transporte de potássio dentro do eritrócito aviar. Isso pode ser a causa da rápida mobilização dos íons de K desde o plasma até a hemácia no sangue das aves. Assim, é importante para obter melhores resultados nas provas bioquímicas em aves o rápido processamento (Lumeij, 1985).

Quando as amostras são coletadas na granja, a distância até o laboratório pode ser longa; assim, torna-se impossível realizar o processo imediatamente. Para tentar superar este problema alguns laboratórios na prática recomendam, a refrigeração das amostras até por 5 dias a 6-8^oC. No caso de ter que guardar os soros por muito tempo as amostras podem ser congeladas a -20^oC, podendo conservá-las até por 5 meses; isso pode ser feito sempre que o laboratório tenha valores de referência que permitam fazer uma posterior comparação dos resultados. Também se recomenda coletar as amostras das aves com problemas juntamente com aves da mesma granja, raça e idade sem sinais clínicos (LPA–UN, 2010).

2. Principais provas bioquímicas usadas em aves

2.1. Proteínas plasmáticas

As proteínas plasmáticas estão agrupadas em duas grandes categorias, albumina e globulinas as quais têm muitas funções, embora as mais importantes estejam relacionadas com a manutenção da pressão osmótica do plasma, o transporte de substâncias a través do corpo (hormônios, minerais), a imunidade, a ação tampão e a regulação das enzimas (Swenson e O'Reece, 1996; Boettcher, 2004). Nas aves a maior fração protéica (40-60%) é a albumina que é sintetizada 100% no fígado, por isso sua medição pode ser uma ajuda complementar no diagnóstico das doenças hepáticas. Os níveis normais variam de 16 a 20 g/L (Tabela 1). A albumina transporta ânions, cátions, ácidos graxos, hormônios; consequentemente, a hipoalbuminemia também afeta as concentrações destes compostos (Lumeij, 1987; Kaneko et al., 1997; Schmidt et al., 2007).

Em doenças agudas ou crônicas (processos inflamatórios) se observa um aumento das proteínas plasmáticas totais porque se elevam as globulinas e ocasionalmente diminui a albumina causando-se uma diminuição na relação albumina/globulinas. Muitas vezes as proteínas totais podem estar em intervalos normais, embora a relação albumina/globulina diminua, de forma que esta relação tem maior significado clínico. Em galinhas com peritonites por ovo, em doenças infecciosas crônicas como aspergiloses, psitacoses ou tuberculoses; o aumento das globulinas pode ser evidente. Em aves desidratadas observa-se aumento da albumina. Em contraste, na falha hepática as proteínas totais estão muito baixas e a relação albumina/globulinas também. Em doença gastrointestinal e renal e em aves com desnutrição se

observa hipoproteinemia severa. Algumas vezes as proteínas podem indicar um diagnóstico específico, é o caso das gamopatias monoclonais (Lumeij, 1997).

A medição das proteínas plasmáticas totais ajuda ao clínico na avaliação da severidade, natureza e o progresso da enfermidade; mas o resultado não deve ser interpretado como diagnóstico definitivo, é necessário conhecer a história do animal, os sinais clínicos e o uso de outras provas.

As proteínas podem medir-se em plasma ou em soro, embora sua concentração no plasma tenha variações por causa do conteúdo do fibrinogênio, por exemplo nos pombos a concentração das proteínas no plasma é de 1,5 g/L mais do que no soro (Lumeij, 1990; Lumeij, 1997). Também é importante ter em conta a metodologia a usar; a medição com o refratômetro não é confiável para as aves, só são confiáveis quando se usam refratômetros com a temperatura compensada; esta é outra condição que obriga aos laboratórios a estabelecer valores referência, preferivelmente com o método do biureto. Isso deve ser acompanhado do uso duma proteína padrão para a espécie. Em muitas ocasiões é usada a proteína humana sim estabelecer escalas para a espécie a avaliar, é necessário ter padrões próprios e usar a proteína standard para a mesma espécie (Lumeij, 1997; Kaneko et al., 1997). Os valores de referência para as proteínas totais de diferentes espécies de aves se amostram na tabela 1.

Tabela 1. Valores de proteínas totais, albumina, globulina e relação albumina/globulina para diferentes espécies de aves (g/L).

Ave	Albumina	Globulina	Relação albumina/globulinas	Proteínas totais
Frango	25	31	0,8	56
Galinha	16-20	23-33	0,6	40-52
Pombo	-	-	1,5- 3,6	21-35
Avestruz	-	-	0,9 - 1,4	40-54

Lumeij, 1990; Lumeij, 1997; Kaneko et al., 1997

É importante destacar as variações das proteínas plasmáticas totais em fêmeas das aves antes e durante a postura. O incremento das proteínas plasmáticas antes do período de postura é induzido por estrógenos; em poedeiras, o maior nível de proteínas séricas (hiperproteinemia fisiológica), pode ser explicado pela exigência protéica para formação do ovo, o qual é constituído em média por 12,5% de proteína (Burke, 1996; Swenson e O'Reece, 1996; Ribeiro et al., 2008). As proteínas sintetizadas no fígado são precursoras da gema (vitelogenina e lipoproteínas), sendo transportadas para o ovário onde são incorporadas ao ovócito. As

proteínas também podem ficar aumentadas durante o período de postura devido à constante quantidade de proteína que se pode mobilizar e armazenar na gema e na clara dos ovos; este aumento se deve considerar fisiológico. O teor médio de proteínas totais no soro das galinhas em postura é de 54 ± 7 g/L; enquanto que o de frangos e galinhas fora da postura é um pouco menor (36 g/L) (Burke, 1996; Swenson e O'Reece, 1996).

Em condições anormais, as proteínas totais podem aumentar por desidratação e doenças crônicas como a tuberculose. As concentrações baixas de proteínas obedecem à desnutrição, infecções agudas e hemorragias (Swenson e O'Reece, 1996; Boettcher, 2004). As causas de hipoalbuminemia podem ser por perda (via glomerular, em enteropatias, por lesões cutâneas, e em hemorragias severas), por diminuição da sua produção (em casos de insuficiência hepática, má alimentação, má digestão, má absorção), e por diminuição por sequestro (ascite aviar) (Bowes *et al.*, 1989). A hemoconcentração secundária à desidratação e à redução do líquido circulante produz um aumento na concentração sérica de albumina (Duncan, 2000).

2.2. Ácido úrico e uréia

- **Ácido úrico**

As aves são animais uricotéicos, ou seja, excretam o nitrogênio (N) em pequenos volumes de água mediante o ácido úrico como principal produto do metabolismo de N, constituindo 60-80% do N excretado na urina, enquanto que em outras espécies o produto excretado é a uréia (González e Silva, 2006). O ácido úrico é sintetizado no fígado e nos rins, se excreta via secreção tubular em 90%, independente da reabsorção tubular de água; assim, os distúrbios na função renal podem acrescentar a concentração do ácido úrico no soro ou no plasma nas aves (Lumeij, 1987; Kaneko *et al.*, 1997; Schmidt *et al.*, 2007).

Os níveis de ácido úrico normais para aves jovens podem ficar entre 1 até 2 mg/dL, enquanto que as aves em postura têm níveis entre 2 até 7 mg/dL. Pode haver aumentos nos níveis de ácido úrico, creatinina e uréia no plasma quando os rins trabalham a 30% de sua capacidade; por esta razão considera-se que a medição do ácido úrico nas aves não é uma prova sensível para detectar função renal, porém é bastante específica (Lumeij, 1997; Schmidt *et al.*, 2007).

Um aumento no ácido úrico de até 15 g/dL pode ser observado em casos de lesões renais severas ocasionadas por micotoxinas (ocratoxina) e deficiência de vitamina A (causando uropatia obstrutiva). Um erro comum que pode levar a distúrbios renais graves é o

fornecimento de dietas com alto conteúdo de proteínas para aves que não precisam desses níveis como, por exemplo, ração para frangos (com 20-23% de proteína) para aves psitacídeas. A manifestação clínica deste fornecimento errado caracteriza-se pela apresentação da chamada gota visceral, com a deposição de grandes quantidades de uratos principalmente em rins, fígado, coração e articulações (Berchieri et al., 2009).

- **Uréia**

A uréia está em pequenas quantidades no plasma de aves normais. A concentração de uréia sanguínea das aves pode estar influenciada pelo consumo de proteína, pela excreção renal e pelo estado do fígado (órgão responsável por sua síntese). Devido ao tipo de proteína ingerida, as aves carnívoras têm maiores concentrações de uréia (0-5 mg/dL) que as aves granívoras (Lumeij, 1987; Lumeij e Remple, 1991; Kaneko et al., 1997; Schmidt et al., 2007).

A azotemia pré-renal é uma condição clínica associada com uma diminuição na pressão arterial renal, pode causar oligúria e retenção de N no sangue. Pode ver-se durante o choque ou na desidratação severa (Lumeij, 1997). A medição dos níveis de uréia pode ser útil para a avaliação da azotemia renal em algumas aves porque é eliminada por filtração glomerular, que depende do estado de hidratação do animal, assim ficaria útil para detectar uma diminuição da perfusão arterial renal (Lumeij, 1987; Lumeij, 1997; Campbell, 2004; Schmidt et al., 2007).

2.3. *Eletrólitos plasmáticos*

Os eletrólitos plasmáticos são importantes para a preservação da saúde dos animais: contribuem para manter as atividades normais das membranas celulares, além da manutenção do equilíbrio hídrico, a pressão osmótica, o equilíbrio hidro-electrolítico, a transmissão de impulsos nervosos e a contração muscular (Lumeij, 1997).

O plasma conte macrominerais (macroelementos) como cálcio, fósforo, magnésio, sódio, potássio, cloro e enxofre; e microminerais (oligoelementos) como cobre, cobalto, iodo, ferro, selênio, zinco, molibdênio, manganês e fluor (Boettcher, 2004; González e Silva, 2006; Anchieta et al., 2008).

Nas aves, como em outras espécies, os minerais exercem três tipos de funções: como componentes estruturais dos órgãos e tecidos, como constituintes dos fluidos corporais e dos tecidos envolvidos na manutenção da pressão osmótica, no balanço ácido-base, permeabilidade de membrana e irritabilidade de tecidos e como catalisadores nos sistemas enzimáticos e

hormonais, no papel de componentes integrais ou específicos da estrutura das metaloenzimas (Berchieri et al., 2009).

De maneira geral, os minerais participam de funções variadas no organismo. Os macro-elementos cálcio e fósforo constituem a base da formação esquelética, enquanto que sódio, cloro e potássio, estão distribuídos em maiores concentrações nos tecidos moles, controlando o equilíbrio ácido-básico orgânico (Anchieta et al., 2008). Os micro-elementos participam principalmente como agentes catalíticos em todas as reações do metabolismo. Os eletrólitos com mais relevância na clínica aviária são cálcio, fósforo, magnésio, sódio, potássio, cloro e selênio (Berchieri et al., 2009). Nas tabelas 2 e 3 podem observar-se as principais funções dos macro e microminerais para frangos e galinhas e algumas relações com as chamadas doenças da produção.

- Relação entre cálcio, fósforo e as proteínas plasmáticas

Um terço do cálcio (Ca) circulante nas aves está ligado a proteínas e é biologicamente inativo. As concentrações do Ca plasmáticas estão afetadas pelas concentrações plasmáticas de proteínas. A fração ionizada é importante considerando a deposição de sais de Ca e a excitabilidade de tecidos nervosos. Para a clínica aviária quando se avalia Ca total, é necessário avaliar também as proteínas totais, uma vez que suas alterações podem indicar a presença de um problema (Lumeij, 1997).

Simultaneamente com o aumento nas proteínas plasmáticas das galinhas em postura, há um marcante aumento no cálcio sérico. As galinhas fora de postura têm 4,5 a 6 meq/L de cálcio (9-12 mg/dL) enquanto que aquelas em postura têm 8,5 a 19,5 meq/L, (20-40 mg/dL). O aumento é atribuído à elevação dos estrógenos nos folículos dos ovários ativos (Burke, 1996; Schmidt et al., 2007).

A síndrome de hipocalcemia se caracteriza por sinais nervosos com perda de minerais do esqueleto; é uma condição comum no papagaio africano cinza, mas é rara em outras aves psitacídeas. Muitas vezes o diagnóstico deste problema é realizado medindo a concentração das concentrações plasmáticas do Ca. Estudos realizados por Lumeij em 1987 mostraram uma correlação significativa entre o Ca plasmático total e a concentração de albumina. Estes resultados ilustram a necessidade de fazer a medição das proteínas e o Ca para o diagnóstico apropriado dos estados relacionados com este mineral.

A relação entre Ca e P é muito importante para a manutenção das funções normais nas aves. Na ração considera-se como adequada uma relação Ca:P de 2:1; embora, o valor diagnóstico do P sérico nas aves não é consistente e poucas vezes se usa a medição deste mineral no diagnóstico de uma condição clínica (Schmidt et al., 2007).

As aves jovens podem ter a tendência de apresentar valores séricos de P mais elevados que as aves adultas em condições normais. Os distúrbios relacionados com deficiências ou excessos deste mineral podem verse em qualquer idade, mas são mais comuns em aves em crescimento. O raquitismo pode ocorrer por deficiências de Ca e níveis inadequados de P e vitamina D₃ na ração (Berchieri et al., 2009). Durante a hipofosfatemia os níveis sanguíneos de P são inferiores a 5 mg/dL, os períodos prolongados de jejum e as terapias longas com corticosteróides também podem produzir esta condição. A hiperfosfatemia se apresenta como consequência de distúrbios renais severos, excesso de vitamina D₃ e P na dieta. As quantidades de P sérico nesta condição podem ser superiores a 7 mg/dL (Schmidt et al., 2007).

- Estrogênios induzindo hipercalcemia

A principal fonte do cálcio para a galinha poedeira é a alimentação, mas existem mecanismos especiais para fazer que grandes quantidades de Ca estejam disponíveis para a formação da casca num tempo relativamente curto (15 a 18 horas). As galinhas depositam entre 1,8 e 2,0 g de Ca em até 18 horas; isto é equivalente à remoção da quantidade total de Ca circulante a cada 15 minutos durante a formação da casca. Quando a puberdade se aproxima, a secreção de estrogênios promove marcantes modificações na utilização do Ca. Sob influência dos estrogênios, os níveis de Ca circulante sobem de 10 mg/dL de plasma a 25 mg/dL, sendo o aumento ligado à proteína (albumina). Além disso, os estrogênios estimulam a deposição de 4 a 5 g de Ca na região medular dos ossos pneumáticos; com o início da atividade reprodutiva, as proteínas ligadoras de Ca aumentam na mucosa intestinal e a absorção de Ca se torna muito mais eficiente. A totalidade do Ca secretada para a luz uterina durante a formação da casca é derivada do sangue e obtida da alimentação e dos ossos. Na galinha em postura os ossos medulares estão em um estado dinâmico, sendo depositados e reabsorvidos continuamente (Swenson e O'Reece, 1996).

Tabela 2. Macro-minerais essenciais para frangos e galinhas, níveis, principais funções e relação com doenças de produção.

Mineral	meq/L	Funções
Cálcio	4,5 –6,0 8,5-19,5 (galinha em postura)	Formação de ossos e das cascas dos ovos Manutenção do osso medular durante a postura. Excitação muscular, contração cardíaca Coagulação sanguínea Integridade da membrana celular Transmissão de impulsos nervosos Prevenção da Fadiga de Gaiola e o raquitismo
Fósforo	3-6	Formação óssea e da casca dos ovos em sinergia com o cálcio Constituição da molécula de DNA e RNA, Formação de fosfolipídeos (integridade das membranas celulares Formação da coluna; participando, assim, na transmissão dos impulsos nervosos Atividade enzimática, sobretudo como coenzima de vários complexos da vitamina B Fosforilação para a formação de ATP Prevenção do raquitismo
Potássio	4,6-4,7	Balanco osmótico e hídrico corporal Participação no metabolismo protéico e dos carboidratos Integridade da atividade muscular e nervosa Regulador do volume dos fluidos do corpo, pH e as relações osmóticas do organismo
Sódio	151-161	Participa das contrações das células musculares Inibição de enzimas da mitocôndria no meio extracelular Absorção e transporte dos nutrientes para as células Participa da estrutura dos ossos e componente de produtos Prevenção da Histeria Aviária (Morte por Asfixia- Síndrome Geral de Adaptação)
Enxofre		Metabolismo e síntese protéica Metabolismo das gorduras e dos carboidratos Componente de mucopolissacarídeos Síntese de vitaminas do complexo B Elemento essencial para a formação das penas Componente integral de aminoácidos sulfurados, prevenção do canibalismo
Cloro	119-130	Manutenção da pressão osmótica Regulação do equilíbrio ácido-básico Transmissão de impulsos nervosos Transporte ativo dos aminoácidos e da glicose em nível celular Principal ânion do suco gástrico como parte do ácido clorídrico Ativação da amilase intestinal.
Magnésio		Atividade neuromuscular e nervosa Transferência de energia Participação no crescimento ósseo Participação no metabolismo dos carboidratos Participação no metabolismo dos lipídeos.

Adaptado de: McDowell (1999) em Anchietta et al. (2008);González e Silva (2006); Crespo Shivaprasad (2008); Klasing (2008); Saif et al. (2008); Berchieri et al. (2009); LPA-UN (2010).

Tabela 3. Micro-minerais essenciais para frangos e galinhas, níveis, principais funções e relação com doenças de produção.

Mineral	Funções
Ferro	Transporte de oxigênio. Respiração celular
Zinco	Ativador enzimático, principalmente nos processos de formação óssea, do metabolismo dos ácidos nucleicos, do processo da visão, do sistema imunológico e do sistema reprodutivo
Cobre	Ativador enzimático envolvendo o transporte e a transferência de oxigênio, metabolismo dos aminoácidos e do tecido conectivo
Iodo	Componente dos hormônios tireoidianos
Manganês	Integridade da matriz orgânica óssea e ativador enzimático, sobretudo no metabolismo dos aminoácidos e dos ácidos graxos. Prevenção de perose
Cobalto	Função anti-anêmica, por ser componente de vitaminas do complexo B Metabolismo da glicose e síntese da metionina
Selênio	Junto com a vitamina E, promove a proteção dos tecidos contra danos oxidativos. Componente da enzima glutathione peroxidase. Participa no metabolismo dos aminoácidos sulfurados. Prevenção de encefalomalácia, diátese exsudativa, distrofia muscular

Adaptado de: McDowell (1999) em Anchieta et al. (2008); González e Silva (2006); Crespo e Shivaprasad (2008); Klasing (2008); Saif et al. (2008); Berchieri et al. (2009); LPA-UN (2010).

Quando o fornecimento do Ca na ração é inadequado em poedeiras de alta produção de ovos, a galinha continua reabsorvendo Ca dos ossos e pode ficar doente apresentando osteomalacia e osteoporoses, ocasionando uma doença de produção conhecida como “Fadiga de Gaiola”. As aves com esta condição têm dificuldades para permanecer em pé, se posicionam na parte traseira da gaiola (o que impede a alimentação) e podem apresentar fraturas. Podem formar um ovo diário enquanto tenham uma hierarquia folicular adequada; isto acrescenta o problema porque a galinha continua reabsorvendo o Ca dos ossos sem fazer a deposição necessária. Os níveis plasmáticos de Ca nos primeiros dias apresentam-se normais; depois de 5 ou 7 dias descem num 50% (Schmidt *et al.*, 2007, Crespo e Shivaprasad (2008); Saif et al., 2008; Berchieri et al., 2009).

- Importância do sódio e potássio na clínica aviária

A avaliação de sódio (Na) e potássio (K) na clínica aviar não é uma prática comum. As alterações dos níveis séricos normais podem indicar enfermidade renal com apresentação de hipercalemia e hiperfosfatemia, porém, hipofosfatemia e hipocalemia também foram relatados. As aves com doença renal crônica perdem a capacidade de reter Na, causando hiponatremia. As anormalidades que afetam as concentrações de aldosterona e a hidratação do organismo podem

alterar os valores de Na e K. Em falha renal aguda também pode observar-se hipercalemia (Lumeij, 1985; Schmidt et al., 2007).

Em intoxicações com anticoccidiais ionóforos e furazolidona se apresenta mobilização de alguns cátions monovalentes (Na, K) e cátions divalentes como Ca e Mg através das membranas celulares, provocando alterações em os níveis séricos destes minerais.

- Selênio

O selênio (Se) está intimamente ligado à vitamina E, faz parte da enzima glutathion peroxidase, atuando na proteção das membranas celulares como elemento essencial na prevenção da degeneração oxidativa. A vitamina E trabalha na primeira linha de defesa contra a peroxidação de fosfolípidos vitais. Embora se tenha uma quantidade adequada de vitamina E, o Se atua como segunda linha de defesa destruindo outros peróxidos antes de causarem danos nas membranas (Berchieri et al., 2009). A interação entre a vitamina E (prevenção da formação de hidroperóxidos), o Se (componente da enzima glutathion peroxidase) e os aminoácidos sulfurados (precursores da enzima), através de diferentes mecanismos bioquímicos previnem algumas doenças nutricionais nas aves como são: encefalomalácia, diátese exsudativa e distrofia muscular (Klasing, 2008; Berchieri et al., 2009).

- Doença do Armazenamento de Ferro

A “Doença de Armazenamento de Ferro”, também conhecida como “Doença do Depósito de Ferro”, apresenta-se em espécies de aves silvestres, principalmente frutívoras e insetívoras como tucanos e araçarís (Ramphastidae, Piciformes) que são particularmente suscetíveis à hemocromatose quando, mantidas em cativeiro, são alimentadas com dietas ricas em ferro (Cubas, 2008; Lumeij, 1997); embora, ocasionalmente se observa em aves domésticas (poedeiras) com consumo excessivo de ferro (LPA-UN, 2010).

A hemossiderina é um pigmento que contém ferro derivado da hemoglobina, seu principal lugar de acumulação é o fígado, e ocasionalmente pode armazenar-se no coração. O excessivo armazenamento de hemossiderina em órgãos parenquimatosos é conhecido como hemocromatose, condição que pode provocar alterações patológicas nos tecidos, causando dano à estrutura histológica e à função destes órgãos (Lumeij, 1997).

A hemocromatose é geralmente considerada de origem hereditária, enquanto que uma forma secundária pode ocorrer pela exposição dos animais a uma quantidade excessiva de ferro na dieta, anemia e outros fatores (Lumeij, 1997).

O ferro é absorvido no trato gastrointestinal, transportado na corrente circulatória por proteínas denominadas transferrinas e armazenado em associação com estas proteínas e o pigmento hemossiderina. A avaliação bioquímica da relação entre o Fe plasmático ou sérico e a capacidade total do eritrócito de ligação de ferro (CTLF) e o índice de saturação da transferrina sérica (IST), podem ajudar no diagnóstico do funcionamento hepático. Os exames bioquímicos são de utilidade limitada. Recomenda-se também a dosagem de lactato desidrogenase (LDH), aspartato transaminase (AST) e ácidos biliares. A análise deve considerar Fe armazenado (proteína armazenadora de Fe), Fe transportado e o Fe eritrocítico (Lumeij, 1997).

O índice de saturação de transferrina (IST) é o teste mais sensível para a identificação fenotípica de homozigose para a hemocromatose hereditária nos seres humanos. O teste pode ser calculado a partir do quociente entre o ferro sérico (mg/dL) e a capacidade total de ligação de ferro (CTLF), em mg/dL, multiplicado por 100. Considera-se que a combinação da IST superior a 45% e a ferritina sérica elevada apresentam sensibilidade de 93% para o diagnóstico da hemocromatose hereditária na espécie humana (Cubas, 2008). Atualmente é difícil o uso desta prova nas aves devido à ausência de valores de referência, entre outras coisas porque é um teste imunomediado para o qual não existem antígenos específicos para aves. Em pesquisa realizada por Goulart e Cubas em 2002, o IST determinado para tucano-toco (*Ramphastos toco*), a partir de doze espécimes foi 27% (variação de 20 a 33%) e a CTLF foi 389 mg/dL com variação de 348-430 mg/dL (Cubas, 2008).

O diagnóstico definitivo desta doença é feito por biópsia hepática, com coloração específica para Fe (*Turbull blue*), tem a desvantagem de ser um método invasivo que pode ser perigoso para o pássaro avaliado. Nesta prova, os hepatócitos contêm inúmeros grânulos de pigmentos dourados, com hepatites com infiltração de linfócitos e inflamação leve. Na forma crônica pode observar-se fibrose (Randall e Reece, 1996; Lumeij, 1997; Cubas, 2008).

2.4. Enzimologia clínica em aves

A avaliação das enzimas pode ajudar no diagnóstico de condições anormais das aves, tanto para mascotes e aves silvestres quanto para aves em explorações comerciais. A distribuição das enzimas pode mudar conforme o órgão e a espécie e são produzidas em

diferentes partes da célula, assim: enzimas que estão normalmente no citoplasma são: aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e lactato desidrogenase (LDH). Elas são liberadas quando ocorre degeneração celular temporária. As enzimas na mitocôndria como a glutamato desidrogenase (GLDH), se liberam depois de um dano severo à célula. As enzimas em membranas são a fosfatase alcalina (FA) e a gama glutamil transferase (GGT) (Lumeij, 1997). Valores de referência dessas enzimas podem observar-se na tabela 4.

Uma recomendação especial para a coleta das amostras para análise de enzimas é não usar EDTA porque pode quelar os íons metálicos necessários para a atividade enzimática; nos casos de avaliação em soro a separação do plasma e células deve ser feita imediatamente para evitar a passagem das enzimas das células para o plasma (Lumeij, 1997).

A medição das enzimas é útil para detectar dano recente ou inicial, mais que para avaliar a função normal do órgão. As mudanças na atividade duma enzima (aumento ou diminuição) podem ajudar no diagnóstico de anormalidades nas aves. As enzimas mais utilizadas na clínica aviária avaliam o estado de órgãos como fígado e coração, além da integridade do músculo esquelético. Sua especificidade e sensibilidade se mostram na tabela 5.

- Enzimas e dano hepático

Nas aves, o dano hepático pode apresentar-se por diversas causas. Muitas doenças e infecções causadas por bactérias e vírus podem lesionar este órgão (cólera aviária, salmonelose, colibacilose, tuberculose, Doença de Pacheco, hepatite com corpos de inclusão, Doença de Marek). Também podem apresentar-se doenças metabólicas como a lipidose hepática ou síndrome do fígado gorduroso, causado por erros na alimentação (balanço energético positivo) ou por a presença de micotoxinas na ração. (Crespo e Shivaprasad, 2008; Berchieri et al., 2009).

Tabela 4: Valores de referência (U/L) para enzimas y ácidos biliares em diferentes espécies de aves.

Enzima	Frango/ galinha	Avestruz	Pombo	Papagaio cinza	Arara
Gama glutamil transferase (GGT)		0-1	0-3	0-4	1-10
Aspartato amino transferase (AST)	174,8 0-350	252-401	45-123	54-155	57-194
Alanina aminotransferase (ALT)	0-100	-	19-48	12-59	19-98
Fosfatase alcalina (FA)					
Creatina quinase (CK)	0-350 100-150	1655-4246	110-480	123-480	45-265
Lactato desidrogenase (LDH)	636	869-2047	30-205	147-384	46-208
Glutamato desidrogenase (GLDH)		<8	<8	<8	<8

Swenson e O'Reece, 1996; Lumei, 1997; Kaneko et al., 1997; LPA-UN, 2010

A enzimologia clínica em aves pode ser usada para a avaliação da lesão dos hepatócitos, umas destas provas são mais específicas ou mais sensíveis que outras (Tabela 5). A aspartato aminotransferase (AST) é uma enzima da mitocôndria e o citosol da maioria das células (hepáticas, musculares, renais, neuronais, eritrócitos, esplênicas, intestinais e pulmonares). Também pode ter localização plasmática e por isso não é uma enzima específica, mas sua determinação pode usar-se como índice de alteração de células hepáticas e musculares em conjunto com outros indicadores. É um bom marcador de dano tissular, mas não deve considerar-se como diagnóstico específico de nenhuma doença.

A atividade plasmática de AST junto com a medição da concentração dos ácidos biliares são considerados como os indicadores mais sensíveis de doença hepática em pombos (Tabela 5). Em segundo lugar estão alanina aminotransferase (ALT) e lactato desidrogenase (LDH) (Lumeij, 1997). Em resumo, a atividade da AST é considerada como um marcador sensível, mas não específico de distúrbio hepatocelular na maioria das aves, e deve ser mensurada juntamente com uma enzima músculo-específica, como a creatina quinase (CK), para que seja possível diferenciar dano hepático ou muscular (Schmidt et al., 2007).

A glutamato desidrogenase (GLDH) é um caso especial: esta enzima é indicativa de necroses hepática extensa dado que é mitocondrial e não citoplasmática. A avaliação desta enzima torna-se ajuda diagnóstica muito importante para aves psitacídeas com Doença de Pacheco, onde as lesões histológicas são geralmente necróticas e hemorrágicas associadas à

discreta resposta inflamatória principalmente no fígado. As lesões são causadas pela lise dos hepatócitos induzida por herpesvirus como agentes etiológicos da doença (Lumeij, 1997; Kaneko et al., 1997; Boetcher, 2004, Saif et al., 2008).

Tabela 5 Especificidade e sensibilidade de enzimas e variáveis bioquímicas plasmáticas em doença hepática e muscular.

Enzima	Doença hepática		Doença muscular	
	Especificidade	Sensibilidade	Especificidade	Sensibilidade
Gama glutamiltransferase	+++	+++	-	-
Aspartato aminotransferase	-	+	-	+++
Alanino aminotransferase	-	+++	-	+++
Fosfatase alcalina	-	++	-	-
Creatina quinase	-	-	+++	+++
Lactato desidrogenase	-	-	-	+
Glutamato desidrogenase	+++	(+)*	-	-
Acidos biliares	+++	+++	-	-

*GLDH elevado: Indicativo de necrose hepática extensa. Lumeij, 1987; Kaneko et al., 1997

O fígado é o órgão alvo na aflatoxicoses em aves, a inclusão desta micotoxina no alimento causa alterações importantes no metabolismo hepático, afetando a síntese de proteínas, lipídeos e enzimas, podendo também induzir a síndrome do fígado gorduroso. Em pesquisa feita por Fernandez *et al.*, em 1994, em galinhas poedeiras com adição de aflatoxina na ração foi observada alteração nos níveis das enzimas. AST e ALT não apresentaram variações significativas, enquanto que GGT teve um dramático incremento dependente da dose. A LDH não é uma enzima específica para dano hepático (tabela 6). Em pássaros níveis aumentados podem observar-se em coração, fígado e rins; embora neste estudo foi observado um aumento em seu nível. Os autores explicaram este resultado como consequência da produção de uma isoenzima de origem hepática.

Tabela 6: Comportamento das enzimas hepáticas em poedeiras intoxicadas com dos níveis de aflatoxinas.

Enzima	Controle	Aflatoxina 2,5 ppm	Aflatoxina 5 ppm
AST	195 ± 34,7	198 ± 75,5	225 ± 65,6
ALT	12,9 ± 5,2	8,3 ± 4,4**	8,4 ± 2,6***
GGT	8,9 ± 5,5	41,6 ± 34*	75,2 ± 41***
LDH	1520 ± 363	1821 ± 718	2502 ± 994**

Diferenças significativas: *P< 0,05; **P< 0,001; ***P< 0,0001. Fonte: Fernandez et al., 1994

A condição conhecida como Síndrome de Fígado Gorduroso é considerada como uma doença de produção. Pode apresentar-se como consequência de intoxicações, embora também por problemas na manipulação da ração. Pode estar relacionada com gliconeogênese desencadeada por estímulos que aumentam a demanda por energia, ou ser causada por acúmulo de gorduras devido ao comprometimento do metabolismo dos ácidos graxos induzido por endotoxinas bacterianas, álcool ou micotoxinas. Nas aves, em especial frangos e galinhas, é importante considerar os fatores que interferem com o metabolismo e as necessidades das gorduras, por exemplo, estresse por calor (Crespo e Shivaprasad, 2008; Masako et al., 2009).

O fígado gorduroso é de comum apresentação nas poedeiras, onde a produção da maior parte das proteínas da gema se realiza no fígado. Hoje, com a inclusão de dietas especiais para a manipulação dos níveis de ácidos ômega 3 e 6, o fígado gorduroso tem uma alta frequência de apresentação. Em seguimentos realizados pelo Laboratório de Patologia Aviária da Universidade Nacional da Colômbia (LPA-UN, 2010), em casos de poedeiras com regimes especiais de alimentação (inclusão de óleo de peixe na ração), com fígado gorduroso, se observou que a avaliação das enzimas AST e ALT pode ser usada como ferramenta para o diagnóstico desta condição, junto com a avaliação do estado geral das aves, o peso e as lesões macro e microscópicas no fígado (Tabela 7).

Tabela 7. Teor dos níveis das enzimas AST e ALT, peso e lesões hepáticas em galinhas poedeiras com e sem inclusão de óleo de peixe na ração.

Amostra #	Sem inclusão de óleo de peixe			Com inclusão de óleo de peixe		
	ALT (U/L)	AST (U/L)	Peso/ Lesões macro /microscópicas	ALT (U/L)	AST (U/L)	Peso/ Lesões macro / microscópicas
1	17	184	5% peso acima do	90	183	20-25% peso acima do padrão da
2	19	139	padrão da	90	270	linhagem
3	13	202	linhagem	90	270	
4	13	209		100	470	Fígado amarelo, friável com
5	20	161	Leve	100	280	bordas arredondadas.
6	19	216	hepatomegalia	100	250	Hepatomegalia
7	19	230		100	310	
8	19	218	Sem mudanças	90	370	Vacúolos intracitoplasmáticos de
9	20	173	microscópicas	110	330	gordura nos hepatócitos.
10	-	-		100	400	Infiltração gordurosa de tipo
Média	17.6	192.4		97	313	difusa. Distensão dos hepatócitos e deslocamento do núcleo do centro da célula.

Os valores para ALT estiveram elevados. Em mamíferos estes níveis se produzem por a alteração da permeabilidade da membrana do hepatócito causada por uma lesão ou distúrbio metabólico que provoca a liberação desta enzima; embora, esta enzima não é específica nem sensível para medir dano hepático nas aves. Um aumento desta enzima pode verse em lesões severas do fígado e músculo esquelético. A enzima AST é mais usada nas aves para medir dano hepático, pois é mais sensível. Quando há dano hepático e ou muscular podem verse elevações ate de 800 U/L. Para este caso, o aumento nas enzimas nas aves com inclusão do óleo de peixe na ração, junto com o sobrepeso e as lesões macro e microscópicas são bons indicadores do dano hepático.

Também é possível usar as enzimas no seguimento dos tratamentos para melhorar o funcionamento hepático. Em casos onde o fígado tem problemas ocasionados por micotoxinas, acostuma-se o tratamento desta condição com o fornecimento da colina na ração ou no água de bebida. A colina faz parte da estrutura da célula como integrante dos fosfolipídeos, a fosfatidil colina e a esfingomielina; previne o acúmulo de gordura na célula hepática, atuando como fator lipotrópico; também é essencial para a formação de acetilcolina (componente importante na transmissão dos impulsos nervosos); por último, é fonte de grupamentos metílicos (Masako et al., 2009). Devido a sua ação sobre a célula hepática é fornecida em frangos e galinhas para a prevenção e tratamento do fígado gorduroso. Em estudo realizado no LPA -UN em frangos de corte, se observou que indivíduos tratados com colina (150 g/ton), tiveram níveis de AST mais baixos que indivíduos sem tratamento (Figura 2). Estes resultados podem dar uma idéia do uso da enzimologia clínica na prática veterinária.

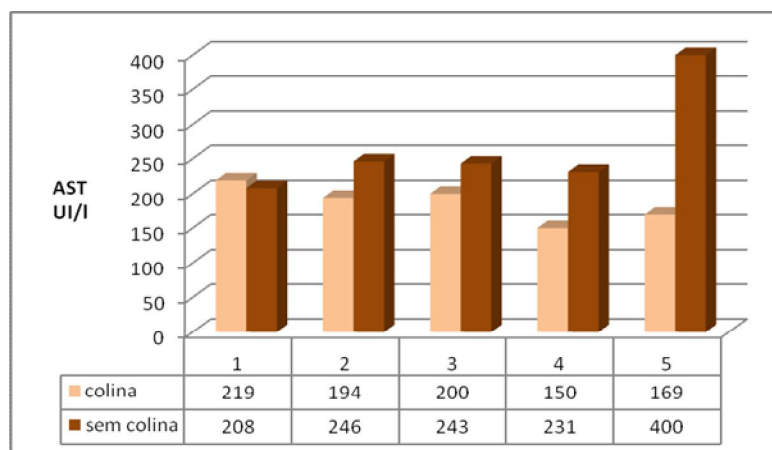


Figura 3. Comparação dos valores obtidos para AST em frangos de corte, tratados e sem tratar com colina (150 g/ton)

- Enzimas e doença muscular

A creatina quinase (CK) tem como principais atividades aquelas relacionadas com o tecido muscular (esquelético ou cardíaco), sua função é fosforilar de forma reversível a creatina a expensas do ATP, como uma forma adicional de conservação de energia em ligações fosfatadas. Além de tecido muscular, a CK pode estar localizada em menor quantidade no rim, cérebro, trato gastrointestinal e útero. Em mamíferos, especialmente em humanos, a CK é amplamente usada para diagnosticar transtornos musculares. Esta enzima é citosólica ou associada às estruturas das miofibrilas. Seu nível está aumentado em danos musculares como isquemia muscular, decúbito, convulsões, tremores, traumas excesso de exercício, necrose e miopatias nutricionais (González e Silva, 2006).

Na clínica aviária esta enzima está sendo utilizada para a avaliação de condições onde se apresenta degeneração do miócito como em intoxicações com furazolidone e anticoccidiais ionóforos, em miopatias por deficiência de selênio e vitamina E, manipulação errada de indivíduos (manejo excessivo), injeção muscular e algumas doenças da origem infecciosa que podem causar dano muscular (vírus da bronquite infecciosa). (Lumeij, 1997; Kaneko et al., 1997; Fulton, 2008; Saif et al., 2008; Berchieri et al., 2009). O perfil das enzimas foi estudado em pombos, mensurando os níveis nos músculos peitorais, quadríceps e cardíaco em pombos e papagaios. A CK foi a mais importante das enzimas, nos três músculos; a seguir estiveram LDH, AST e ALT (Lumeij, 1997).

Um dos casos com maior probabilidade de dano muscular é o provocado pela presença de anticoccidianos ionóforos. Esses produtos podem causar intoxicação quando estão em quantidades não adequadas, são usados em espécies susceptíveis (perus) ou conjuntamente na ração com alguns medicamentos para o controle do micoplasmose especialmente tiamulina, cuja interação com os ionóforos tipo monensina e salinomycin pode ocasionar dano muscular grave. As aves afetadas apresentam anorexia, ataxia, paralisia, asas caídas, dispnéia e diarreia. Os músculos peitoral e da perna, junto com o músculo cardíaco podem apresentar palidez e necrose. Esta condição é conhecida como Doença do Músculo Branco ou Necroses de Zenker (Lumeij, 1997; Fulton, 2008; Saif et al., 2008; Berchieri et al., 2009).

Em um lote de 85.000 frangos de corte de 7 dias de idade, se observou a apresentação de manqueiras (coxeiras), ataxia e paralisia no dia 3 de idade; posteriormente as aves ficaram deitadas os dias 4 e 5. A análise das enzimas mostrou um incremento dramático da enzima CK; enquanto que os níveis da AST não se observaram modificados. As lesões macro e

microscópicas sugeriram dano muscular (Tabela 8). Neste caso se avaliaram os níveis de ionôforos na ração encontrando-se valores acima de 50 ppm (níveis normais para aves jovens são 20 ppm). As aves sofreram intoxicação com ionôforos.

Tabela 8: Monitoramento dos níveis das enzimas CK e AST, lesões macro e microscópicas em frangos de corte com intoxicação com ionôforos.

Amostra #	CK (U/L)	AST (U/L)	Lesões macroscópicas	Lesões microscópicas
1	15006	363	Músculo peitoral com hemorragias. Fibras musculares esbranquiçadas	Músculo esquelético:
2	10177	286		Degeneração das fibras
3	6578	261		musculares. Necrose multifocal
4	10345	241		de miofibrilas. Moderada
5	11486	444		infiltração de macrófagos.
6	15987	395	Edema subcutâneo.	Coração: Múltiplos focos com
7	12411	309		
8	6191	273		
9	12003	281		
10	13451	394		
Valor referência	100-150 0-350	0-350		abundante presença de heterófilos e mononucleares misturados com células necróticas.

Fonte: LPA-UN, 2010

- Intoxicação por organofosforados: atividade da colinesterase

Os organofosforados e os carbamatos são os venenos mais comuns para as aves. Os pássaros podem ficar intoxicados através de inalação, ingestão ou absorção percutânea. As aves são mais propensas a intoxicações que os mamíferos e répteis. Por serem curiosas e ativas, acabam ingerindo materiais estranhos e tóxicos. Além disso, as aves apresentam características anatomo-fisiológicas que favorecem as intoxicações. O sistema respiratório altamente eficiente dispersa mais rapidamente as partículas e gases tóxicos inalados. A alta taxa metabólica também contribuiu para a rápida distribuição do agente tóxico (Lumeij, 1997; Berchieri et al., 2009).

Os organofosforados se caracterizam por agirem inibindo a enzima colinesterase na sinapse nervosa causando uma marcada ação tóxica. Dentre os sinais destacam-se: anorexia, hipermotilidade gastrointestinal, arritmias cardíacas, constrição bronquiolar e da pupila, morte por falência respiratória (Lumeij, 1997; Berchieri et al., 2009).

O diagnóstico desta intoxicação pode estabelecer-se mesurando a atividade da colinesterase em sangue, plasma ou soro. Sempre que se realize uma análise de colinesterase

devem comparar-se os resultados de aves expostas vs. aves não expostas, que estejam sob as mesmas condições de manejo na mesma granja ou localização (Lumeij, 1997; Kaneko et al., 1997; LPA-UN, 2010).

No ano 2004 se apresentou na Colômbia um caso em uma granja de frangos de corte de 18 dias de idade. Morreram 4.795 aves em uma noite (75% de um total de 6.393 frangos). As aves que sobreviveram apresentavam depressão, dificuldade respiratória, asas caídas e penas irisadas. O veterinário responsável informou que um cultivo de flores, perto do galpão afetado, foi fumigado no dia anterior. A história do caso junto com os sinais observados sugeriu como primeiro diagnóstico uma intoxicação com organofosforados (produto de comum uso nas explorações de flores na região). Se coletarem amostras de sangue de frangos do galpão afetado e de outros da granja sem sinais clínicos. As aves problema apresentaram inibição da atividade da colinesterase perto de 30% em 60 minutos, quando se compararem com a atividade da colinesterase das aves controle (LPA-UN, 2010).

2.5. *Lipídeos sanguíneos*

As frações dos lipídeos do plasma sanguíneo aviar constituem uma mistura complexa, são classificadas como ácidos graxos livres, gorduras neutras, fosfolipídeos e ésteres de colesterol. Na clínica aviária usa-se principalmente a avaliação dos ésteres de colesterol.

O colesterol é o esteróide mais comum nos tecidos corporais e atua como precursor na síntese de hormônios esteróides e de sais biliares. Também é componente estrutural das membranas celulares e as bainhas de mielina (Duncan, 2000). O colesterol circula no plasma em forma livre e esterificada, sendo que comumente se determina a soma de ambos ou colesterol total.

A utilidade da determinação do colesterol como marcador de doença hepática é limitada porque sua concentração pode diminuir, aumentar ou permanecer normal seguem o tipo de doença hepática e da ingestão diária de colesterol. Esta fração também pode ser modificada pela idade, o estado nutricional e a quantidade das gorduras saturadas e insaturadas na dieta. Os níveis normais de colesterol nas galinhas estão entre 125 a 200 mg/dL. (Swenson e O'Reece, 1996; Lumeij, 1997; Kaneko et al., 1997; Boettcher, 2004).

2.6. *Glicose*

A regulação do metabolismo da glicose das aves é similar à dos mamíferos, mas tem diferenças quantitativas; enquanto que a concentração de glicose em uma vaca é de 40 a 80 mg/dL, uma galinha pode ter 130 a 270 mg/dL (Swenson e O'Reece, 1996). Alguns autores relatam que em aves sadias os níveis de glicose podem variar entre 200 a 500 mg/dL e de acordo com o ritmo circadiano, até 800 mg/dL em colibris (Schmidt et al., 2007). Na tabela 9 mostram-se os níveis de glicose para diferentes espécies de aves.

Tabela 9: Níveis de glicose (mg/dL) em algumas espécies de aves.

Avestruz	Falcão	Pombo	Papagaio cinza	Cacatua	Arara	Galinha
187,2-246,6	297-396	232,2-369	205,2-289	230,4-316,8	216-322,2	130-270

Como nos mamíferos, o metabolismo da glicose nas aves é regulado pela insulina e pelo glucagon. O conteúdo de insulina no pâncreas dos pássaros granívoros é um sexto do valor nos mamíferos e o glucagon é 2 a 5 vezes maior. O glucagon plasmático é 10 a 50 vezes maior em aves do que em mamíferos. A insulina é sintetizada nas células β do pâncreas enquanto o glucagon é sintetizado nas células α (Lumeij, 1997; Kaneko et al., 1997)

A hipoglicemia é observada quando os teores de glicose caem para menos que 200 mg/dL e resulta de jejum prolongado, doença hepática severa, septicemia ou distúrbios endócrinos (Campbell, 2004). A demora na separação do soro ou plasma das células não diminui de forma significativa a concentração de glicose como nos mamíferos, pois os eritrócitos das aves utilizam ácidos graxos e não glicose para seu metabolismo (Campbell, 2004; Schmidt et al., 2007).

Em frangos de corte jovens (duas semanas) ocasionalmente pode-se observar alta mortalidade com sinais nervosos. Estes casos na maioria das vezes estão relacionados com a doença conhecida como Síndrome do Incremento Súbito da Mortalidade Associada com Hipoglicemia (David, 2008). Em um relatório de caso acontecido em frangos de corte de 14 até 16 dias de idade, as concentrações da glicose em sangue foram menores do que 150 mg/dL com níveis até 30 mg/dL em algumas aves. Também se observou raquitismo em 50% das aves analisadas. As provas do isolamento viral e bacteriano foram negativas. Neste caso o problema se relacionou com possíveis erros no manejo da ração e restrição alimentar.

A hiperglicemia é caracterizada por concentrações de glicose acima de 500 mg/dL e ocorre em diabetes mellitus. Nas aves esta doença ter sido relatada em varias espécies, os sinais clínicos incluem poliúria, aumento do consumo da água e de alimento e perda de peso. A patologia clínica nestes casos reporta hiperglicemia persistente e glucosúria. As concentrações de glicose em aves doentes pode estar entre 500 e 1800 mg/dL (Lumeij, 1997). A diabetes em aves pode apresentar-se por excesso de glucagon por tumores pancreáticos e pancreatite (Lumeij, 1987), liberação de catecolaminas e excesso de glicocorticóides por estresse ou administração de corticoesteróides (Campbell, 2004). Em tucanos, a ocorrência de diabetes mellitus é significativa e está, aparentemente, relacionada com frutas na dieta (Campbell, 2004).

3. Conclusões

- A bioquímica clínica surge como uma ajuda para o diagnóstico na clínica aviar
- O perfil bioquímico nas aves é útil como ferramenta para o diagnóstico, não como diagnóstico definitivo
- Precisa-se do desenvolvimento das provas bioquímicas para aves em mais laboratórios
- Existe uma grande necessidade de estabelecer valores de referência para as espécies de aves mais comuns.
- O Veterinário deve melhorar seu conhecimento nesta área e identificar os possíveis benefícios destas provas.

Referências bibliográficas

- Anchieta, J; Vilar da Silva, J; Amâncio, O; Batista, C; Alves de Oliveira, H. Fontes de minerais para poedeiras. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.2, p.53-60, 2008.
- Batina, P. Perfil bioquímico de frangos de corte experimentalmente intoxicados com aflatoxina com e sem a adição de montmorilonita sódica na dieta alimentar. Dissertação (mestrado), Universidade Federal de Santa Maria, Brasil. 2004.
- Berchieri, A. Jr, Silva, E.N., Fábio, J.D., Sesti, L., Zuanaze, M.A. (Eds.). *Doenças das Aves*. 2 ed., FACTA Brasil. 2009. 1.104p.
- Boettcher, A. Valores bioquímicos sanguíneos del cisne de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*, Molina 1782), en una población silvestre, de Valdivia, Chile. Memoria de Título presentada como parte de los requisitos para optar al título de Médico Veterinario. Universidad Austral de Chile. 2004
- Bowes, V; Julian, R; Stirtzinger, T. Comparison of Serum Biochemical Profiles of Male Broilers with Female Broilers and White Leghorn Chickens *Can J Vet Res* 1989; 53: 7-11
- Burke, W; Reprodução das aves. Em Swenson, M; O'Reece, W. *Fisiologia dos animais domésticos*. Cornell University Press, 1996.

- Burns, K; Ruiz, J; Opengart, K; Hofacre, C; Brown, T; Rowland N. Hypoglycemia spiking mortality syndrome in broilers with rickets and a subsequent investigation of feed restriction as a contributing factor. *Avian Diseases*, Vol. 46, No. 3. 2002, pp. 735-739
- Campbell, T. Blood biochemistry of lower vertebrates. 55th Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists (ACVP) & 39th Annual Meeting of the American Society of Clinical Pathology (ASVCP), ACVP and ASVCP (Eds.) Publisher: American College of Veterinary Pathologists & American Society for Veterinary Clinical Pathology, Middleton WI, USA. 2004.
- Crespo, R., Shivaprasad, H. Developmental, metabolic and other non infectious disorders. In: Saif, Y; Barnes, H; Glisson, J; Fadly, A; McDougald, L; Swayne, D. Diseases of Poultry. American Association of Avian Pathologist. Iowa State Press A Blackwell Publishing Company. USA. 12a. Edition. 2008. pp.1149-1195
- Cubas, Z; Siderose hepática em tucanos e araraís. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2008.
- David, J. Hypoglycemia – Spiking mortality syndrome of broiler chickens. In: Saif, Y; Barnes, H; Glisson, J; Fadly, A; McDougald, L; Swayne, D. Diseases of Poultry. American Association of Avian Pathologist. Iowa State Press A Blackwell Publishing Company. USA. 12a. Edition. 2008. pp.1269-1272.
- Duncan, J. Bioquímica Clínica. En: Manual de Patología Clínica em Pequenos Animais. Davidson, M; R. Else; J. Lumsden (Eds). Ed. Harcourt, España. 2000.
- Fernandez, A; Verde, M; Gascon, J; Ramos, J; Gomez, D; Luco, F; Chavez, G. Variations of clinical biochemical parameters of laying hens and broiler chickens fed aflatoxin-containing feed. *Avian Pathology* 23, 1994. 37-47.
- Fulton, R. Other toxins and poisons – nitrofurans and ionophore antibiotics. In: Saif, Y; Barnes, H; Glisson, J; Fadly, A; McDougald, L; Swayne, D. Diseases of Poultry. American Association of Avian Pathologist. Iowa State Press A Blackwell Publishing Company. USA. 12a. Edition. 2008. pp.1231-1258.
- González, F; Silva, S. Introdução à bioquímica clínica veterinária. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2ª edição. 2006.
- Kaneko, J; Harvey, J; Bruss, M. Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 5th ed., San Diego, Academic Press, 1997, 932p.
- Klasing, K. Nutritional diseases. In: Saif, Y; Barnes, H; Glisson, J; Fadly, A; McDougald, L; Swayne, D. Diseases of Poultry. American Association of Avian Pathologist. Iowa State Press A Blackwell Publishing Company. USA. 12a. Edition. 2008. pp.1121-1148
- Laboratorio de Patología Aviar, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia, (LPA-UN). Registros, historias clínicas 2003- 2010.
- Lumeij, J. T. The influence of blood sample treatment on plasma potassium concentrations in avian blood, *Avian Pathology*, 14: 2. 1985. 257- 260.
- Lumeij, J. Plasma urea, creatinine and uric acid concentrations in response to dehydration in racing pigeons (*Columba Livia Domestica*), *Avian Pathology*, 16: 3. 1987. 377-382.
- Lumeij, J. Relation of plasma calcium to total protein and albumin in African grey (*Psittacus erithacus*) and amazon (*Amazona spp.*) parrots', *Avian Pathology*, 19: 4. 1990. 661- 667.
- Lumeij, J; Remple, J. Plasma urea, creatinine and uric acid concentrations in relation to feeding in peregrine falcons (*Falco peregrinus*). *Avian Pathology*, 20: 1. 1991. 79-83.
- Lumeij, J.T. Avian Clinical Biochemistry. In: Kaneko, J.J.; Harvey, J.W.; Bruss, M.L. Clinical Biochemistry of Domestic Animals 5th edition. San Diego, Academic Press, 1997. 932p.
- Masako, N; Issamu, C; Okabayoshi, S; Albuquerque, E. Fisiopatologia do sistema digestório e anexos. In: Berchieri et al. Doenças das aves. 2 ed. FACTA Brasil. 2009.
- Randall, C; Reece, R. Color atlas of avian histopathology. London. Mosby-Wolfe. 1996. 232 p.

- Ribeiro, E; Gonçalves, F; Montagner, P; Lopes, M; Del pino, F; Anciuti, M; Corrêa, M; Gentilini, F; Provenci, M; Novelini, L. Níveis de proteínas plasmáticas totais, albumina e colesterol séricos em poedeiras comerciais em diferentes fases de produção de ovos. XVII Congresso de Iniciação Científica. X Encontro de Pós-graduação. Novembro de 2008.
- Saif, Y; Barnes, H; Glisson, J; Fadly, A; McDougald, L; Swayne, D. Diseases of Poultry. American Association of Avian Pathologist. Iowa State Press A Blackwell Publishing Company. USA. 12 Edition. 2008.
- Schmidt, E; Locatelli -Dittrich, R; Santin, E; Paulillo, A. Patologia clínica em aves de produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – revisão. Archives of Veterinary Science, v 12, n.3. 2007. p.9-20.
- Swenson, M; O'Reece, W. Dukes. Fisiologia dos animais domésticos. Cornell University Press. 1996.