



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

ESTUDO DOS NÍVEIS DE L-LACTATO EM PLASMA DE COELHO (*Oryctolagus cuniculus*):  
DETERMINAÇÃO DE VALORES DE REFERÊNCIA E SEU VALOR PROGNÓSTICO

SARA RAQUEL CORREIA DIAS

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José António Mestre Prates  
Doutora Maria Teresa Villa de Brito  
Mestre Sandra Tavares de Jesus  
Dr. Andrés Montesinos barceló

ORIENTADOR

Dr. Andrés Montesinos Barceló

CO-ORIENTADOR

Mestre Sandra Tavares de Jesus

2010

LISBOA





UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

ESTUDO DOS NÍVEIS DE L-LACTATO EM PLASMA DE COELHO (*Oryctolagus cuniculus*):  
DETERMINAÇÃO DE VALORES DE REFERÊNCIA E SEU VALOR PROGNÓSTICO

SARA RAQUEL CORREIA DIAS

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José António Mestre Prates  
Doutora Maria Teresa Villa de Brito  
Mestre Sandra Tavares de Jesus  
Dr. Andrés Montesinos barceló

ORIENTADOR

Dr. Andrés Montesinos Barceló

CO-ORIENTADOR

Mestre Sandra Tavares de Jesus

2010

LISBOA

“O impossível, em geral, é o que não se tentou”

*Jim Goodwin*



## **Agradecimentos**

Uma dissertação é, pela sua finalidade académica, um trabalho individual, contudo, há contributos de natureza diversa que não podem, nem devem deixar de ser realçados. Algumas pessoas marcam a nossa vida para sempre, umas porque nos vão ajudando a crescer, outras porque nos apresentam projectos de sonho e outras ainda porque nos desafiam a construí-los. Por essa razão, desejo expressar os meus sinceros agradecimentos:

Ao Dr. Andrés Montesinos Barceló, por ter aceite coordenar o meu estágio, pela ajuda e disponibilidade incondicional demonstradas durante a sua realização, pelas respostas sempre acompanhadas de comentários estimulantes e sensatos.

À Dr<sup>a</sup>. María Ardiaca Garcia, pelo estímulo e entusiasmo transmitidos, pelas questões levantadas ao longo do estágio, que me obrigaram a reflectir mais profundamente sobre determinados aspectos, bem como a toda a equipa do Centro Veterinário Los Sauces, pela paciência, dedicação, amizade e partilha de conhecimentos.

À Dr<sup>a</sup>. Sandra de Jesus, minha co-orientadora, que desde o primeiro momento se mostrou receptiva em co-orientar o meu estágio.

À Professora Doutora Isabel Neto, pela ajuda incondicional no processamento estatístico dos dados, pela sua boa disposição e empenho nas horas de trabalho conjunto.

Ao Dr. Rui Patrício, pelos últimos quatro anos de partilha de conhecimentos, pelo entusiasmo e dedicação que sempre me transmitiu, por acreditar nas minhas capacidades e me fazer ir além fronteiras.

À Teresa, à Catarina, à Inês, à Cláudia, à Raquel e a todos os meus colegas de faculdade, por todos os momentos partilhados, pelo convívio, pelas longas horas de estudo em conjunto, pelos sorrisos, pelo companheirismo e pela amizade que ficará.

A todos os meus amigos que quando necessário estiveram sempre lá.

À minha irmã, por aquilo que é, pela sua inteligência e capacidade de trabalho, pela presença, pela palavra, pelo sorriso, por toda a nossa amizade e por desde o primeiro momento me transmitir sempre energia positiva e capacidade de superar todos os obstáculos.

Aos meus pais que sempre exigiram de mim o que sabiam que eu podia dar, por me terem apoiado neste percurso académico e por continuarem a acreditar em mim.

E a todos aqueles que publicaram trabalhos que me foram úteis à realização desta dissertação.

## Resumo

Em medicina humana, diversos estudos demonstraram que a medição do lactato sérico é um instrumento útil no diagnóstico, monitorização e prognóstico de uma larga variedade de síndromes clínicas. Em medicina veterinária, muito pouco foi relatado sobre índices prognósticos do lactato. A hiperlactatemia e a acidose láctica ocorrem frequentemente em medicina veterinária, em animais em estado crítico que apresentam alterações clínicas únicas ou múltiplas, tais como choque, insuficiência hepática, septicemia, neoplasias, envenenamento, entre outras. As situações de hipoperfusão e consequente hipoxigenação conduzem a um aumento do metabolismo anaeróbio e como resultado, à hiperlactatemia.

Com a elaboração deste trabalho pretendeu-se, determinar os valores de referência de L-lactato plasmático em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), bem como avaliar e interpretar diferenças nos níveis de lactato entre coelhos doentes e não doentes e também entre animais sobreviventes e não sobreviventes, que ingressaram no Centro Veterinario Los Sauces, para consulta ou que permaneceram internados na UCI. Ao mesmo tempo, pretendeu-se detectar diferenças nos níveis de lactato consoante a patologia presente e efectuar a comparação com a respectiva evolução em termos de sobrevivência.

De acordo com o estudo, os valores normais encontraram-se entre 6,89 – 8,66 mmol/L (IC 95%) e os coelhos doentes tendem a apresentar no momento de ingresso valores mais elevados. Ao longo do estudo foi possível constatar que os animais cujos valores de lactato baixavam para valores normais após terapêutica apresentavam um melhor prognóstico de sobrevivência. Os animais cujos níveis de lactato baixam para além dos valores de referência e se mantêm baixos, estatisticamente, têm menor probabilidade de sobrevivência.

**Palavras-chave:** Coelho (*Oryctolagus cuniculus*), lactato, plasma, valores de referência, prognóstico e sobrevivência.



## **Abstract**

Several studies in human medicine have shown that measurements of serum lactate are a useful tool in diagnosis, monitoring and prognosis of a wide variety of clinical syndromes. Hyperlactataemia and lactic acidosis occurs commonly in veterinary medicine in critically ill patients who have single or multiple clinical disorders, such as shock, states of low cardiac output, acute liver disease, sepsis, cancer, poisoning, drug administration and others. In veterinary medicine, there are few studies that associate lactate levels to prognostic indexes. Situations of hypoperfusion and consequent hypoxigenation lead to an increase in anaerobic metabolism and, as a result to hyperlactataemia.

The purpose of this study was to determine the normal range for L-lactate in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) and to assess if these levels could be used either as a diagnostic tool between healthy and sick animals, or as a prognostic factor in survivors and non-survivors during the period of hospitalization. During the study we also tried to detect differences in blood lactate levels within diseases and compare their evolution in terms of survival.

We found the reference L-lactate range to be 6,89 – 8,66 mmol/L (IC 95%), and hill rabbits normally showed a higher lactate values. During this study, a decrease in lactate levels, to normal values, after treatment was most evident in surviving animals, whereas in non-survivors values decreased below the normal range, over time.

**Key-words:** Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*), lactate, plasma, reference range, prognosis and survival.



## Índice Geral

1. Descrição das actividades de estágio	1
2. Revisão bibliográfica	5
2.1 Fisiologia e metabolismo do lactato	6
2.2 Outra fonte de energia e lactato	9
2.3 Homeostasia do lactato	13
2.4 L-lactato <i>versus</i> D-lactato	14
2.5 Valores normais de lactato sanguíneo	16
2.6 Técnica de recolha de amostras	17
2.7 Hiperlactatémia e acidose láctica	18
2.8 Hipoperfusão / Hipóxia “oculta”	22
2.9 Importância da monitorização na UCI	23
2.10 Valor prognóstico do lactato	24
3. Objectivos do estudo	27
4. Material e métodos	27
4.1 Animais envolvidos no estudo	27
4.2 Grupos presentes no estudo	28
4.2.1 Formação e codificação dos grupos	28
4.2.2 Critérios de inclusão	29
4.3 Colheita de amostras e respectivos cuidados	30
4.4 Método analítico	31
4.4.1 Valores de referência	31
4.5 Análise estatística	31
5. Resultados	32
5.1 Estudo A (Valores de referência)	32
5.2 Estudo B (Medição única nos animais doentes)	34
5.2.1 Interpretação dos níveis de L-lactato plasmático em coelhos doentes e não doentes	34
5.2.2 Interpretação dos níveis de L-lactato plasmático em coelhos sobreviventes e não sobreviventes	35
5.2.3 Interpretação dos níveis de L-lactato plasmático em coelhos de acordo com a patologia/sistema afectado	37
5.2.4 Interpretação dos níveis de L-lactato plasmático em coelhos de acordo com a patologia/sistema afectado e respectiva sobrevivência	38
5.3 Estudo C (Medições quádruplas em animais na UCI)	39
5.3.1 Interpretação dos níveis de L-lactato plasmático em coelhos doentes internados na UCI	39

5.3.2 Interpretação dos níveis de L-lactato plasmático em coelhos sobreviventes e não sobreviventes internados na UCI	41
6. Discussão	42
7. Conclusão	49
8. Referências bibliográficas	51
Anexos	58

## Índice de Gráficos

Gráfico 1.	Relação entre os grupos de animais observados	2
Gráfico 2.	Relação entre os diferentes grupos de mamíferos	2
Gráfico 3.	Relação entre os diferentes grupos de aves	3
Gráfico 4.	Relação entre os diferentes grupos de répteis	3
Gráfico 5.	Relação entre as diferentes espécies de anfíbios	4
Gráfico 6.	Distribuição dos níveis de L-lactato plasmático nos coelhos não doentes	33
Gráfico 7.	Distribuição dos níveis de L-lactato plasmático nos CD e CND	34
Gráfico 8.	Distribuição dos níveis de L-lactato plasmático nos grupos de CS e CNS	36
Gráfico 9.	Distribuição e medianas dos valores de L-lactato plasmático nos grupos de CS e CNS	36
Gráfico 10.	Diferenças entre os valores médios de L-lactato plasmático relativos aos diferentes grupos de patologias/sistemas afectados e suas relações com os valores de referência	38
Gráfico 11.	Valores médios das quatro medições de L-lactato plasmático em coelhos doentes hospitalizados em UCI e a sua relação com os valores de referência	40
Gráfico 12.	Valores médios das quatro medições de L-lactato plasmático em CS e CNS hospitalizados em UCI e a sua relação com os valores de referência	41

## Índice de Figuras

Figura 1.	Glicólise	6
Figura 2.	Glicólise, ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa	7
Figura 3.	Ciclo de Cori	8
Figura 4.	Actividade do sistema digestivo do coelho durante a excreção de fezes duras e cecotrofos	10
Figura 5.	Diagrama esquemático dos principais responsáveis pelo consumo de lactato	14
Figura 6.	L-lactato <i>versus</i> D-lactato	15
Figura 7.	Diagrama esquemático dos factores que influenciam o transporte de oxigénio	20
Figura 8.	Causas de alterações no metabolismo do lactato e consequente hiperlactatémia	22
Figura 9.	Curva de probabilidade, indicando a probabilidade de sobrevivência tendo em conta a concentração de lactato sanguíneo	24
Figura 10.	Evolução dos níveis de oxigénio e lactato sanguíneo em animais de laboratório, após exposição forçada a reduzida oxigenação	26
Figura 11.	Analizador Bioquímico Multicanal Screenpoint	31

## Índice de Tabelas

Tabela 1.	Relação entre os ácidos gordos voláteis (AGV) no ceco do coelho	11
Tabela 2.	Principais produtores e consumidores de lactato em condições normais	13
Tabela 3.	Interpretação das concentrações de lactato sanguíneo em cães adultos	16
Tabela 4.	Causas mais comuns de acidose láctica do tipo A	19
Tabela 5.	Causas mais comuns de acidose láctica do tipo B	20
Tabela 6.	Valores de referência de diferentes parâmetros em coelhos	24
Tabela 7.	Amostra de animais envolvidos no estudo	28
Tabela 8.	Grupos de animais em estudo e sua codificação	28
Tabela 9.	Grupos de animais em estudo e tipo de patologia envolvida na categorização efectuada	29
Tabela 10.	Amostra de animais envolvidos no estudo A para determinação de valores de referência	33
Tabela 11.	Perfil dos valores de L-lactato plasmático na amostra de CND – Valores de referência	33
Tabela 12.	Valores médios de L-lactato plasmático em coelhos doentes (CD) e não doentes (CND)	34
Tabela 13.	Coelhos envolvidos no estudo com uma única medição de L-lactato plasmático e respectiva sobrevivência	35
Tabela 14.	Valores médios de L-lactato entre coelhos sobreviventes e não sobreviventes	36
Tabela 15.	Valores médios de L-lactato plasmático em coelhos segundo a patologia/sistema afectado	37
Tabela 16.	Valores médios de L-lactato plasmático em coelhos segundo a patologia/sistema afectado e respectiva sobrevivência	39
Tabela 17.	Valores médios das quatro medições de L-lactato plasmático em coelhos doentes hospitalizados em UCI	40
Tabela 18.	Valores médios das quatro medições de L-lactato plasmático em coelhos sobreviventes (CS) e não sobreviventes (CNS) hospitalizados em UCI	42

## Índice de Anexos

Anexo 1.	Lista de espécies observadas durante o estágio (número e frequência relativa)	59
----------	---	----

## Lista de Siglas/Acrônimos, Abreviaturas e Símbolos/Sinais

- % Percentagem
- ♀ Fêmea
- < Menor
- > Maior
- °C Graus Célsius
- ® Marca registrada
- **Acetil-CoA** Acetil-coenzima A
- **ATP** Adensina-trifosfato
- **ADP** Adenosina-difosfato
- **AGV** Ácidos gordos voláteis
- **C1** Grupo de animais com patologias dentárias
- **C2** Grupo de animais com hipomotilidade/atonia gastrointestinal
- **C3** Grupo de animais com insuficiência hepática
- **C4** Grupo de animais com insuficiência renal
- **C5** Grupo de animais com insuficiência / dificuldade respiratória
- **C6** Grupo de animais com piómetra / distócia
- **C7** Grupo de animais com outras patologias reprodutoras (♂)
- **C8** Grupo de animais com patologias cutâneas / feridas
- **C9** Grupo de animais com Encefalitozoon
- **C10** Grupo de animais com patologias músculo-esqueléticas
- **C11** Grupo de animais com anemia
- **C12** Grupo de animais com outras patologias
- **CD** Grupo de animais doentes

- <b>CND</b>	Grupo de animais não doentes
- <b>CNS</b>	Grupo de animais não sobreviventes
- <b>CNSE</b>	Grupo de animais não sobreviventes eutanasiados
- <b>CNSM</b>	Grupo de animais não sobreviventes com morte natural
- <b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de carbono
- <b>CS</b>	Grupo de animais sobreviventes
- <b>CV</b>	Coefficiente de variação
- <b>dl</b>	Decilitro
- <b>DO<sub>2</sub></b>	Transporte de oxigénio
- <b>DP</b>	Desvio Padrão
- <b>ECG</b>	Electrocardiograma
- <b>EDTA</b>	Ácido etilenodiamina tetracético
- <b>FC</b>	Frequência cardíaca
- <b>FiO<sub>2</sub></b>	Fracção inspirada de oxigénio
- <b>GDV</b>	Torção e dilatação gástrica
- <b>h</b>	Hora
- <b>H<sup>+</sup></b>	Hidrogénio
- <b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	Bicarbonato
- <b>H<sub>2</sub>O</b>	Água
- <b>Hgb</b>	Hemoglobina
- <b>Hto</b>	Hematócrito
- <b>IC</b>	Intervalo de confiança
- <b>IL-1</b>	Interleucina 1
- <b>IV</b>	Endovenoso

- <b>IO</b>	Intraósseo
- <b>Kg</b>	Quilograma
- <b>L</b>	Litro
- <b>LDH</b>	Lactato desidrogenase
- <b>LR</b>	Solução de lactato de Ringer
- <b>n°</b>	Número
- <b>NAD<sup>+</sup></b>	Forma oxidada do dinucleotido adenina nicotilamina
- <b>NADH</b>	Forma reduzida do dinucleotido adenina nicotilamina
- <b>mEq</b>	Miliequivalente
- <b>mg</b>	Miligrama
- <b>ml</b>	Mililitro
- <b>mmHg</b>	Milimetro de mercúrio
- <b>mmol</b>	Milimol
- <b>nm</b>	Nanómetro
- <b>O<sub>2</sub></b>	Oxigénio
- <b>OVH</b>	Ovariohisterectomia
- <b>PAM</b>	Pressão arterial média
- <b>PaO<sub>2</sub></b>	Pressão arterial de oxigénio
- <b>PDH</b>	Piruvato desidrogenase
- <b>PFK</b>	Fosfofrutoquinase
- <b>pH</b>	Medida que indica se uma solução é ácida, neutra ou básica
- <b>PO<sub>2</sub></b>	Pressão parcial de oxigénio
- <b>SaO<sub>2</sub></b>	Saturação de oxigénio
- <b>SIRS</b>	Síndrome de resposta inflamatória sistémica

- **SNC** Sistema nervoso central
- **TAC** Tomografia axial computadorizada
- **TNF $\alpha$**  Factor de necrose tumoral
- **TRC** Tempo de repleção capilar
- **UCI** Unidade de cuidados intensivos
- **UI** Unidades internacionais
- **VO $_2$**  Consumo de oxigénio
- **ZOO** Zoológico

## 1. DESCRIÇÃO DAS ACTIVIDADES DE ESTÁGIO

A componente prática do estágio curricular que serviu de base a esta dissertação foi realizada na área de Medicina e Cirurgia de Animais Exóticos e de ZOO, no Centro Veterinario Los Sauces – Madrid, com duração de aproximadamente 1983 horas, realizadas entre Setembro de 2009 e Maio de 2010, sob a orientação científica do Dr. Andrés Montesinos Barceló.

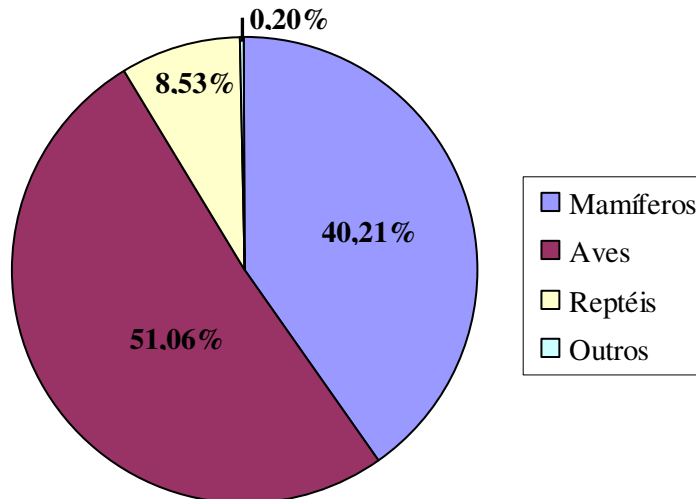
A equipa médico-veterinária é constituída pelo Dr. Andrés Montesinos (Director Clínico), Dr.<sup>a</sup>. María Ardiaca, Dr.<sup>a</sup>. Cristina Bonvehí, Dr.<sup>a</sup>. Sara Barrera e Dr.<sup>a</sup>. Marina Cuesta. Na clínica trabalham ainda, três auxiliares.

A clínica encontra-se aberta ao público de Segunda-feira a Sábado das 10:00 às 21:00, sem intervalo para almoço, possuindo ainda um veterinário de urgências, disponível fora do horário de abertura, todos os dias do ano.

Durante o estágio tive oportunidade de assistir e participar em diversas actividades clínicas: no internamento, tinha como funções: a preparação e administração de medicação, alimentação e monitorização dos pacientes, e quando solicitado, a realização de procedimentos e tratamentos médicos como limpeza de feridas e abcessos, colheita de sangue, colocação e remoção de cateteres IV e IO, fluidoterapia, análises sanguíneas, urina tipo II, coprológicas e serológicas, e ainda, realizar exames complementares de diagnóstico, como operador ou auxiliando à contenção e posicionamento dos pacientes (radiografias simples, radiografias de contraste, mielografias, ecografias e ecocardiografias, endoscopias, ECG e TAC). Durante as consultas, observava a realização da anamnese e exame físico e, quando solicitado, auxiliava na contenção, pesagem, preparação e administração de medicação e realização de meios complementares de diagnóstico, chegando ainda a realizar consultas simples, como administração de medicação de frequência semanal, entrega de pacientes aquando da alta médica, entre outras. Durante as cirurgias, tinha como função a preparação e administração da pré-medicação e indução anestésica, colocação de cateteres IV ou IO e preparação do paciente, podendo ainda, colaborar como ajudante de cirurgião, como anestesista ou circulante, efectuando ainda a administração de medicação e monitorização pós-cirúrgica; tive ainda a possibilidade de observar e realizar necrópsias, preparar amostras para envio para o laboratório e treinar venopunções, colocação de cateteres IO, entre outros procedimentos, em cadáveres de animais exóticos. Ao longo do estágio, para além da prestação diária, fui ainda avaliada oralmente pelo orientador sobre temas/casos clínicos previamente estudados em casa.

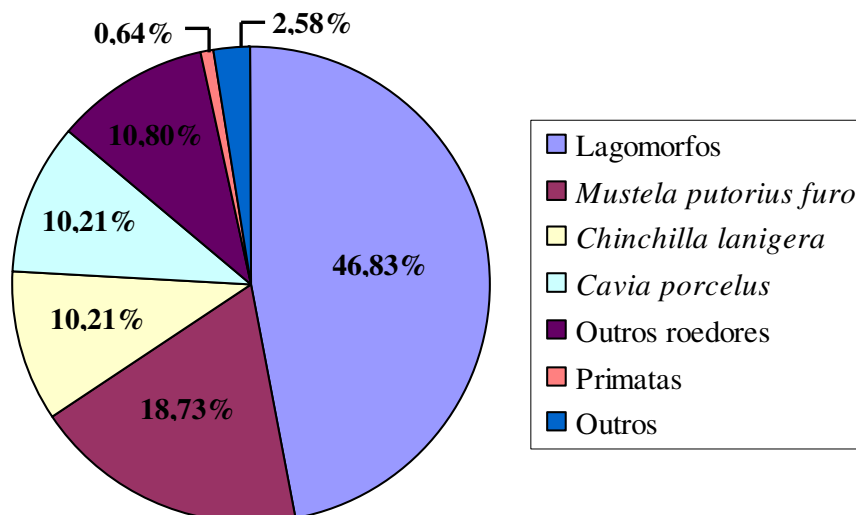
Deste modo, durante a minha estadia em Madrid, deram entrada 5019 animais entre mamíferos, aves, reptéis, anfíbios e peixes. Assim, foram examinados 2563 aves, 2018 mamíferos, 428 répteis, 9 anfíbios e 1 peixe, cujas percentagens se apresentam no gráfico 1.

**Gráfico 1.** Relação entre os grupos de animais observados



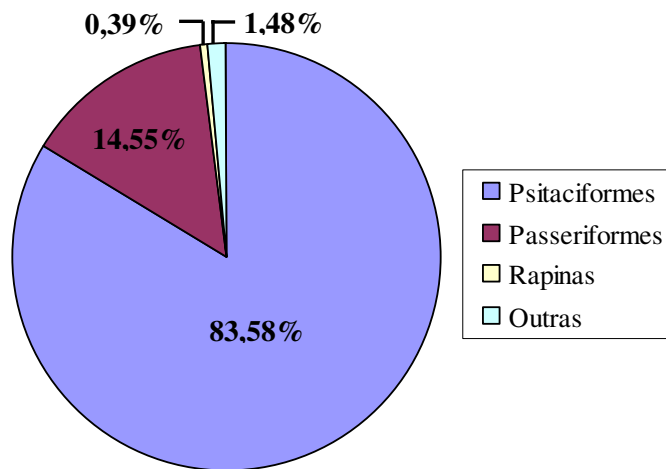
Na classe dos mamíferos, foram observados animais de um total de 23 espécies diferentes, cuja lista completa se encontra no Anexo 1. A maioria dos animais observados foi constituída por coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*), num total de 941 animais, seguidos de 378 Furões (*Mustela putorius furo*), 206 Chinchilas (*Chinchilla lanigera*), 206 Cobaias (*Cavia porcellus*), 218 exemplares de Outros Roedores, 13 Primatas e 52 exemplares de outras espécies, como é possível observar no gráfico 2.

**Gráfico 2.** Relação entre os diferentes grupos de mamíferos



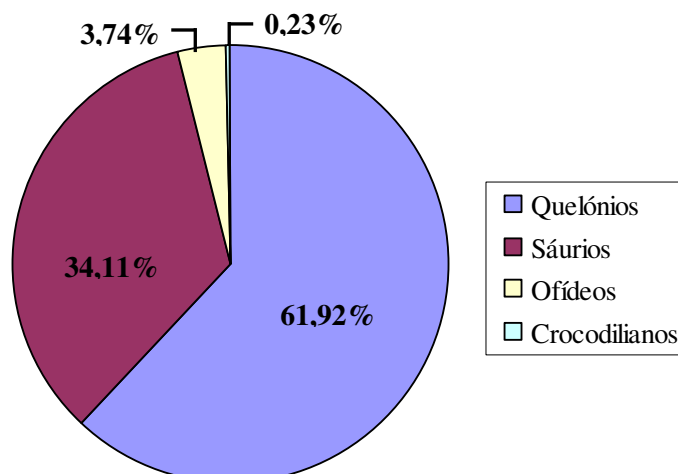
Tendo em conta as aves examinadas, foram observadas 89 espécies diferentes, cuja lista completa se encontra no Anexo1. As quatro espécies mais observadas foram: Papagaio Cinzento (*Psittacus erithacus erithacus*), Periquito comum (*Melopsittacus undulatus*), Canário (*Serinus canaria*) e Caturra (*Nymphicus holllandicus*). Para uma mais fácil visualização dos dados, estes encontram-se organizados em 5 grupos distintos, como se pode observar no gráfico 3. Os Psitaciformes constituem o grupo mais observado, seguido pelos Passeriformes. O grupo de Outras Aves é constituído por animais pertencentes a ordem dos Galliformes e dos Columbiformes.

**Gráfico 3.** Relação entre os diferentes grupos de aves



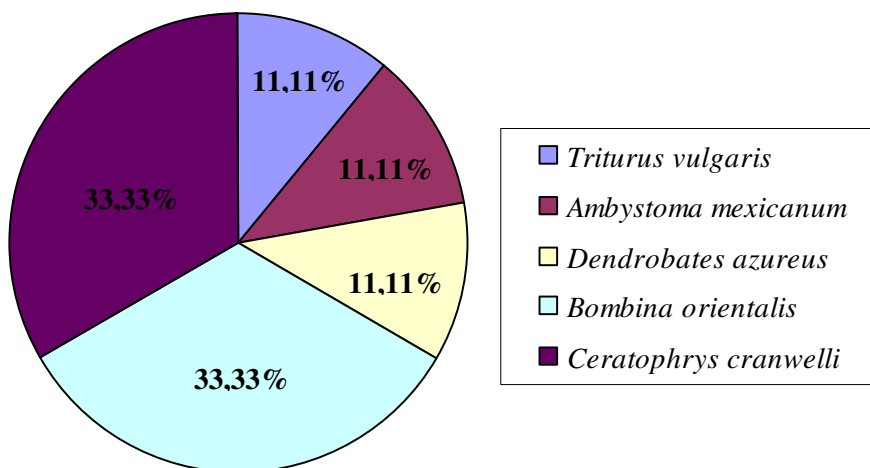
Em relação aos 428 répteis observados, foram examinadas 31 espécies distintas, cuja lista completa se encontra no Anexo 1. Os Quelónios constituem o maior grupo (265 animais), seguido dos Saurios (146 animais), Ofídeos (16 animais) e 1 *Alligator sinensis*, pertencente a ordem Crocodilia, como pode ser observado no gráfico 4.

**Gráfico 4.** Relação entre os diferentes grupos de répteis



No que respeita aos Anfíbios foram apenas observados 9 exemplares pertencentes a 5 espécies diferentes, como é observado no gráfico 5. Foi ainda observado um peixe da espécie *Cyprinus carpio*, para execução de necrópsia.

**Gráfico 5.** Relação entre as diferentes espécies de anfíbios



## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O lactato foi identificado pela primeira vez em 1780, por Scheele, um químico sueco (Meakins & Long, 1927; Ewaschuk, Naylor & Zello, 2005). Trata-se de um metabolito produzido por todas as células dos mamíferos em condições de anaerobiose (Luft, 2001). A hiperlactatemia define-se por uma elevada concentração de lactato a nível sanguíneo, ao passo que a acidose láctica é caracterizada por um aumento dos níveis de lactato acompanhado pela diminuição do pH sanguíneo (Pang & Boysen, 2007; Allen & Holm, 2008). A acidose láctica surge, geralmente, como resultado de uma hipoperfusão tecidual e hipóxia, estando associada a situações como choque, anemia grave, stress respiratório e estados hipermetabólicos ou ainda à exposição a diversos fármacos/toxinas, a defeitos mitocondriais, estados de septicémia ou outros que comprometam a produção de energia por via aeróbia e o consumo de lactato (Luft, 2001; Allen & Holm, 2008). Sintetizando, sempre que a via aeróbia fica comprometida, sendo potenciada a via anaeróbia, a produção de lactato é potenciada, podendo progredir para um estado de acidose metabólica (Luft, 2001).

Antigamente a medição dos níveis de lactato era difícil, visto serem necessários 100 a 200 ml de amostra sanguínea e vários dias para o seu processamento. Actualmente, graças às mais avançadas técnicas, esta mesma medição pode ser efectuada através de diversos dispositivos que requerem uma reduzida amostra de sangue ou plasma (130 µl) e que processam os resultados num curto espaço de tempo entre 30 segundos a 2 minutos, dependendo do aparelho utilizado (Wiese, Didwania, Kerzner & Chernow, 1997; Bakker & Lima, 2004; Pang & Boysen, 2007).

Desde o século XVIII, com Pasteur, até aos dias de hoje, numerosos estudos demonstraram que a anóxia e a hipóxia tecidual estimulam a produção de lactato a nível celular (Gladden, 2004). Quer em pacientes críticos, quer em situações de emergência, o aumento do nível de lactato deve alertar os clínicos, pois está correlacionado com um maior risco de morbilidade e a uma diminuição na taxa de sobrevivência em mamíferos (Trzeciak *et al.*, 2007). Uma rápida avaliação e intervenção clínica são essenciais para restabelecer o equilíbrio entre o aporte e a utilização do oxigénio a nível tecidual, de forma a restabelecer um bom aporte de oxigénio e consequente consumo por parte das células (Bakker & Lima, 2004). O lactato tem sido extensamente investigado em medicina humana e múltiplos estudos referem que a monitorização dos níveis de lactato é um instrumento útil no diagnóstico, prognóstico, avaliação e tratamento de pacientes críticos, de forma rápida, fácil e económica (Bakker & Lima, 2004; Pang & Boysen, 2007), nunca esquecendo que o organismo se apresenta como

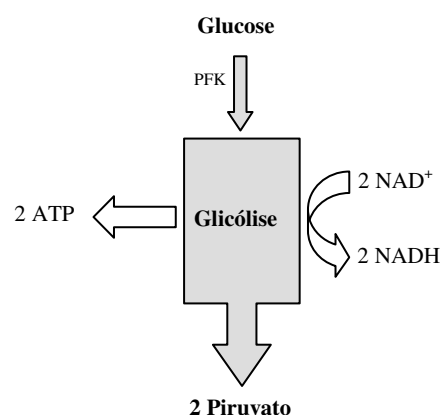
um conjunto de processos dinâmicos e complexos, devendo ser avaliado como um todo (Valenza *et al.*, 2005; Bolton, 2007). Em medicina veterinária, pouco tem sido relatado sobre o lactato, contudo, têm sido desenvolvidos diversos estudos, em várias espécies, que demonstram que a sua utilização auxilia na avaliação da gravidade da patologia, no prognóstico e na resposta à terapêutica instituída (Papp, Drobatz & Hughes, 1999; Nel Lobetti, Keller & Thompson, 2004; Pang & Boysen, 2007; Hagman, Reezigt, Ledin & Karlstam, 2009). Deste modo, considero relevante um estudo mais aprofundado sobre os valores de referência e a correlação entre os níveis de lactato e o prognóstico de sobrevivência em coelhos.

## 2.1 Fisiologia e metabolismo do lactato

Todas as células do organismo necessitam de energia para realizar os processos metabólicos básicos à sua sobrevivência (tipicamente sob a forma de adenosina-trifosfato, ATP) (Savigny, 2006). Esta energia celular é produzida por três grandes processos: a glicólise, o ciclo de Krebs e a fosforilação oxidativa (Guyton & Hall, 2003; Acierno & Mitchell, 2007).

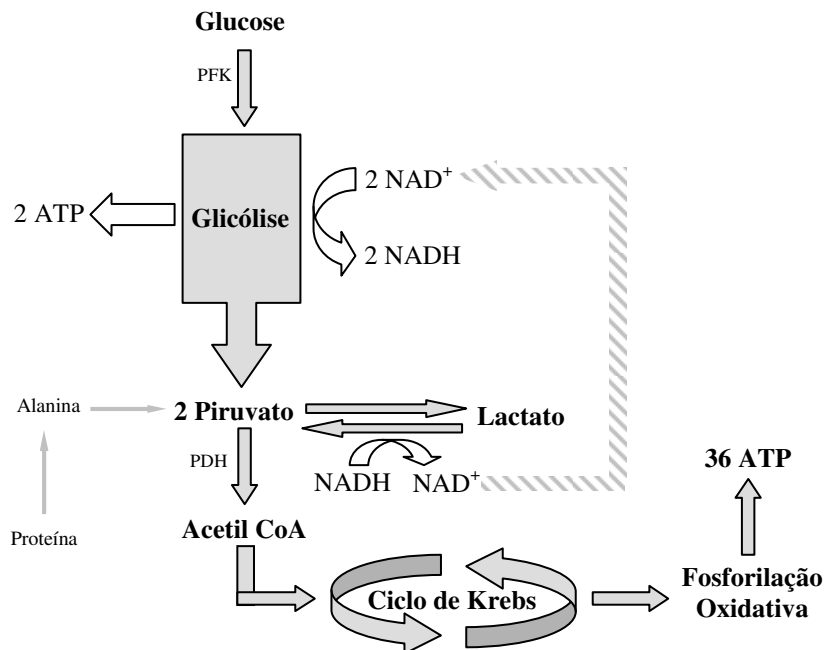
A glicólise surge como o primeiro passo no metabolismo da glucose; é um processo não dependente de oxigênio (condições anaeróbicas) e ocorre no citoplasma celular, resultando na produção de piruvato (figura 1) (Bolton, 2007; Allen & Holm, 2008; Brouns *et al.*, 2008). Todas as células têm capacidade glicolítica, sendo esta mais acentuada nas células do músculo cardíaco, do músculo esquelético, do aparelho digestivo e do sistema nervoso central (SNC) (Guyton & Hall, 2003; Karagiannis, Reniker, Kerl & Mann, 2006; Pang & Boysen, 2007). O metabolismo da glucose por esta via conduz à redução de  $\text{NAD}^+$  a  $\text{NADH}$  com produção de 2 moles de ATP, a forma energética mais importante (figura 1) (Acierno & Mitchell, 2007; Bolton, 2007).

**Figura 1.** Glicólise (Bolton, 2007). Imagem adaptada.



Na presença de oxigénio (condições aeróbias), o piruvato difunde-se para o interior da mitocôndria, integrando o ciclo de Krebs e a fosforilação oxidativa (Karagiannis *et al.*, 2006). Desencadeiam-se um conjunto de reacções, resultando num saldo energético de 36 moles de ATP, bem como a oxidação de NADH a  $\text{NAD}^+$  (figura 2) (Bolton, 2007; Allen & Holm, 2008). No que diz respeito às células que não possuem mitocôndria, como é o caso dos eritrócitos, o piruvato formado é catalisado em lactato, através da acção da enzima lactato desidrogenase (LDH) (Pang & Boysen, 2007; Kovacic, 2009). A conversão do piruvato em lactato conduz a uma “reciclagem” metabólica, nomeadamente à oxidação de NADH, permitindo a continuação da glicólise (figura 2) (Guyton & Hall, 2003; Savigny, 2006).

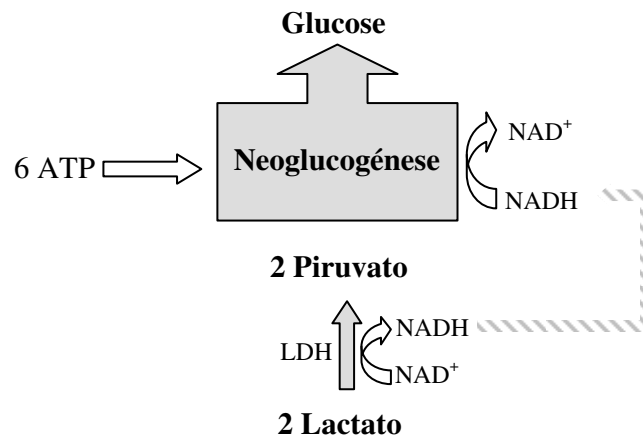
**Figura 2.** Glicólise, ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa (Berg, Tymoczko & Stryer, 2004a).  
Imagem adaptada.



O lactato produzido pelos eritrócitos, difunde-se para fora das células e é transportado a outros tecidos que são capazes de o utilizar na produção de energia. Nos rins, coração e fígado, o lactato é convertido em piruvato, que segue o seu percurso metabólico, sendo transportado para o interior das mitocôndrias para produzir energia (Bolton, 2007). No fígado e nos rins, o mesmo lactato pode ser convertido em glucose através de um processo designado por neoglicogénese (Guyton & Hall, 2003; Pang & Boysen, 2007). A glucose produzida pode então ser armazenada sob a forma de glicogénio ou lançada na corrente sanguínea para uma posterior utilização por outras células e tecidos. A produção de lactato por parte de um

determinado tecido e conversão a glucose por outro, é conhecida por ciclo de Cori (figura 3) (Guyton & Hall, 2003; Allen & Holm, 2008).

**Figura 3.** Ciclo de Cori (Berg, Tymoczko & Stryer, 2004b). Imagem adaptada.



Durante os períodos de hipóxia, os tecidos são forçados a utilizar a glicólise como única forma de produção de energia (Theye, 1971; Pang & Boysen, 2007). Apesar da glicólise ser menos eficiente (apenas 2 moles de ATP), é capaz de se desenrolar muito mais rapidamente que o metabolismo aeróbio, garantindo assim um equilíbrio celular importante (Karagiannis *et al.*, 2006; Pang & Boysen, 2007). Os iões de hidrogénio ( $H^+$ ) tendem a acumular-se devido à redução do  $NAD^+$  a  $NADH$  durante a produção de piruvato e, em condições normais, são consumidos pelo metabolismo aeróbio aquando da fosforilação oxidativa (Levi, Gibot, Franck, Cravoisy & Bollaert, 2005); na ausência de oxigénio (condições anaeróbias), a sua acumulação é potenciada e à medida que as concentrações de piruvato,  $NADH$  e  $H^+$  aumentam, o processo glicolítico tende a diminuir por feedback negativo, de forma a diminuir a sua acumulação/excesso (Bolton, 2007; Allen & Holm, 2008). O excesso de piruvato e  $NADH$ , no interior da célula, conduz à activação da enzima LDH que promove a conversão de piruvato a lactato e conseqüentemente a regeneração de  $NAD^+$  (Allen & Holm, 2008). Em termos fisiológicos, esta reacção permite que a glicólise e a produção de energia a nível do citoplasma continuem. Se a conversão de piruvato em lactato ocorre de forma mais ou menos contínua em situações de hipóxia tecidual, a concentração de lactato aumenta e a relação lactato/piruvato tende a aumentar (Karagiannis *et al.*, 2006). O aumento da concentração intracelular de lactato faz com que este se desloque para a corrente sanguínea. Caso as condições anaeróbias persistam, ocorre uma sobrecarga generalizada e os tecidos que anteriormente eram capazes de reciclar este mesmo lactato (via piruvato ou via ciclo de Cori)

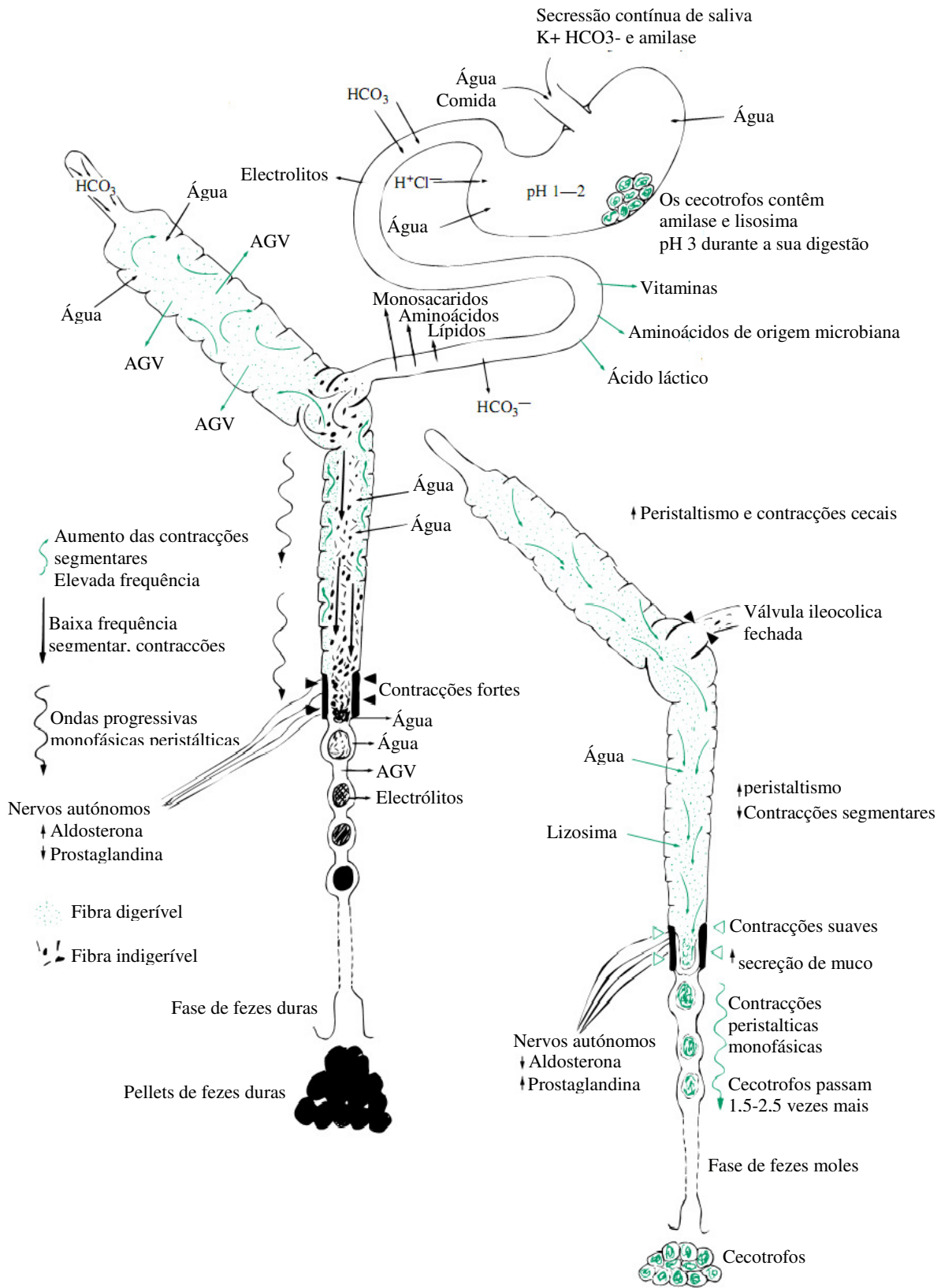
deixam de o ser. O ácido láctico e o lactato existem em equilíbrio em solução, mas a formação de lactato tende a favorecer a libertação de iões de hidrogénio e consequente acidificação do meio, dada a sobrecarga dos mecanismos de balanço/controlo presentes (Allen & Holm, 2008). Após o restabelecimento das condições normais/aeróbias, o lactato, bem como os iões de hidrogénio presentes, poderão ser utilizados no ciclo de Cori ou sofrerem oxidação, formando-se dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e água (H<sub>2</sub>O), conduzindo à reposição dos níveis normais de lactato a nível sanguíneo (Luft, 2001; Guyton & Hall, 2003; Pang & Boysen, 2007).

## **2.2 Outra fonte de energia e lactato**

A acção bacteriana sobre os alimentos no trato digestivo é extensa, tanto nos ruminantes como nos herbívoros não ruminantes (Parker & McMillan, 1976). O coelho obtém mais de 30% da energia necessária à sua manutenção, dos ácidos gordos voláteis (AGV) produzidos por fermentação no trato digestivo (Parker & McMillan, 1976; Marty & Vernay, 1984; Vernay, 1987). No coelho, o local primordial desta actividade é o ceco (40-60% do volume total do trato digestivo), sendo também o local onde ocorre a absorção dos produtos de fermentação, tanto dos ácidos gordos voláteis (AGV) como da amónia (Parker & McMillan, 1976; Davies & Davies, 2003).

O aparelho digestivo dos coelhos está adaptado para digerir grandes quantidades de alimento fibroso (Carabaño, Fraga, Santomá & Blas, 1988; Davies & Davies, 2003). Os coelhos são animais fermentadores e dependem da fermentação microbiana da dieta no ceco para o aporte de nutrientes (Carabaño & Piquer, 1998). No estômago e intestino delgado, a digestão e absorção ocorre de forma similar a um mamífero monogástrico (Davies & Davies, 2003). A separação da ingesta depende do tamanho das partículas e os produtos finais dos processos digestivos são separados no cólon em material indigerível (>0,5 mm) e substâncias que podem ser metabolizadas pelos microrganismos cecais (<0,3 mm). O cólon proximal dos coelhos está especialmente adaptado para a separação das partículas maiores de fibra indigerível das partículas mais pequenas que podem ser degradadas e utilizadas como substrato à fermentação bacteriana no ceco. Os dois componentes são simultaneamente lançados em direcções opostas (figura 4) (Harcourt-Brown, 2002).

**Figura 4.** Actividade do sistema digestivo do coelho durante a excreção de fezes duras e cecotrofos (Harcourt-Brown, 2002). Imagem adaptada



A fibra indigerível passa distalmente através do cólon, e é rapidamente eliminada sob a forma de “pellets” secos e duros. Os fluidos e as partículas mais pequenas passam para o interior do ceco onde a fermentação bacteriana ocorre e onde se libertam os AGV e se sintetizam proteínas e vitaminas (Carabaño & Piquer, 1998; Harcourt-Brown, 2002). Os “pellets” de conteúdo cecal mole (cecotrofos) são periodicamente eliminados pelo ânus e re-ingeridos pelo coelho, sem serem macerados pelos dentes, sendo armazenados no *fundus* do estômago por um período de 3-6h, como fonte de nutrientes (cecotrofia) (Vernay, 1987; Carabaño & Piquer, 1998; Davies & Davies, 2003). Os cecotrofos são pellets de matéria cecal que contêm microrganismos e produtos da fermentação microbiana como aminoácidos, AGV e vitaminas. Os cecotrofos estão encapsulados num revestimento muco-gelatinoso, segregado pelo cólon proximal, que os protege da acidez gástrica (Carabaño & Piquer, 1998; Harcourt-Brown, 2002). Os coelhos produzem, num ritmo circadiano, fezes moles e fezes duras que são distintamente diferentes em tamanho e composição química. As fezes duras são ricas em fibra e pobres em proteína, vitaminas e substâncias hidro-solúveis, ao passo que as fezes moles, que são ingeridas, são muito semelhantes ao conteúdo cecal, ricas em proteínas, vitaminas e minerais (Vernay, 1987). O grau de ingestão dos cecotrofos depende directamente da quantidade de fibra ingerida. O consumo de cecotrofos é mais acentuado quanto maior o aporte em fibra indigerível na dieta (Fraga, Ayala, Carabaño & Blas, 1991; Davies & Davies, 2003).

Os AGV são produzidos pela microflora cecal e absorvidos pelo epitélio cecal como uma fonte de energia para o coelho. O conteúdo cecal contém 60-70% de ácido acético, 15-20% de ácido butírico e 10-15% de ácido propiónico (tabela 1), embora as proporções de AGV possam variar consoante o teor em fibra da dieta (Hall, 1952; Blas & Gidenne, 1998; Harcourt-Brown, 2002; Davies & Davies, 2003).

**Tabela 1.** Relação entre os ácidos gordos voláteis (AGV) no ceco de coelho.  
(Harcourt-Brown, 2002). Tabela adaptada

<b>Ácidos gordos voláteis</b>	
Ácido acético	60-70%
Ácido butírico	15-20%
Ácido propiónico	10-15%

Os AGV são uma fonte de energia para as espécies herbívoras, como os coelhos, que utilizam a fermentação bacteriana como parte do processo digestivo. A proporção e o tipo de ácidos

gordos voláteis que são produzidos dependem do substrato que é metabolizado e das espécies bacterianas presentes (Carabaño *et al.*, 1988; Harcourt-Brown, 2002). No coelho predominam os acetatos seguidos por butirato e propionato, com pequenas quantidades de isobutirato, isovalerato e valerato (Marty & Vernay, 1984). O aumento do nível de fibra na dieta aumenta a proporção de acetato. As bactérias fermentadoras produzem lactato no interior dos cecotrofos durante a sua permanência no estômago, sendo este posteriormente absorvido durante a digestão dos cecotrofos no intestino delgado (Vernay, 1987; Harcourt-Brown, 2002).

Uma quantidade considerável de energia é exigida por parte do intestino grosso para a metabolização e absorção dos AGV, electrólitos e outros nutrientes. Esta energia é fornecida maioritariamente pelo butirato produzido pelos *Bacteroides spp.* que predominam na microflora cecal. Os *Bacteroides* correspondem a  $10^9$ - $10^{10}$  bactérias/g e outros géneros como *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Streptococcus* e *Enterobacter* completam esta população, de forma a garantir uma carga bacteriana de  $10^{10}$ - $10^{12}$  bactérias/g. A composição microbiana não permanece constante ao longo da vida do coelho. (Carabaño & Piquer, 1998; Harcourt-Brown, 2002). De acordo com Marty & Vernay (1984), os AGV são metabolizados no ceco e cólon, sendo o butirato o substrato preferido pelos colonócitos. O epitélio ceco-cólico dos coelhos metaboliza o butirato sem a produção de corpos cetónicos (Marty & Vernay, 1984). O fígado é o principal órgão de metabolização do propionato e do butirato (77% e 84% respectivamente), enquanto que apenas 43% do acetato é removido pelo fígado, sendo o restante disponibilizado para processos metabólicos extra-hepáticos (Parker & McMillan, 1976; Marty & Vernay, 1984). Os ácidos gordos voláteis absorvidos pelo trato intestinal, providenciam uma fonte de energia regular ao coelho. O lactato entra na circulação portal, proveniente do estômago e do intestino delgado, enquanto que os ácidos gordos voláteis entram na corrente sanguínea através do intestino grosso. A absorção no tubo digestivo é maior durante a fase de fezes duras, que é compensada por aumento do metabolismo hepático e remoção de propionato e butirato da circulação, deixando o acetato e o lactato disponíveis para o metabolismo dos tecidos extra-hepáticos (Harcourt-Brown, 2002). Ao contrário dos AGV, as concentrações de lactato são elevadas no duodeno, jejuno e íleo e baixas no ceco e cólon. Normalmente assume-se que o lactato passa para o exterior do lúmen intestinal por difusão, contudo, estudos *in vivo* e *in vitro* sugerem a existência de um sistema de co-transporte electroneural L-lactato-sódio no ílio do coelho (Vernay, 1987).

### 2.3 Homeostasia do lactato

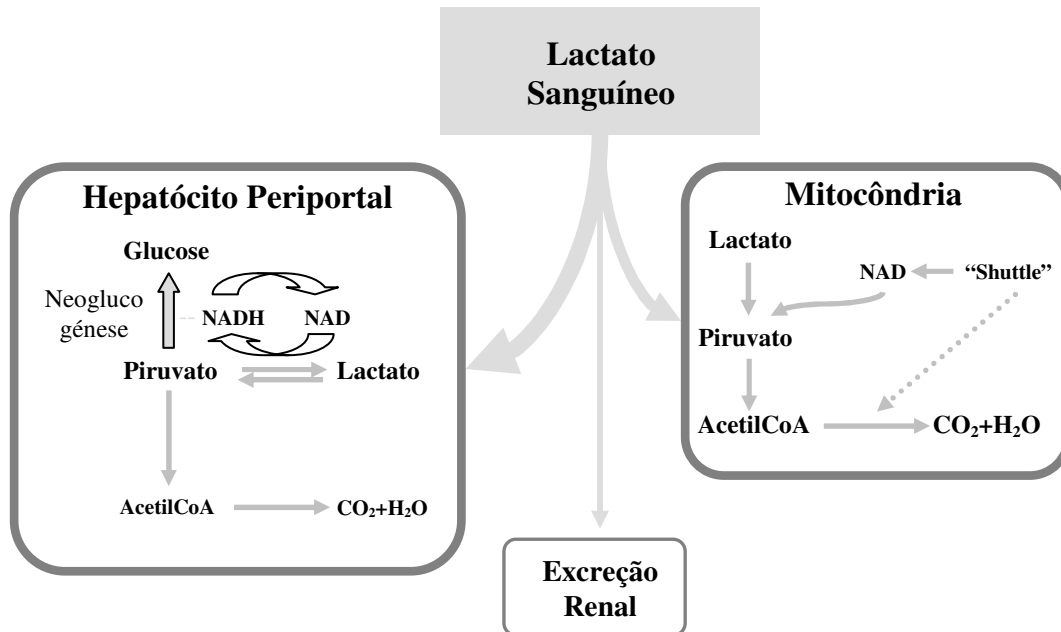
Em humanos, sob condições normais, o lactato tem uma produção diária de 15 a 30 mmol/Kg, que corresponde a uma concentração sanguínea entre 0,5 a 1 mmol/L, sendo este o resultado entre a sua produção e o seu consumo (James, Luchette, McCarter & Fischer, 1999; Valenza *et al.*, 2005; Allen & Holm, 2008). Em medicina veterinária, os estudos que se têm efectuado não permitiram detectar um valor de referência em termos de produção diária de lactato. Sabe-se, contudo, que em animais adultos saudáveis a concentração de lactato tende a ser inferior a 2,0 mmol/L, podendo oscilar até 2,5 mmol/L (Pang & Boysen, 2007; Hagman *et al.*, 2009; Tennent-Brown, Wilkins, Lindborg, Russell & Boston, 2010). A homeostasia do lactato surge graças ao equilíbrio entre a sua produção e o seu consumo (tabela 2) (Nel *et al.*, 2004; Allen & Holm, 2008).

**Tabela 2.** Principais produtores e consumidores de lactato em condições normais (Allen & Holm, 2008). Tabela adaptada.

<b>Produtores</b>	<b>Consumidores</b>
Pele	Fígado
Eritrócitos	Córtex Renal
Cérebro	Coração
Músculo esquelético	
Leucócitos	
Medula Renal	

Todos os tecidos que possuem lactato desidrogenase (LDH), teoricamente, são capazes de utilizar lactato (Hughes, Rozanski, Shofer, Laster & Drobatz, 1999), contudo, o fígado e os rins são responsáveis pelo consumo da maioria do lactato, metabolizando 60%-70% e 20%-30%, respectivamente, do lactato produzido (figura 5) (Luft, 2001; Allen & Holm, 2008). A homeostasia do lactato é garantida pelas várias vias metabólicas, em animais saudáveis, no entanto, em condições anómalas, tal homeostasia já não pode ser garantida uma vez que a perfusão, oxigenação e o próprio pH interferem no processamento do lactato, condicionando a sua metabolização (Chrusch *et al.*, 2000; Gladden, 2004; Pang & Boysen, 2007; Allen & Holm, 2008; Kovacic, 2009). Surgem como exemplos de condições anómalas: patologia hepática crónica, insuficiência hepática aguda (hepatite aguda, insuficiência hepática fulminante), insuficiência renal aguda e crónica, entre outras (Allen & Holm, 2008).

**Figura 5.** Diagrama esquemático dos principais responsáveis pelo consumo de lactato (Allen & Holm, 2008). Imagem adaptada



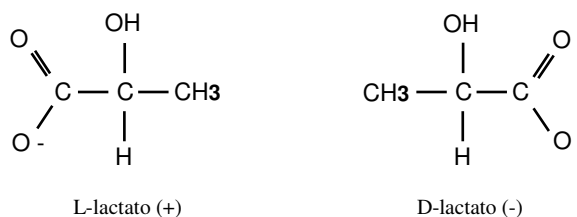
Desde que haja um adequado aporte de oxigénio aos tecidos, o consumo de lactato por parte do fígado e dos rins pode aumentar substancialmente em condições de hiperlactatémia para compensar o aumento de lactato. No entanto, o consumo de lactato por estes órgãos é um processo saturável e a hiperlactatémia ocorre rapidamente quando a produção excede o consumo. Além disso, o músculo esquelético pode actuar como um importante local de consumo de lactato (via oxidativa) durante a hiperlactatémia (Pang & Boysen, 2007).

O papel fundamental do fígado na homeostasia do lactato é bastante visível pelas alterações graves nos níveis de lactato resultantes da disfunção hepática. Em situações de choque, o papel do fígado como consumidor de lactato pode alterar-se, tornando-se num produtor de lactato (Hughes *et al.*, 1999; Pang & Boysen, 2007). Do mesmo modo, uma hipoperfusão renal grave (i.e., uma diminuição de 90% no fluxo sanguíneo renal) leva a uma suspensão do consumo renal de lactato passando a haver produção do mesmo (Pang & Boysen, 2007).

## 2.4 L-Lactato versus D-Lactato

O lactato existe sob a forma de dois estereoisómeros, mais propriamente dois enantiómeros (figura 6) (Ewaschuk *et al.*, 2005; Pang & Boysen, 2007; Kovacic, 2009).

**Figura 6.** L-lactato *versus* D-lactato (Ewaschuk *et al.*, 2005). Imagem adaptada.



O L-lactato é produzido por todas as células dos mamíferos e possui grande significado clínico (Pang & Boysen, 2007; Ewaschuk *et al.*, 2005; Allen & Holm, 2008). O D-lactato é normalmente produzido através do metabolismo da glucose (Pang & Boysen, 2007; Allen & Holm, 2008), dos hidratos de carbono, das gorduras e das proteínas (Ewaschuk *et al.*, 2005; Pang & Boysen, 2007), pelas bactérias gastrointestinais no rúmen, ceco e/ou cólon (Ewaschuk *et al.*, 2005), não possuindo grande significado clínico (Pang & Boysen, 2007). O D-lactato não é bem metabolizado pelos mamíferos sendo excretado maioritariamente pela urina, não tendo por isso grande significado clínico (Luft, 2001; Ewaschuk *et al.*, 2005).

A acidose láctica causada pelo enantiómero D-lactato é rara em humanos, mas ocorre ocasionalmente como consequência à síndrome do intestino curto (Luft, 2001; Ewaschuk *et al.*, 2005; Allen & Holm, 2008) ou em processos de enterotomia (Pang & Boysen, 2007). Ocorre por vezes em ruminantes após uma elevada ingestão de gramíneas (Stämpfli, 2005; Pang & Boysen, 2007), fermentação ruminal inadequada de leite e como sequela de diarreia em vitelos (Ewaschuk *et al.*, 2005). Recentemente foi identificada uma acidose láctica por D-lactato num gato com insuficiência pancreática exócrina, um achado particularmente interessante visto esta espécie ser um verdadeiro carnívoro (Ewaschuk *et al.*, 2005; Allen & Holm, 2008; Kovacic, 2009).

A maioria dos aparelhos utilizados no doseamento do lactato apenas mede o L-lactato. O doseamento do D-lactato exige a disponibilidade de aparelhos específicos e ensaios de confiança. Geralmente, este isómero não é mensurável e quando disponível, as técnicas são normalmente baseadas na enzima D-lactato desidrogenase, que apresenta numerosas fontes de erro e não é adequadamente sensível a alterações micromolares observadas em infecções ou sépsis (Ewaschuk *et al.*, 2005).

## 2.5 Valores normais de lactato sanguíneo

Em medicina veterinária existem poucos estudos acerca da produção diária de lactato. Os poucos estudos existentes apenas nos apontam níveis sanguíneos médios para algumas espécies (Pang & Boysen, 2007; Allen & Holm, 2008; Kovacic, 2009; Monnet, 2009). Alguns estudos têm permitido tomar conhecimento de diferenças existentes entre níveis de lactato em animais saudáveis, tendo em conta a sua faixa etária (McMichael, Lees, Hennessey, Sanders & Boggess, 2005). O valor de referência varia de acordo com a espécie em causa. Este valor deve ainda ter em conta a população alvo e o método analítico utilizado individualmente pelos hospitais e clínicas (Pang & Boysen, 2007).

Em cães adultos saudáveis e em repouso, considera-se como valor normal dos níveis de lactato sanguíneo, concentrações <2.0 mmol/L, independentemente do local de recolha da amostra. Contudo, o valor normal pode estender-se até 2.5 mmol/L (Pang & Boysen, 2007; Hagman *et al.*, 2009; Monnet, 2009; Sullivan, Campbell, Klopp & Rao, 2009). Concentrações de lactato entre 2,5 a 4,9 mmol/L são consideradas como elevações ligeiras. Concentrações de lactato de 5 a 7 mmol/L são consideradas elevações moderadas e normalmente associadas a acidose, e concentrações acima de 7 mmol/L são consideradas elevações graves (tabela3) (Karagiannis *et al.*, 2006; Savigny, 2006). As concentrações de lactato tendem a ser significativamente mais elevadas em recém-nascidos e crias (Corley, Donaldson & Furr, 2005; McMichael *et al.*, 2005; Karagiannis *et al.*, 2006).

Em gatos saudáveis, o valor normal de lactato sanguíneo corresponde a valores <1,5 mmol/L, podendo atingir 2,0 mmol/L, tendo em consideração a grande susceptibilidade da espécie ao stress (Christopher & O'Neill, 2000; Kovacic, 2009).

**Tabela 3.** Interpretação das concentrações de lactato sanguíneo em cães adultos.  
(Karagiannis, 2006). Tabela adaptada.

Concentração de lactato	Significado
< 2,5 mmol/L	Normal
2,5 - 4,9 mmol/L	Ligeiramente elevado
5 - 7 mmol/L	Moderadamente elevado
> 7 mmol/L	Gravemente elevado

## 2.6 Técnica de recolha de amostras

Com a elevada utilização do lactato como uma ferramenta de monitorização em pacientes críticos, foram desenvolvidas técnicas que permitiram aumentar a velocidade, precisão e facilidade na obtenção dos resultados (Jordan, Statland & Halsted, 1983; Toffaletti, Hammes, Gray, Lineberry & Abrams, 1992; Wiese *et al.*, 1997; Bakker & Lima, 2004; Pang & Boysen, 2007).

Existem algumas variáveis que devem ser tomadas em consideração, uma vez que, de certa forma, influenciam a amostra e consequentemente a concentração do lactato sanguíneo. A amostra de sangue pode ser obtida por punção venosa (veia safena, veia cefálica e veia jugular) ou por punção arterial (artéria radial) (Hughes *et al.*, 1999; Ward, 2006), pois apesar de existirem diferenças entre amostras obtidas de diferentes locais, esta variação é muito pequena e clinicamente insignificante (Jackson *et al.*, 1997; Pang & Boysen, 2007), contudo, teoricamente, sangue arterial reflecte com maior exactidão as concentrações sistémicas de lactato, visto a menor influência por parte de diferenças regionais na cinética do lactato (Jackson *et al.*, 1997; Hughes *et al.*, 1999). É também possível que haja uma pequena elevação nos níveis de lactato, embora com pouco valor clínico, aquando de oclusão prolongada da veia (garrote). Igualmente, o stress causado, quer pela manipulação ou contenção dos animais, quer pelo simples facto dos animais se encontrarem num ambiente diferente, pode resultar num aumento significativo dos níveis de lactato plasmático, devido à actividade hormonal (catecolaminas), sendo estas alterações mais notórias em felinos (Rand, Kinnaird, Baglioni, Blackshaw & Priest, 2002; Acierno, Johnson, Eddleman & Mitchell, 2008), sendo o coelho um animal igualmente reactivo ao stress, será de esperar, que durante o estudo, os animais mais manipulados apresentem níveis elevados de lactato (Ward, 2006). Tudo isto deve ser reduzido ao mínimo e tomado em consideração no momento de interpretação dos resultados (Pang & Boysen, 2007). Outras alterações potenciais devem ser tidas em consideração: os eritrócitos não possuem mitocôndrias, logo, eles próprios são produtores de lactato. O lactato produzido por estas células continua após a colheita da amostra (Nel *et al.*, 2004; Valenza *et al.*, 2005). Alguns estudos referem que as concentrações de lactato podem aumentar até 20% por hora, à temperatura ambiente (Didwania, Miller, Kessel, Jackson & Chernow, 1997; Christopher & O'Neill, 2000). Tal facto pode ser clinicamente significativo, sendo por isso essencial que a amostra seja analisada rapidamente (<5 minutos) após a colheita (Pang & Boysen, 2007). A temperatura ambiente surge também como outra variável que pode influenciar os valores de lactato na amostra, tendo sido

anteriormente alvo de diferentes estudos (Evans & Golland, 1996; Valenza *et al.*, 2005). Nestes estudos foi abordada a temática sobre a instabilidade do lactato na amostra, após a colheita e a respectiva influência da temperatura, sendo referido que a glicólise (que persiste) pode conduzir a um aumento de lactato em 0,4 mmol/L se a amostra for conservada por um período de tempo superior a 30 minutos à temperatura ambiente (30°C), e a um aumento de 0,1 mmol/L, após o mesmo período de tempo a uma temperatura de 4°C (gelo) (Hughes *et al.*, 1999). Como alternativa, podemos recorrer à separação da massa eritrocitária da amostra logo após a sua colheita, evitando assim a glicólise persistente (Wiese *et al.*, 1997; Tennent-Brown, Wilkins, Lindborg, Russell & Boston, 2007); Outra variável a ter em conta é a própria administração de fluidoterapia com lactato (solução de lactato de Ringer - LR). A solução de lactato de Ringer contém 28 mEq de lactato/L, possuindo tanto o isómero D-lactato como L-lactato, em diferentes concentrações, dependendo do fabricante (Didwania *et al.*, 1997; Pang & Boysen, 2007), apesar do isómero D-lactato estar presente em maior concentração na maior parte das marcas (Karagiannis *et al.*, 2006). Estudos feitos em humanos e em cães têm revelado que administrações de LR de 15 a 20 ml/kg/h não conduzem a alterações significativas nas concentrações de L-lactato plasmático, nem em indivíduos normais, nem em situações de choque hemorrágico (Didwania *et al.*, 1997). Contudo, não foram ainda efectuados estudos em animais que avaliassem o efeito de administrações mais intensas (60 a 90 ml/kg/h) de LR nas concentrações plasmáticas de lactato (Pang & Boysen, 2007). Os valores de lactato são ainda influenciados pelo tipo de anticoagulante utilizado, pois o citrato de sódio promove falsas reduções nos valores de lactato em comparação com a heparina sódica, a heparina lítio ou o EDTA, sendo por isso recomendado o uso de heparina quando se pretende usar a amostra para o doseamento dos níveis de lactato (Wiese *et al.*, 1997)

## **2.7 Hiperlactatémia e acidose láctica**

A acumulação de lactato sérico e conseqüente hiperlactatémia demonstra uma falha no balanço entre a produção e o consumo do mesmo, e pode dever-se quer a um excesso de produção, quer a uma utilização insuficiente ou à combinação entre ambos (Luft, 2001; Karagiannis, 2006; Kovacic, 2009; Nichol *et al.*, 2010). O aumento das concentrações de lactato ocorre de uma forma muito rápida, sendo na maioria das vezes proporcional às falhas no metabolismo aeróbio (Mizock & Falk, 1992). Hiperlactatémia e acidose láctica não são sinónimos (Levy *et al.*, 2005). Em humanos, a hiperlactatémia é definida como o aumento das concentrações de lactato plasmáticas acima dos valores normais (>1,0 mmol/L) em presença

de um valor de pH normal. A acidose láctica é definida como uma elevação nas concentrações de lactato plasmático, normalmente igual ou superior a 5,0 mmol/L, resultando numa diminuição do pH arterial abaixo de 7,35 (Mizock & Falk, 1992; Stacpoole *et al.*, 1994; Pang & Boysen, 2007; Allen & Holm, 2008).

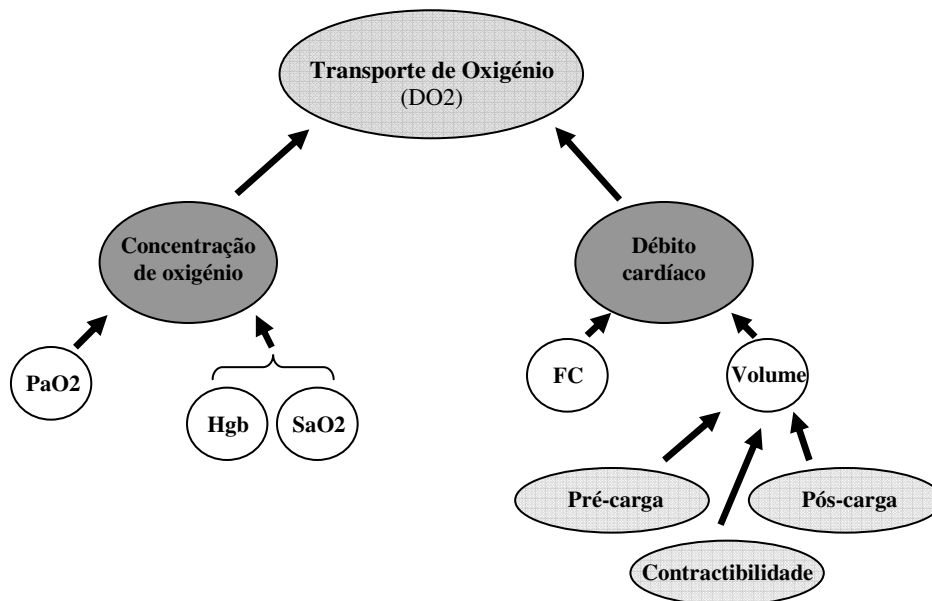
A acidose láctica surge como consequência de uma hiperlactatémia elevada e persistente (Kruse, 2002; Mathews, 2006) e segundo os trabalhos iniciais de Huckabee no reconhecimento da presença de acidose láctica, com ou sem adequado fornecimento de oxigénio. Cohen e Woods desenvolveram uma classificação da acidose láctica em dois grandes grupos, tipo A e tipo B (Huckabee, 1961a; Huckabee, 1961b; Pang & Boysen, 2007). A acidose láctica do tipo A (tabela 4) é a mais comum e consiste no aumento da produção de lactato associado a hipóxia tecidual com normal funcionamento mitocondrial (Luft, 2001; Pang & Boysen, 2007; Allen & Holm, 2008; Kovacic, 2009).

**Tabela 4.** Causas mais comuns de acidose láctica do tipo A  
(Mizock & Folk, 1992; Mathews, 2006; Allen & Holm, 2008). Tabela adaptada.

<b>Tipo A (Hipóxia tecidual)</b>
Exercício
Tremores
Convulsões
Hipoxémia grave ( $pO_2 < 30 \text{ mmHg}$ )
Anemia grave ( $Hto \leq 10-15\%$ )
Choque: cardiogénico, hipovolémico, séptico
Hipoperfusão regional e/ou sistémica
Toxicidade por monóxido de carbono

Qualquer processo que afecte negativamente o transporte de oxigénio ( $DO_2$ ) pode causar acidose láctica do tipo A. O  $DO_2$  aos tecidos depende do débito cardíaco e da concentração de oxigénio em circulação (Figura 7) (Karagiannis, 2006). O débito cardíaco é a relação entre a frequência cardíaca (FC) e o volume sistólico, o último dos quais é a função entre a pré-carga, a pós-carga e a contractibilidade cardíaca. O oxigénio em circulação encontra-se dissolvido ou sob a forma de oxihemoglobina, sendo que o oxigénio transportado pela hemoglobina constitui a maior parte do oxigénio total (Tuchschmidt, Oblitas & Fried, 1991).

**Figura 7.** Diagrama esquemático dos factores que influenciam o transporte de oxigénio. (Karagiannis, 2006). Imagem adaptada.



Contrariamente ao tipo A, a acidose láctica do tipo B (tabela 5) ocorre na presença de um fornecimento adequado de oxigénio e pressão arterial sistémica normal, devendo-se a disfunções mitocondriais, alterações metabólicas, fármacos/toxinas, entre outras causas (Luft, 2001; Pang & Boysen, 2007; Allen & Holm, 2008; Kovacic, 2009).

**Tabela 5.** Causas mais comuns de acidose láctica do tipo B (Mizock & Folk, 1992; Karagiannis, 2006; Mathews, 2006; Allen & Holm, 2008). Tabela adaptada.

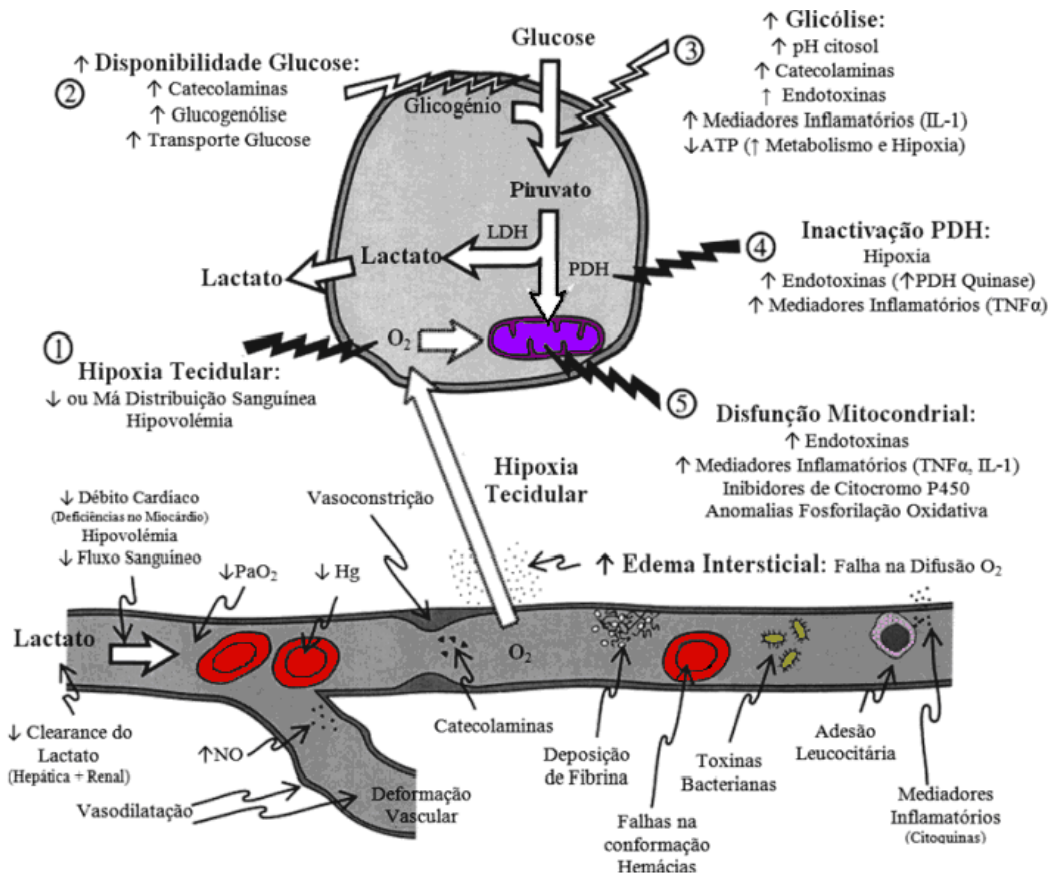
<b>Tipo B (Inadequada Utilização de Oxigénio)</b>		
B1	B2	B3
(Afecções concomitantes)	(Fármacos/Tóxicos)	(Defeitos Metabólicos Congénitos)
Insuficiência hepática	Etilenoglicol	Alterações mitocondriais hereditárias
Diabetes mellitus	Propilenoglicol	Miopatias mitocondriais
Sépsis	Epinefrina	Alterações mitocondriais adquiridas
Insuficiência renal	Monóxido de carbono	Outros: hiperventilação, hipoglicémia
Neoplasia	Salicilatos	
SIRS	Halotano	
Deficiência em tiamina	Morfina	

Apesar da acidose láctica do tipo A ser a mais frequentemente encontrada na prática clínica, pacientes críticos apresentam com grande regularidade características tanto do tipo A como do tipo B (Kovacic, 2009). Nos casos de sépsis podem encontrar-se características envolvendo os dois tipos, A e B, incluindo hipoperfusão tecidual, reduzida “clearance” do lactato e entrada do piruvato no Ciclo de Krebs e alterações das funções mitocondriais (Pang & Boysen, 2007). A sépsis é definida como uma resposta inflamatória sistêmica à presença de infecção (bacteriana, viral, protozoária ou fúngica) podendo estar ou não associada a uma diminuição no  $DO_2$ , dependendo da gravidade e da natureza da infecção. Contudo, a acidose láctica é um achado frequente em pacientes críticos humanos com sépsis e uma poderosa ferramenta de probabilidade de mortalidade (Gore, Jahoor, Hibbert & DeMaria, 1996; Kruse, 2002; Pang & Boysen, 2007). Existem fortes evidências de que grandes quantidades de lactato possam ser produzidas tanto em condições anaeróbias como em condições aeróbias. Tem sido sugerido que a hiperlactatemia resultante da sépsis, deriva de uma inadequada perfusão tecidual, levando ao aumento dos níveis de metabolismo anaeróbio e diminuindo a “clearance” do lactato (Pang & Boysen, 2007; Tappy & Chioléro, 2007). A produção aeróbia de lactato em situações de sépsis deve-se a um fluxo glicolítico acelerado, à inibição da enzima piruvato desidrogenase e a alterações no metabolismo intermediário (Levrant *et al.*, 2003; Pang & Boysen, 2007).

A hiperlactatemia pode existir sem um concomitante estado de acidose. Os íons de hidrogénio necessários para a formação de ácido láctico não são produzidos como um resultado directo da produção de lactato. Em vez disso, os íons de hidrogénio são gerados através da hidrólise do ATP a ADP e fosfato inorgânico no citosol. Assim, a produção de íons hidrogénio pode ser ajustada recorrendo a um sistema tampão de bicarbonato ou não-bicarbonato, ou pelo consumo de  $H^+$  na fosforilação oxidativa, desde que o fornecimento de oxigénio seja adequado. A formação de ácido láctico é potenciada quando estes processos são prejudicados, resultando em acidose láctica. Logo, a hiperlactatemia pode estar presente sem a ocorrência de acidose quando os sistemas tampão são capazes de equilibrar a queda de pH e a perfusão dos órgãos é adequada (Pang & Boysen, 2007).

Em suma, a hiperlactatemia e a acidose láctica surgem quando a produção de lactato excede o seu consumo e/ou por algum motivo ocorre um desequilíbrio na sua homeostasia (figura 8) (Berg *et al.*, 2004a), sendo que a hiperlactatemia pode ocorrer sem acidose láctica, não sendo correcto afirmar o contrário, uma vez que a acidose láctica é sempre acompanhada por hiperlactatemia (Acierno *et al.*, 2008; Pang & Boysen, 2007).

**Figura 8.** Causas de alterações no metabolismo do lactato e consequente hiperlactatemia (Berg *et al.*, 2004a). Imagem adaptada.



## 2.8 Hipoperfusão / Hipóxia “oculta”

Vários autores referem-se à situação de hiperlactatemia em situações de estabilidade hemodinâmica, como um estado de hipoperfusão ou hipóxia oculta (Boutillier, 2001; Meregalli, Oliveira & Friedman, 2004; Bolton, 2007). A hipoperfusão aguda é caracterizada por um desequilíbrio entre o consumo de oxigênio ( $VO_2$ ) e o transporte de oxigênio ( $DO_2$ ) aos tecidos. Tem vindo a ser proposto que as lesões orgânicas em pacientes críticos é devida a um transporte de oxigênio inadequado que não consegue satisfazer as necessidades metabólicas, sendo a hipoperfusão amplamente responsável pelo risco subsequente de falência múltipla de órgãos (Meregalli *et al.*, 2004).

O débito urinário e o estado de consciência são parâmetros facilmente mensuráveis e que podem ser utilizados como indicadores de perfusão renal e cerebral, respectivamente. Contudo, é difícil mensurar a perfusão de outros órgãos na prática clínica. Pressão sanguínea,

débito cardíaco e temperatura, são indicadores do fluxo global, mas órgãos como intestinos, fígado e músculo, sofrem frequentemente de hipóxia oculta (Pittard, 1999).

Actualmente, em medicina humana, estudos comprovam que pacientes que respondem em termos clínicos a medidas terapêuticas, acompanhadas por diminuição dos níveis de lactato, apresentam melhor prognóstico (Pittard, 1999; Jansen, Bommel & Bakker, 2009). É fundamental ter em consideração os diferentes estados clínicos e as suas diferentes apresentações, uma vez que, mesmo na ausência de sinais clínicos evidentes de hipoperfusão como: taquicardia, TRC > 2 segundos, mucosas pálidas, pulso fraco, PAM  $\leq$  60 mmHg, PaO<sub>2</sub> = 30-40 mmHg, hematócrito (Htc) < 15%, oligúria com produção inferior a 20 ml/h, extremidades frias, entre outros, pode-se estar perante uma situação de risco emergente e/ou eminente. As correcções destes mesmos factores tendem a melhorar o prognóstico (Quesenberry & Carpenter, 2004; Bolton, 2007).

Claridge *et al.* (2000), citado por Bakker & Lima (2004), evidenciaram que a hipoperfusão oculta está associada a um aumento da taxa de infecções e mortalidade, bem como a falência múltipla de órgãos (Meregalli *et al.*, 2004).

## **2.9 Importância da monitorização na UCI**

Nos últimos anos, a clínica de pequenos animais tem apresentado uma evolução significativa no campo da monitorização e cuidados intensivos, permitindo aos clínicos tratar com maior sucesso, animais em estados mais críticos. As maiores razões para estes avanços são o desenvolvimento de novos fármacos e técnicas anestésicas, além de uma indiscutível melhoria na monitorização dos animais. O que distingue uma hospitalização normal de uma hospitalização em cuidados intensivos (UCI) é um bom acompanhamento por parte de auxiliares, enfermeiros e médicos veterinários com profundos conhecimentos em cuidados intensivos com monitorização constante, de forma a permitir uma rápida resposta a alterações das necessidades dos pacientes (Paixão, 2004).

Actualmente, o clínico dispõe de um grande leque de equipamentos de monitorização para o acompanhamento do paciente durante o seu internamento. A monitorização pode ser feita com o auxílio de monitores extremamente sofisticados e tecnológicos, no entanto, é o exame físico regular e minucioso e a sua interpretação, através da aplicação de conhecimentos por parte do médico veterinário, que vai dar a maior parte das informações importantes (Paixão, 2004; Rabelo & Arnold, 2007).

O animal deve ser sempre avaliado como um todo de modo a que nenhum parâmetro seja esquecido, sendo para isso necessário ter em mente os valores de referência segundo cada espécie (tabela 6). São exemplos de situações de alarme: taquicardia, taquipneia, TRC > 2 segundos, mucosas pálidas, pulso fraco, extremidades frias, PAM  $\leq$  60 mmHg, PaO<sub>2</sub> = 30-40 mmHg, hematócrito (Htc) < 25%, SaO<sub>2</sub> < 90%, entre outras (Harcourt-Brown, 2002; Quesenberry & Carpenter, 2004; Mellema, 2001).

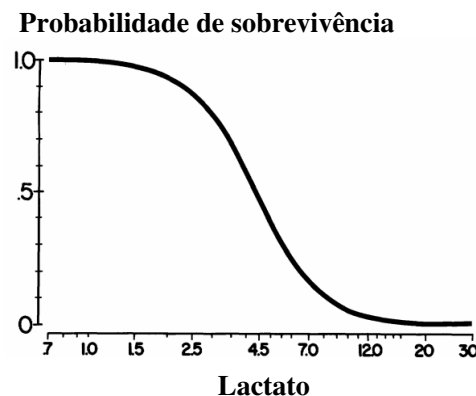
**Tabela 6.** Valores de referência de diferentes parâmetros em coelhos (Harcourt-Brown, 2002; Quesenberry & Carpenter, 2004). Tabela adaptada.

Parâmetros	Coelho
Temperatura	38,5 – 40°C
Frequência Cardíaca	130 – 325 bpm
Frequência Respiratória	32 – 60 rpm
pH sanguíneo	7,35 – 7,45
PaO <sub>2</sub>	80 – 100 mmHg
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	21 – 27 mEq/L
Hematócrito (Htc)	33 – 50%
TRC	1 – 2 segundos
SaO <sub>2</sub>	$\geq$ 95%
PAM	> 65 mmHg

## 2.10 Valor prognóstico do lactato

Os níveis sanguíneos de lactato têm sido utilizados como indicadores em pacientes críticos desde 1964. Em 1970, Weil & Afifi (1970) mostraram claramente, em humanos, a relação entre os níveis de lactato e o prognóstico (figura 9), e numerosos estudos desde então têm vindo a comprovar tal relação (Cheifetz *et al.*, 1997; Cerovic, Golubovic, Spec-Marn, Kremzar & Vidmar, 2003; Meregalli *et al.*, 2004).

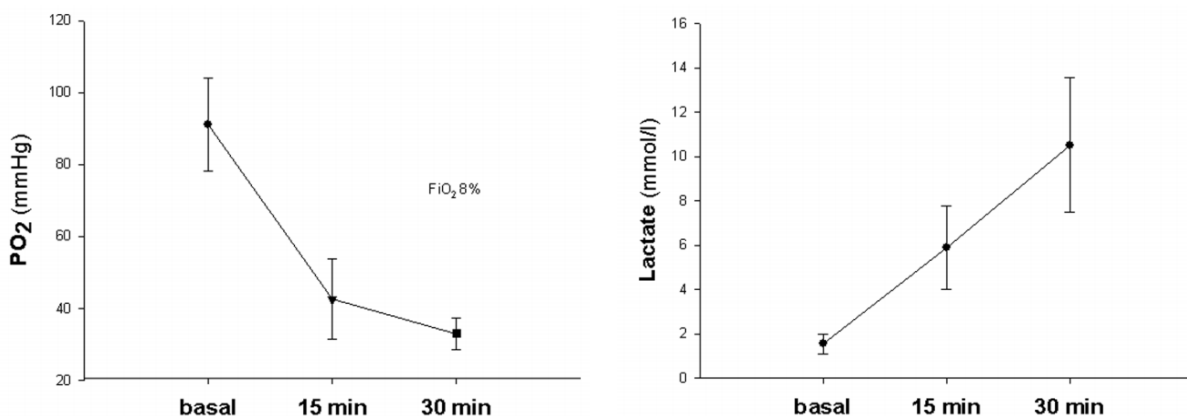
**Figura 9.** Curva de probabilidade, indicando a probabilidade de sobrevivência tendo em conta a concentração de lactato sanguíneo (Weil & Afifi, 1970). Imagem adaptada.



Uma única mensuração dos níveis de lactato pode ser associada com a sobrevivência e prognóstico (Cheifetz *et al.*, 1997). Em medicina humana, pacientes com acidose láctica têm evidenciado uma maior taxa de mortalidade e uma maior probabilidade de desenvolverem falência múltipla de órgãos (Bakker, Gris, Coffernils, Kahn & Vincent, 1996). Concentrações de lactato sanguíneo >5,0 mmol/L num paciente com sépsis no momento de admissão na unidade de cuidados intensivos está associado com uma taxa de mortalidade de 53% aos 3 dias e de 83% aos 30 dias (Allen & Holm, 2008). Actualmente, ainda não está claro se estas ou conclusões similares se podem aplicar aos animais (Pang & Boysen, 2007). Em medicina veterinária os primeiros estudos de lactato envolviam equinos com cólicas e poldros em estado crítico (Moore, Owen & Lumsden, 1976; Gossett, Cleghorn & Martin, 1987; Corley *et al.*, 2005; Henderson, Franklin, Wilkins & Boston, 2008; Wotman, Wilkins, Palmer & Boston, 2009). Em pequenos animais, o estudo do lactato tem-se limitado quase exclusivamente aos cães (Hughes *et al.*, 1999; Papp *et al.*, 1999; Nel, Lobetti, Keller & Thompson, 2004; McMichael *et al.*, 2005; Hagman *et al.*, 2009). Em 1998, Lagutchik, Ogilvie, Hackett & Wingfield, publicaram um estudo no qual mediram os níveis de lactato em 109 cães doentes e em 20 cães clinicamente normais. Os cães doentes foram divididos em dois grupos, sobreviventes e não sobreviventes, e sub-agrupados segundo a patologia ou sistema afectado. Dos cães doentes, 95% apresentavam concentrações de lactato superiores ao valor normal para a espécie e superior ao valor médio de lactato dos cães clinicamente normais. O valor médio de lactato dos cães não sobreviventes (incluindo animais que foram eutanasiados) foi superior aos valores quer dos animais clinicamente normais, quer dos sobreviventes (Lagutchik *et al.*, 1998). Um outro estudo avaliou os níveis de lactato em cães presentes na unidade de cuidados intensivos (UCI) com variadas afecções concomitantes, evidenciando que os cães com os valores de lactato mais elevados tinham um pior prognóstico (Lagutchik *et al.*, 1998). Num estudo em que se investigaram 102 cães com torção e dilatação gástrica (GDV), aqueles que apresentaram valores plasmáticos de lactato > 6,0 mmol/L tiveram uma taxa de sobrevivência de 58%, enquanto que aqueles com valores < 6,0 mmol/L obtiveram uma taxa de sobrevivência de 99%. Este estudo demonstrou ainda que, uma mensuração pré-operatória do lactato plasmático pode ser útil na determinação do risco de necrose gástrica em cães com GDV (Papp *et al.*, 1999). Contudo, outros estudos não demonstraram diferenças significativas nos valores de lactato entre sobreviventes e não sobreviventes quando baseados apenas no valor inicial, referindo que a evolução dos níveis de lactato (horas ou dias depois do ingresso) em resposta ao tratamento proporciona uma melhor previsão de resultados (Bakker *et al.*, 1996; Cerovic *et al.*, 2003; Meregalli *et al.*, 2004;

Valenza *et al.*, 2005). Estudos em humanos têm vindo a demonstrar que medições seriadas de lactato e alterações nos níveis de lactato em resposta ao tratamento são mais confiáveis na determinação da evolução do paciente do que uma única mensuração de lactato no acto de admissão (Pang & Boysen, 2007). Abramson e outros autores, citado por Bakker & Lima (2004), mostraram que a normalização dos níveis de lactato em 24 horas, o aumento de oxigénio entregue aos tecidos e o aumento do débito cardíaco, está associado a 100% de sobrevivência, ao passo que em pacientes que requerem 24-48 horas para a normalização dos níveis de lactato, a mortalidade é de 25%, evidenciando ainda que pacientes com níveis elevados de lactato após 48 horas tendem a não sobreviver. Estes resultados são apoiados num estudo em cães com babesiose grave ou complicada. Este estudo demonstrou que apesar da presença de hiperlactatémia antes da terapia ser sugestivo de mau prognóstico, as mensurações seriadas de lactato e a resposta ao tratamento têm maior impacto na previsão da sobrevivência. Cães com valores de lactato > 4,4 mmol/L após 24 horas, apesar dos esforços terapêuticos, apresentaram um mau prognóstico (Nel *et al.*, 2004). Um outro estudo em animais de laboratório, concluiu que em diferentes tempos (0 minutos, 15 minutos e 30 minutos) e após período de reduzida inspiração de oxigénio ( $FiO_2$ ), os valores de lactato aumentam de forma exponencial em todos os animais (figura 10) (Valenza *et al.*, 2005).

**Figura 10.** Evolução dos níveis de oxigénio e lactato sanguíneo em animais de laboratório, após exposição forçada a reduzida oxigenação,  $FiO_2=8\%$ . | Traçado de  $PO_2$ , é possível verificar a diminuição da  $PO_2$  à medida que a  $FiO_2$  diminui. | Traçado de lactato, acompanhando a diminuição de oxigenação, pode observar-se um aumento nos níveis de lactato.  
(Valenza *et al.*, 2005). Imagem adaptada.



Resumindo, valores iniciais e/ou seriados de lactato sanguíneo têm auxiliado no prognóstico de casos admitidos em emergência geral (Nguyen *et al.*, 2004; Shapiro *et al.*, 2005), bem como em casos de sépsis (Duke, Butt & South, 1997; Shapiro *et al.*, 2005; Trzeciak *et al.*,

2007), trauma, choque (Bolton, 2007) e doentes das unidades de cuidados intensivos (Nichol *et al.*, 2010). Além disso, parâmetros hemodinâmicos não devem ser ignorados. A utilização dos níveis de lactato em conjunto com o exame físico, a avaliação da pressão arterial sistêmica e/ou a avaliação do estado ácido-base surgem como factores que aumentam a precisão na previsão dos resultados, quando comparados com a utilização dos níveis de lactato de forma isolada (Moore *et al.*, 1976; Bakker *et al.*, 1996; Meregalli *et al.*, 2004).

A maioria destes estudos têm sido realizados com amostras de sangue venoso, permitindo assim medições futuras com maior confiança, de modo a identificar hipoperfusões subjacentes e avaliar respostas a tratamentos de forma mais precisa (Hughes *et al.*, 1999; Papp *et al.*, 1999; Nel *et al.*, 2004; McMichael *et al.*, 2005; Hagman *et al.*, 2009).

### **3. OBJECTIVOS DO ESTUDO**

O presente estudo tem como principal objectivo determinar os valores de referência de L-lactato em plasma de coelhos saudáveis, bem como determinar a concentração de L-lactato plasmático em coelhos presentes na unidade de hospitalização e cuidados intensivos. São igualmente objectivos deste trabalho, avaliar a relação entre os níveis de L-lactato plasmático e o prognóstico de sobrevivência dos animais doentes; assim como estudar quais as doenças ou sistemas afectados que causam maiores alterações nos níveis de L-lactato plasmático em coelhos.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Animais envolvidos no estudo**

O presente estudo foi realizado durante um período de 5 meses (de Janeiro a Maio de 2010), utilizando 321 animais (tabela 7), da espécie *Oryctolagus cuniculus*. Os animais seleccionados para o estudo estiveram presentes em consulta ou na unidade de hospitalização e cuidados intensivos do Centro Veterinário Los Sauces – Madrid e foram avaliados por anamnese, exame físico, hematócrito e sólidos totais, níveis de lactato, entre outras provas necessárias segundo cada caso. Não houve nenhuma causa de exclusão por sexo ou idade. Os principais motivos para exclusão dos animais foram: ausência de diagnóstico, diagnóstico não

conclusivo ou não perfeitamente justificado; ausência ou falha na mensuração dos valores de lactato por motivos técnicos ou outros.

**Tabela 7.** Amostra de animais envolvidos no estudo.

N	Machos	Fêmeas	Idade (meses)	
			Mínimo	Máximo
321	171	150	1	144

## 4.2 Grupos presentes no estudo

### 4.2.1. Formação e codificação dos grupos

De modo a cumprir os objectivos propostos, foram formados diferentes grupos de avaliação (Tabela 8).

**Tabela 8.** Grupos de animais em estudo e sua codificação

Grupos de animais	Codificação
Grupo de animais não doentes	CND
Grupo de animais doentes	CD
Grupo de animais sobreviventes	CS
Grupo de animais não sobreviventes	CNS
Grupo de animais não sobreviventes eutanasiados	CNSE
Grupo de animais não sobreviventes morte natural	CNSM
Grupo de animais com patologia dentária	C1
Grupo de animais com hipomotilidade/atonia gastrointestinal	C2
Grupo de animais com insuficiência hepática	C3
Grupo de animais com insuficiência renal	C4
Grupo de animais com dificuldade/insuficiência respiratória	C5
Grupo de animais com piómetra/distócia	C6
Grupo de animais com outras afecções reprodutivas (♀)	C7
Grupo de animais com patologia cutânea/feridas	C8
Grupo de animais com Encefalitozoonose	C9
Grupo de animais com patologia músculo-esqueléticas	C10
Grupo de animais com anemia	C11
Grupo de animais com outras afecções	C12

Inicialmente, os animais foram organizados em dois grupos, tendo em conta a presença ou ausência de doença: o grupo de animais doentes e o grupo de animais não doentes. Para o estudo da sobrevivência, formaram-se mais dois grupos: o grupo de animais sobreviventes e o grupo de animais não sobreviventes. Consoante o tipo de patologia foram formados diferentes grupos de animais, sendo agrupados num total de 13 grupos (Tabela 9). Foi igualmente realizada uma avaliação da sobrevivência, sendo os animais sub-agrupados consoante a sua evolução.

#### 4.2.2. Critérios de inclusão

No que diz respeito aos critérios para inclusão de cada animal no respectivo grupo, estes foram diversos. O grupo de animais não doentes (CND) foi utilizado como “grupo de controlo” para o presente estudo, servindo de base para determinar os valores de referência. Este grupo foi constituído por todos os animais saudáveis, não doentes e sem problemas declarados que se apresentavam com exame físico normal ou sem alterações relevantes, nem sintomatologia. O hemograma e as bioquímicas apresentavam parâmetros normais para a espécie, sendo o único motivo de ingresso na clínica para estes animais, vacinação, revisão anual, residência e/ou a execução de cirurgias de conveniência, nomeadamente ovariohisterectomias (OVH) em fêmeas e/ou orquiectomias em machos. O grupo de sobreviventes e não sobreviventes foi criado tendo em conta a sua evolução e respectivo resultado final, se o animal teve alta, se foi eutanasiado ou se teve morte natural (no prazo de 15 dias). Surgiram, deste modo, o grupo de animais sobreviventes (CS) e o grupo de animais não sobreviventes (CNS), o qual foi subdividido em grupo de animais eutanasiados (CNSE) e animais com morte natural (CNSM). Relativamente ao grupo de animais doentes (CD), este foi subdividido em 12 sub-grupos de acordo com os exames complementares necessários à obtenção de um diagnóstico definitivo (Tabela 9).

**Tabela 9.** Grupos de animais em estudo e tipo de patologia envolvida na categorização efectuada

<b>Grupo de animais</b>	<b>Afecção(s) ou lesão(s) pela qual o animal foi categorizado</b>
Animais controlo (Não doentes)	Todos os animais saudáveis, não doentes e sem problemas declarados, sendo o motivo de ingresso, vacinação, revisão anual, residência, e/ou a execução de cirurgias de conveniência
Animais com patologia Dentária	Má oclusão dentária, sobrecrescimento dos dentes incisivos e/ou molares, abscessos dentários, fractura de dentes.

**Tabela 9. (continuação)** Grupos de animais em estudo e tipo de patologia envolvida na categorização efectuada

Animais com hipomotilidade/atonía Gastrointestinal	Hipomotilidade/atonía gastrointestinal
Animais com insuficiência hepática	Insuficiência hepática
Animais com insuficiência renal	Insuficiência renal
Animais com dificuldade/ insuficiência respiratória	Pneumonia, broncopneumonia, edema pulmonar, pneumo-torax
Animais com piómetra/ Distócia	Piómetra, distócia
Animais com outras afecções reprodutivas (♀)	Quistos ováricos, endometrite quística, neoplasia uterina e/ou ovárica
Animais com patologia cutâneas/feridas	Alopécia, reacção a injecções, dermatite, pododermatite ulcerativa, Nódulos cutâneos, lacerações cutânea (feridas por mordedura, etc.)
Animais com Encefalitozoonose	Encefalitozoonose (título de anticorpos > 1/80)
Animais com patologis músculo-esquelética	Fracturas, osteomielite, osteólise, displasia do cotovelo
Animais com anemia	Anemia (Hto < 33%)
Outras afecções	Cálculos renais e/ou urinários, cistite, cardiomiopatia dilatada, conjuntivite, abcessos oculares, cataratas, dacriocistite, uveíte, ulcera corneal, coccidiose, esteatose hepática, etc.

### 4.3 Colheita de amostras e respectivos cuidados

Foi colhida uma amostra de sangue a todos os animais, por punção venosa, nomeadamente na veia safena, jugular e/ou cefálica. A colheita foi efectuada de forma asséptica na altura da admissão do animal (Estudo A e B) e periodicamente durante o seu período de internamento na unidade de hospitalização e cuidados intensivos (Estudo C). Todas as colheitas foram realizadas independentemente da presença ou não de jejum alimentar. No Estudo C, o intervalo entre a primeira medição e as seguintes foi de 12 horas, 24 horas e 48 horas respectivamente (somando um total de 4 amostras). A colheita foi feita por aspiração, num volume entre 0,2ml a 1ml, para uma seringa, com agulha heparinizada e desta para um tubo “ependorf”, sendo processada imediatamente (< 5 minutos). Foram garantidos um mínimo de compressão venosa (garrote) e de stress no acto da colheita, de modo a evitar eventuais alterações dos níveis de lactato.

#### 4.4 Método Analítico

A mensuração do L-lactato plasmático foi realizada recorrendo ao *Analisador Bioquímico Multicanal Screenpoint*® (Hospitex Diagnostics, Firenza, Itália) (Figura 11). O aparelho mede a intensidade da cor produzida na solução de reacção (reacção da peroxidase), através de espectrofotometria de absorção (550 nm) e calcula a concentração de L-lactato na amostra através de um algoritmo específico de lote. O resultado é apresentado sob a forma de mg/dl, sendo posteriormente convertido a mmol/L (UI). O valor mínimo detectado pelo aparelho (sensibilidade) é de 1,5 mg/dl (0,17 mmol/L). Acima de 120 mg/dl (13,3 mmol/L) o valor é obtido através de uma equação de regressão linear efectuada automaticamente pelo aparelho, contudo, nestes casos, é aconselhável diluir a amostra 1:2 com solução salina, repetir a medição e multiplicar o resultado por 2. O aparelho utilizado é bastante preciso, apresentando um coeficiente de variação (CV) de 1,06 – 2,04%.

**Figura 11.** Analisador Bioquímico Multicanal Screenpoint (Hospitex Diagnostics, 2009). Imagem adaptada.



##### 4.4.1 Valores de referência

Até à data de início do presente trabalho não foi publicado nenhum estudo relativo aos valores de referência de lactato sérico em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), sendo este um dos pontos de estudo neste trabalho.

#### 4.5 Análise estatística

Para o processamento e análise dos dados foram utilizados os programas *Microsoft*® *Excel* 2003 (Microsoft Office – Microsoft Corporation ®, USA) e *SPSS Statistics* 17.0 (IBM ® Company, Chicago, USA).

A caracterização da amostra foi realizada recorrendo a métodos de estatística descritiva. Para o cálculo de valores de referência foi estudado um intervalo de confiança de 95% e para o estudo B e C, foram realizados: teste t de Student para comparação de múltiplas médias; teste de Levene para averiguar a homogeneidade das variâncias; análise de variância que visa fundamentalmente verificar se existe uma diferença significativa entre as médias e se os factores exercem influência em alguma variável dependes; e/ou o teste a ANOVA para comparação de médias de vários grupos.

## **5. RESULTADOS**

De forma a promover uma análise criteriosa dos resultados, os dados obtidos foram tratados separadamente, estudo a estudo (estudo A, B e C). Para o estudo A foram utilizados os dados relativos às colheitas realizadas no momento da admissão nos animais não doentes (CND); Para o estudo B utilizaram-se os dados relativos às colheitas realizadas no momento da admissão em animais doentes (CD); Para o estudo C utilizaram-se os dados relativos às colheitas realizadas nos animais internados na unidade de cuidados intensivos às 0h, 12h, 24h e 48h após a admissão.

### **5.1 Estudo A (Valores de referência)**

Os dados utilizados no estudo A são referentes a animais não doentes (CND). Foram realizadas colheitas em 55 coelhos previamente avaliados e considerados como saudáveis ou sem problemas declarados. Apresentaram um exame físico normal, hemograma e análises bioquímicas gerais compatíveis com os parâmetros de referência para a espécie. Os motivos de ingresso para estes animais eram a vacinação, revisão anual, residência e/ou a execução de cirurgias de conveniência, nomeadamente ovariohisterectomias (OVH) em fêmeas e/ou orquiectomias em machos. Este grupo é designado como grupo de animais não doentes (CND) e utilizado como “grupo de controlo” durante o presente trabalho.

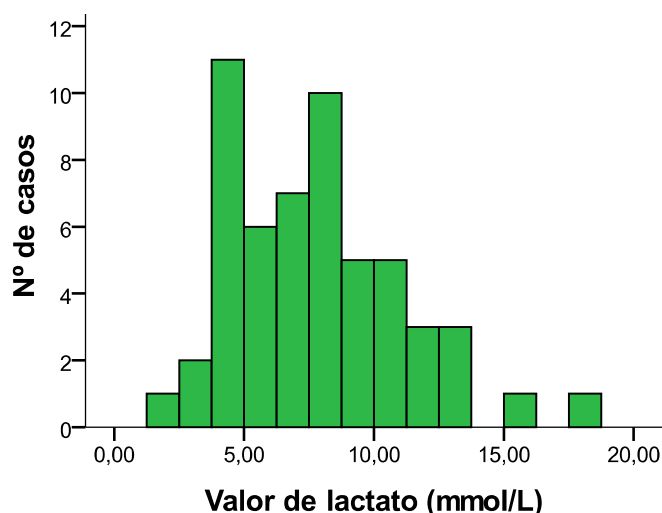
**Tabela 10.** Amostra de animais envolvidos no estudo A para determinação de valores de referência.

Grupo	n	n° Machos	n° Fêmeas	Idade (meses)	
				Mínimo	Máximo
CND	55	33	22	2	108

CND – Coelhos não doentes

Os animais envolvidos no estudo A foram sujeitos a uma única medição dos níveis de lactato plasmático, no momento da admissão, apresentando a distribuição observada no gráfico 6.

**Gráfico 6.** Distribuição dos níveis de L-lactato plasmático nos coelhos não doentes (CND).



Foi efectuada uma análise estatística dos dados obtidos e os resultados encontram-se organizados na tabela 11.

**Tabela 11.** Perfil dos valores de L-lactato plasmático na amostra de CND – Valores de referência. Métodos de estatística descritiva.

Grupo	N	Média (mmol/L)	Mediana (mmol/L)	DP	CV	IC 95% (mmol/L)	
						Limite inferior	Limite superior
CND	55	7,78	7,86	3,28	42,1%	6,89	8,66

CND – Coelhos não doentes | DP – Desvio padrão | CV – Coeficiente de variação  
 | IC 95% – Intervalo de confiança de 95%

Os valores de referência são normalmente calculados englobando 95% dos dados observados, sendo definidos como: média  $\pm$  1,96 DP (Petrie & Watson, 2006). No presente estudo, visto estarmos perante uma amostra pequena, calculou-se um intervalo de confiança (IC) de 95%, cujos limites inferior e superior foram os valores tomados como referência (tabela 11).

## 5.2 Estudo B (Medição única nos animais doentes)

### 5.2.1 Interpretação dos níveis de L-lactato plasmático em coelhos doentes e não doentes

Os dados evidenciam diferenças muito significativas ( $P=0,001$ ), no que diz respeito à avaliação dos níveis médios de L-lactato entre os grupos de coelhos doentes (CD) e não doentes (CND), encontrando-se os dados sumariados na tabela 12.

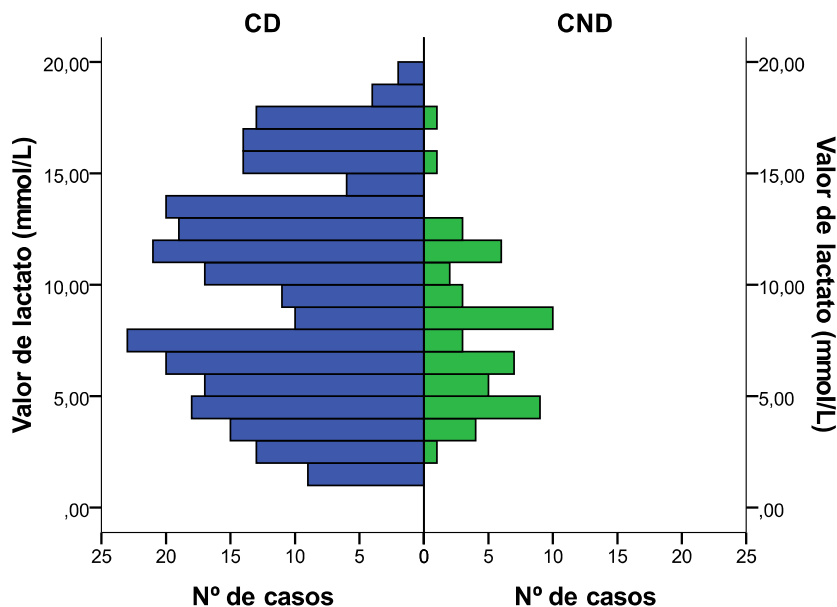
A distribuição de L-lactato em ambos os grupos (CD e CND) pode ser observada no gráfico 7.

**Tabela 12.** Valores médios de L-lactato plasmático em coelhos doentes (CD) e não doentes (CND).  
 Teste t de Student para amostras independentes e variâncias desiguais, bilateral,  $t=3,508$ ,  $P=0,001$ .

Grupo	N	Média (mmol/L)	DP	CV	IC 95% (mmol/L)		Mediana (mmol/L)	Mínimo (mmol/L)	Máximo (mmol/L)
					Limite inferior	Limite superior			
CND	55	7,78	3,28	42,1 %	6,89	8,66	7,86	2,24	17,95
CD	266	9,75	4,08	49,3%	9,16	10,33	9,88	1,18	19,49

CND – Coelhos não doentes | CD – Coelhos doentes | DP – Desvio padrão | CV – Coeficiente de variação  
 | IC 95% – Intervalo de confiança de 95%

**Gráfico 7.** Distribuições dos níveis de L-lactato plasmático nos CD e CND.



O grupo de animais doentes (CD) apresenta um valor médio de L-lactato plasmático superior ao grupo de animais não doentes (CND) e uma maior dispersão dos dados, possuindo simultaneamente, o valor mais baixo e o mais elevado de L-lactato dos dois grupos (CD e CND).

### 5.2.2 Interpretação dos níveis de L-lactato plasmático em coelhos sobreviventes e não sobreviventes

Para avaliar a evolução em termos de sobrevivência, foram considerados apenas os dados relativos aos coelhos doentes (n=266). Dos 266 coelhos doentes, 78,20% sobreviveram (208/266) e 21,80% não sobreviveram (58/266) sendo que 56 tiveram morte natural (96,55%) e 2 foram sujeitos a eutanásia (3,45%) (tabela 13).

**Tabela 13.** Coelhos envolvidos no estudo com uma única medição de L-lactato plasmático e respectiva sobrevivência.

Grupo	S	NS		Total
		NSE	NSM	
CD	208		58	266
		2	56	

CD – Coelhos doentes | S – Coelhos Sobreviventes | NS – Coelhos não sobreviventes  
NSE – Coelhos não sobreviventes eutanasiados | NSM – Coelhos não sobreviventes com morte natural

A avaliação do prognóstico a partir do valor de L-lactato plasmático foi feita através da comparação dos níveis de L-lactato plasmático de coelhos sobreviventes (CS) *versus* não sobreviventes (CNS). Os dados não evidenciam diferenças significativas entre os dois grupos tendo em conta os níveis médios de L-lactato (P=0,134).

Após análise dos resultados constatou-se que 12,98% (27/208) dos 208 coelhos sobreviventes apresentam níveis médios de L-lactato dentro dos valores de referência, ao passo que 30,29% (63/208) surgem com níveis médios de L-lactato abaixo dos valores de referência ( $4,47 \pm 0,21$  mmol/L) e 56,73% (118/208) com níveis médios de L-lactato acima dos valores de referência ( $13,33 \pm 0,26$  mmol/L).

Se considerarmos para análise exclusivamente o grupo de coelhos não sobreviventes (CNS), 8,62% (5/58) apresentam níveis médios de L-lactato dentro dos valores de referência, 44,83% (26/58) apresentam níveis médios abaixo dos valores de referência ( $3,87 \pm 0,29$  mmol/L) e 46,55% (27/58) apresentam níveis médios acima dos valores de referência ( $13,75 \pm 0,54$  mmol/L) (tabela 14).

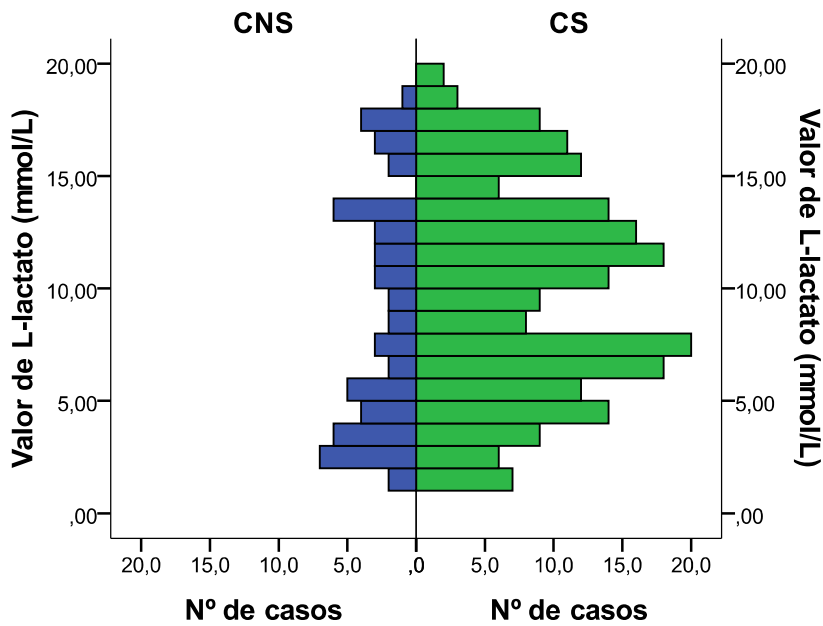
As distribuições de valores plasmáticos de L-lactato nos grupos de CS e CNS podem ser observadas de forma esquemática nos gráficos 8 e 9.

**Tabela 14.** Valores médios de L-lactato entre coelhos sobreviventes e não sobreviventes. Teste t de Student para amostras independentes e variâncias iguais, bilateral,  $t=1,504$ ,  $P=0,134$

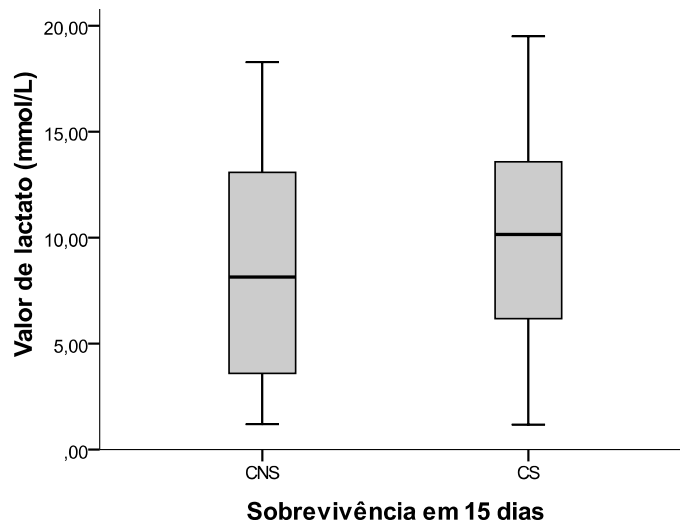
Grupo	n	Média (mmol/L)	Mediana (mmol/L)	DP	CV	IC 95%	
						Limite inferior	Limite superior
CS	208	9,89	10,15	4,68	47,0%	9,25	10,52
CNS	58	8,82	8,14	5,22	59,2%	7,45	10,19

CS – Coelhos sobreviventes | CNS – Coelhos não sobreviventes | DP – Desvio padrão  
 | CV – Coeficiente de variação | IC 95% – Intervalo de confiança de 95%

**Gráfico 8.** Distribuições dos níveis de L-lactato plasmático nos grupos de CS e CNS.



**Gráfico 9.** Distribuição e medianas dos valores de L-lactato plasmático nos grupos de CS e CNS.



### 5.2.3 Interpretação dos níveis de L-lactato plasmático em coelhos de acordo com a patologia/sistema afectado

Após análise dos dados relativos aos coelhos doentes, podemos constatar que existem diferenças muito significativas ( $P=0,008$ ) entre os valores médios de L-lactato plasmático (tabela 15) tendo em conta a patologia ou sistema afectado.

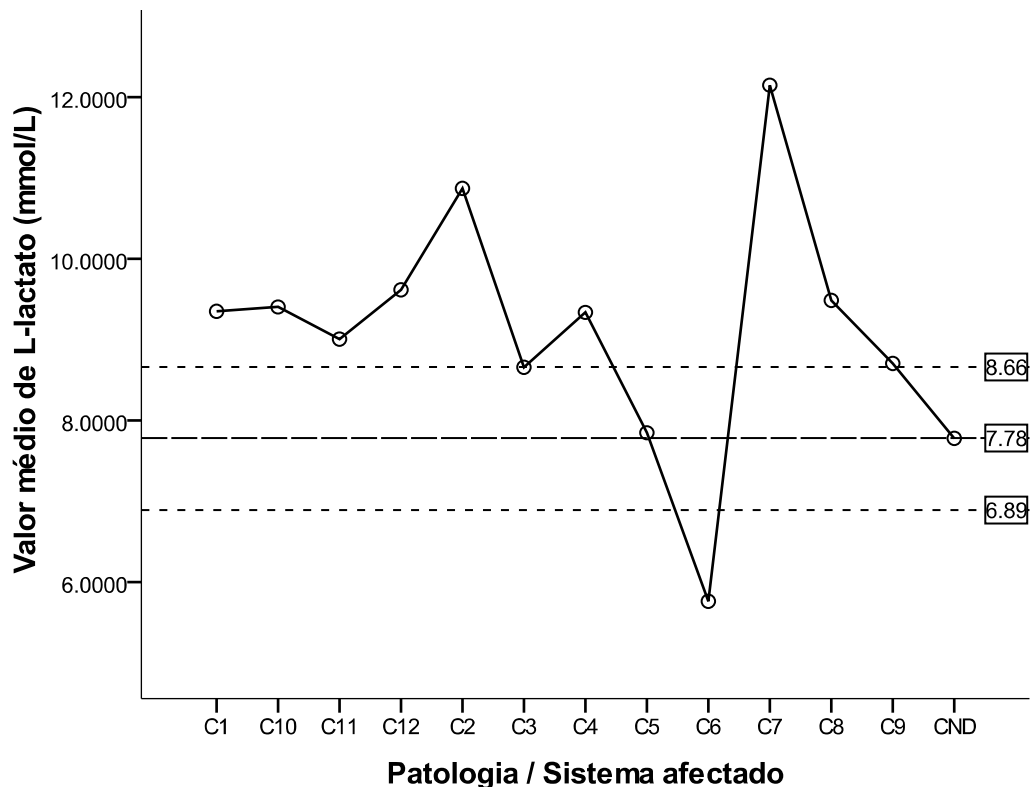
As diferenças entre os valores médios de L-lactato plasmático relativos aos grupos com diferentes afecções/sistemas afectados podem ser observadas no gráfico 10.

**Tabela 15.** Valores médios de L-lactato plasmático em coelhos segundo a patologia/sistema afectados ANOVA para amostras independentes e variâncias iguais, bilateral,  $F=2,29$ ,  $12/240$ ,  $P=0,008$

Grupo	N	Média (mmol/L)	DP	CV	IC 95% (mmol/L)		Mediana (mmol/L)	Mínimo (mmol/L)	Máximo (mmol/L)
					Limite inferior	Limite superior			
CND	55	7,78	3,28	42,1%	6,89	8,66	7,86	2,24	17,95
C1	65	9,35	4,76	50,9%	8,17	10,53	9,45	1,20	18,51
C2	78	10,87	4,65	42,8%	9,82	11,92	11,35	1,20	18,07
C3	6	8,66	4,47	51,6%	3,96	13,35	8,76	3,60	13,75
C4	26	9,34	4,63	49,6%	7,47	11,20	8,44	2,62	19,34
C5	21	7,85	4,41	56,2%	5,84	9,85	7,50	1,18	17,56
C6	4	5,76	6,01	104,3%	0	15,33	3,60	1,51	14,34
C7	17	12,15	4,51	37,1%	9,83	14,46	12,53	4,62	18,27
C8	31	9,48	4,74	50,0%	7,74	11,22	10,53	1,41	18,73
C9	25	8,70	4,67	53,7%	6,78	10,63	7,10	1,27	17,56
C10	20	9,40	4,91	52,2%	7,10	11,70	8,75	2,69	17,38
C11	38	9,01	4,78	53,1%	7,44	10,58	8,52	1,41	18,27
C12	77	9,62	4,74	49,3%	8,54	10,69	9,32	1,20	19,49

CND – Coelhos não doentes | C1 – Coelhos com patologia dentária | C2 – Coelhos com hipomotilidade/atonia gastrointestinal | C3 – Coelhos com insuficiência hepática | C4 – Coelhos com insuficiência renal | C5 – Coelhos com dificuldade/insuficiência respiratória | C6 – Coelhos com piómetra/distócia | C7 – Coelhos com outras afecções reprodutivas (♀) | C8 – Coelhos com patologia cutânea/feridas | C9 – Coelhos com Encefalitozoonose | C10 – Coelhos com patologia músculo-esquelética | C11 – Coelhos com anemia | C12 – Coelhos com outras afecções | DP – Desvio padrão | CV – Coeficiente de variação | IC 95% – Intervalo de confiança de 95%

**Gráfico 10.** Diferenças entre os valores médios de L-lactato plasmático relativos aos diferentes grupos de afecções / sistemas afectados e suas relações com os valores de referência



O grupo de animais com piómetra/distócia (C6) apresenta-se como o grupo com valores médios de L-lactato mais baixos ( $5,76 \pm 6,01$ ) enquanto que os grupos de coelhos com outras afecções reprodutivas (♀) (C7) e o grupo de coelhos com hipomotilidade/atonia gastrointestinal (C2) se apresentam com os valores médios de L-lactato mais elevados,  $12,15 \pm 4,51$  e  $10,87 \pm 4,65$  respectivamente. Níveis de L-lactato dentro dos valores de referência surgiram apenas no grupo de animais com dificuldade/insuficiência respiratória ( $7,85 \pm 4,41$ ).

#### **5.2.4 Interpretação dos níveis de L-lactato plasmáticos em coelhos de acordo com a patologia/sistema afectado e respectiva sobrevivência**

Os níveis de L-lactato observados nos diferentes grupos e a sua relação com a evolução/prognóstico estão representados na tabela 16. Em termos de sobrevivência, os grupos que apresentam maior número de coelhos não sobreviventes (CNS), indicando por isso pior prognóstico, são: o grupo de coelhos com insuficiência renal (C4), o grupo de coelhos com anemia (C11), o grupo de coelhos com dificuldade/insuficiência respiratória (C5) e o

grupo de coelhos com hipomotilidade/atonía gastrointestinal (C2), com 57,69%, 44,74%, 38,10% e 37,18% e de mortes, respectivamente. A relação que surgiu entre os coelhos sobreviventes e não sobreviventes de cada grupo não foi significativa ( $P>0,05$ ), sendo possível caracterizar todos os animais em apenas uma população.

**Tabela 16.** Valores médios de L-lactato plasmático em coelhos segundo a patologia/sistema afectado e respectiva sobrevivência. Teste t de Student para amostras independentes e variâncias iguais, bilateral.

Grupo	Evolução	n	Média (mmol/L)	DP	P (t-teste)
C2	CS	48	11,34	4,25	0,252
	CNS	17	10,08	5,25	
C4	CS	11	9,91	4,51	0,599
	CNS	15	8,92	4,82	
C5	CS	13	7,58	4,41	0,730
	CNS	8	8,29	4,68	
C11	CS	21	8,33	4,38	0,339
	CNS	17	9,84	5,23	

C2 – Grupo de coelhos com atonia gastrointestinal | C4 – Grupo de coelhos com insuficiência renal  
| C5 – Grupo de coelhos com dificuldade/insuficiência respiratória | C11 – Grupo de coelhos com anemia  
| CS – Coelhos sobreviventes | CNS – Coelhos não sobreviventes | DP – Desvio padrão  
| P (t-teste) – Teste t de Student para estudo da relação entre grupos

### 5.3 Estudo C (Medições quádruplas em animais na UCI)

No estudo C foram recolhidas quatro amostras sanguíneas para a mensuração de L-lactato plasmático. A primeira amostra (L1) foi recolhida no momento da admissão, a segunda (L2) às 12h, a terceira (L3) às 24h e a quarta (L4) às 48h após a admissão, contabilizando um total de quatro amostras por animal. Neste estudo específico estiveram envolvidos 25 coelhos hospitalizados na unidade de cuidados intensivos (UCI).

#### 5.3.1 Interpretação dos níveis de L-lactato plasmático em coelhos doentes internados na UCI

O valor médio de L-lactato no grupo de coelhos doentes hospitalizados em UCI no momento de admissão é de 10,58 mmol/L. Este valor encontra-se acima dos valores de referência,

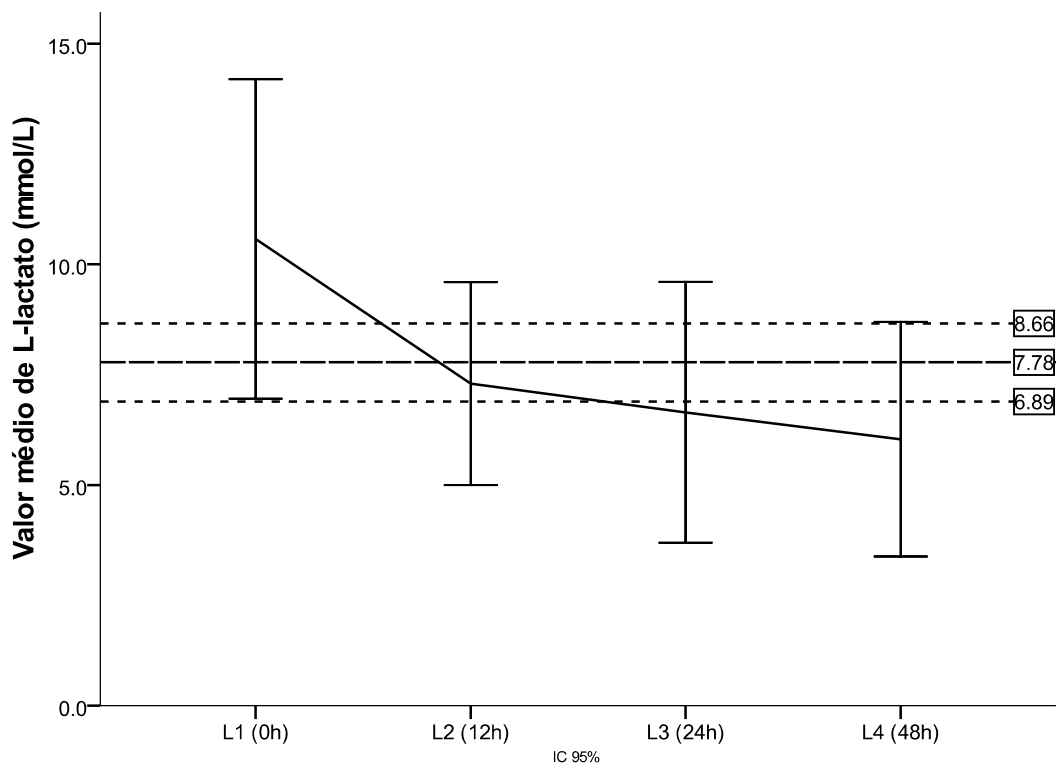
contudo, após instituição de terapêutica os níveis de L-lactato foram diminuindo gradualmente nas medições seguintes, como é possível observar na tabela 17 e no gráfico 11, chegando mesmo, nas duas últimas medições (L3 e L4) a atingir valores abaixo dos valores de referência.

**Tabela 17.** Valores médios das quatro medições de L-lactato plasmático em coelhos doentes hospitalizados em UCI. Métodos de estatística descritiva.

Medição	Média (mmol/L)	DP	CV	IC 95%		Mediana (mmol/L)	Mínimo (mmol/L)	Máximo (mmol/L)
				Limite inferior	Limite superior			
L1	10,58	6,27	59,26%	6,95	14,20	10,96	1,18	18,07
L2	7,30	3,99	54,66%	5,00	9,60	5,84	3,31	15,18
L3	6,65	5,12	76,99%	3,69	9,60	4,78	0,99	17,18
L4	6,04	4,60	76,16%	3,38	8,69	4,07	1,28	16,72

L1 – Medição de L-lactato às 0h | L2 – Medição de L-lactato às 12h | L3 – Medição de L-lactato às 24h | L4 – Medição de L-lactato às 48h | DP – Desvio padrão | CV – Coeficiente de variação | IC 95% – Intervalo de confiança de 95%

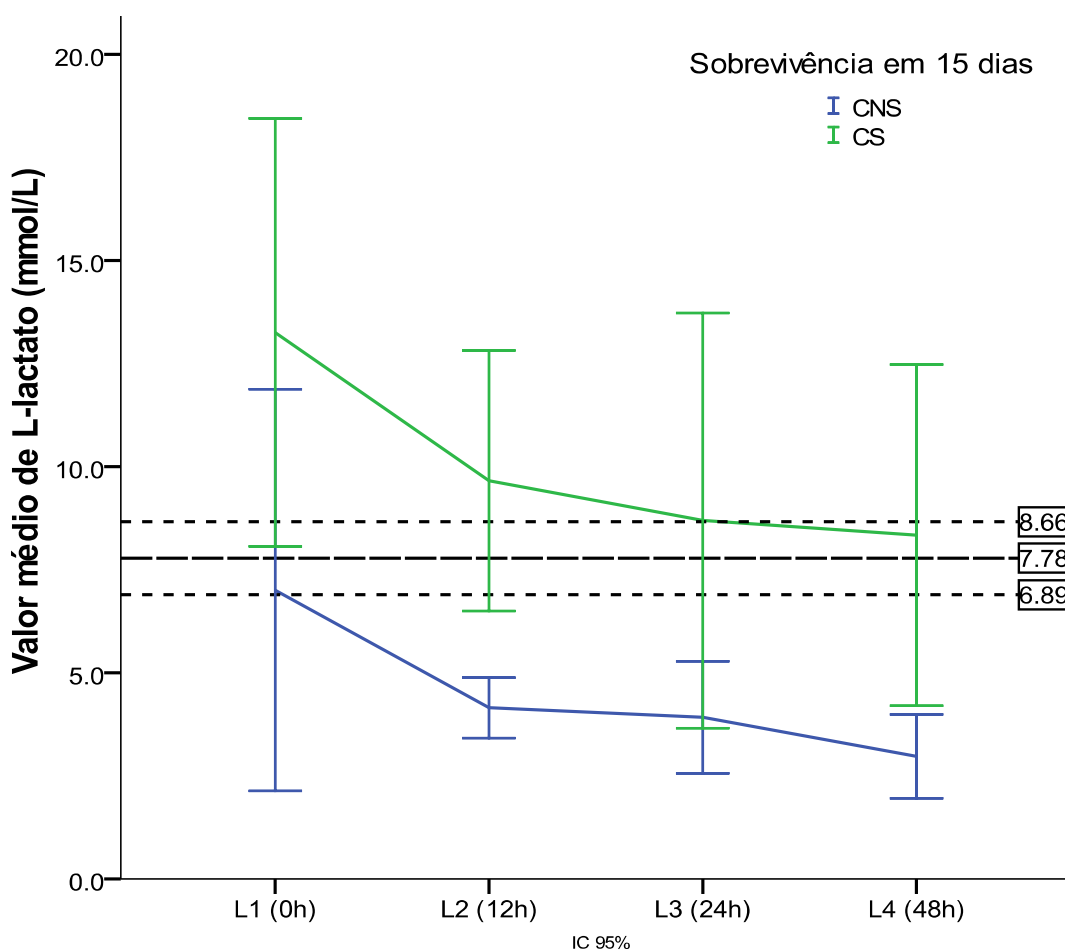
**Gráfico 11.** Valores médios das quatro medições de L-lactato plasmático em coelhos doentes hospitalizados em UCI e a sua relação com os valores de referência



### 5.3.2 Interpretação dos níveis de L-lactato plasmático em coelhos sobreviventes e não sobreviventes internados na UCI

Dos 25 coelhos envolvidos neste estudo, 60% sobreviveram (15/25) e 40% não sobreviveram (10/25). Em termos gerais, quando avaliados os níveis de L-lactato em coelhos sobreviventes (CS) e não sobreviventes (CNS) a tendência foi para os níveis diminuírem gradualmente ao longo das quatro medições (L1>L2>L3>L4) (gráfico 12).

**Gráfico 12.** Valores médios das quatro medições de L-lactato plasmático em CS e CNS hospitalizados em UCI e a sua relação com os valores de referência



O grupo de CS apresenta níveis médios de L-lactato às 0h (L1) acima dos valores de referência, ao passo que o grupo de CNS apresenta níveis médios de L-lactato às 0h (L1) dentro dos valores de referência. Os níveis médios de L-lactato no grupo de CS diminuíram ao longo do tempo, apresentando níveis dentro dos valores de referência nas duas últimas medições (L3 e L4) ao passo que no grupo de CNS os valores de L-lactato diminuem

progressivamente, atingindo níveis plasmáticos abaixo dos valores de referência nas três medições seguintes (L2, L3 e L4) (tabela 18).

**Tabela 18.** Valores médios das quatro medições de L-lactato plasmático em coelhos sobreviventes (CS) e não sobreviventes (CNS) hospitalizados em UCI

Grupo	Medição	Média (mmol/L)	DP	CV	IC 95%		Mediana (mmol/L)	Mínimo (mmol/L)	Máximo (mmol/L)
					Limite inferior	Limite superior			
CS	L1	13,25	6,21	46,87%	8,06	18,44	16,65	1,18	18,07
	L2	9,66	3,78	39,13%	6,50	12,82	9,53	4,67	15,18
	L3	8,69	6,02	69,28%	3,66	13,73	8,17	0,99	17,18
	L4	8,34	4,95	59,35%	4,20	12,48	9,63	1,28	16,72
CNS	L1	7,00	4,64	66,29%	2,13	11,88	6,32	2,62	13,79
	L2	4,15	0,70	16,87%	3,41	4,89	4,00	3,31	5,38
	L3	3,92	1,29	32,91%	2,56	5,28	4,45	1,69	5,06
	L4	2,97	0,97	32,66%	1,95	3,99	2,90	1,76	4,18

CS – Coelhos sobreviventes | CNS – Coelhos não sobreviventes | L1 – Medição de L-lactato às 0h | L2 – Medição de L-lactato às 12h | L3 – Medição de L-lactato às 24h | L4 – Medição de L-lactato às 48h | DP – Desvio padrão  
 | CV – Coeficiente de variação | IC 95% – Intervalo de confiança de 95%

## 6. DISCUSSÃO

A extrema complexidade na inter-relação metabólica entre os diferentes órgãos, condiciona de algum modo a tentativa de se encontrar um parâmetro em termos de prognóstico, que se apresente como marcador universal. Apesar dos estudos efectuados em medicina veterinária não terem uma base muito alargada de material reportado, se estes forem conjugados com informação da literatura de medicina humana, sabe-se que a partir dos valores de lactato sanguíneo se pode inferir sobre o estado de perfusão tecidual, resposta à terapêutica e inferir sobre o prognóstico/sobrevivência (Pittard, 1999; Bolton, 2007).

No presente trabalho foram recolhidas amostras sanguíneas de 329 animais da espécie *Oryctolagus cuniculus*, sendo excluídos 8, após um processo de triagem. No estudo A, para determinação de valores de referência, estiveram envolvidos 55 animais e no estudo B, 266 animais, sendo que destes, 25 foram submetidos a mais três medições para o estudo C. A exclusão dos referidos 8 animais teve como base: a ausência de um diagnóstico perfeitamente

conclusivo e justificado; falhas no registo dos dados do animal; animais que não apresentavam a mensuração dos valores de lactato por motivos técnicos (falha no instrumento de medição, entre outros). Foram ainda excluídos os animais cuja mensuração de lactato apesar de estar presente, dados como: a hora de recolha da amostra e o executor da mesma estavam ausentes. Animais cujas hora de mensuração do lactato não coincidiu com o momento da admissão do animal (estudo A, B e C) ou com os intervalos estipulados para as três medições seguintes (estudo C) foram excluídos. Amostras de sangue não correctamente processadas, nomeadamente em que o intervalo de tempo entre a recolha, processamento e leitura da amostra foi superior a 5 minutos, foram excluídas. Todos os animais foram seleccionados independentemente do sexo, idade e/ou gravidade da doença.

Existe alguma ambiguidade, no que diz respeito aos valores de referência determinados no presente trabalho. A amostra populacional não era grande o suficiente, de forma a permitir uma análise estatística perfeita, evidenciando-se um coeficiente de variação bastante elevado, de 42,1%, o que indica uma forte dispersão dos dados. Tal variação pode dever-se à presença de animais em distintas fases digestivas, isto é, animais que ingeriram cecotrofos há menos de 6h ou que já o fizeram há mais de 10h, influenciando assim, os níveis de lactato. Os valores de referência são normalmente calculados englobando 95% dos dados observados, sendo definidos como: média  $\pm$  1,96 DP (Petrie & Watson, 2006). No presente estudo, visto estarmos perante uma amostra pequena, calculou-se um intervalo de confiança (IC) de 95%, cujos limites inferior e superior foram os valores tomados como referência (6,89 – 8,66 mmol/L). Idealmente os valores de referência devem ser desenvolvidos pelos hospitais e clínicas de forma individual, tendo em conta a sua amostra populacional e o aparelho utilizado na medição do lactato (Pang & Boysen, 2007).

No presente trabalho, as diferentes interpretações dos níveis de lactato plasmático que foram efectuadas, nomeadamente nas situações B e C, visam essencialmente detectar diferenças entre os níveis de lactato nos diferentes grupos de trabalho formados. No que diz respeito ao estudo B, efectuado entre coelhos doentes (CD) e não doentes (CND), constatou-se que o tipo de condição (doente ou não doente) influenciou de forma muito significativa os níveis de L-lactato plasmático ( $P=0,001$ ), o que veio reforçar a ideia de que, independentemente do tipo de doença e da sua gravidade, a tendência é surgirem alterações mais ou menos graves em termos de metabolismo e conseqüentemente, diferentes variações nos níveis de lactato (Hughes *et al.*, 1999). Os animais doentes (CD) apresentam uma maior dispersão dos dados ( $CV=49,3\%$ ), possuindo simultaneamente o valor mais baixo e o valor mais elevado de L-lactato plasmático dos dois grupos (CD e CND). Os níveis de L-lactato plasmático foram

superiores nos coelhos doentes (CD) –  $9,75 \pm 4,08$  mmol/L, quando comparado com os coelhos não doentes (CND) –  $7,78 \pm 3,28$  mmol/L, apresentando-se acima dos valores de referência para a espécie. Esta situação vem corroborar a teoria contida em estudos efectuados anteriormente em outros mamíferos (Homem, canídeos, felídeos, entre outros), que referem que, independentemente da patologia, é frequente observarem-se alterações em termos metabólicos, surgindo como consequência variações na homeostasia do lactato (Rand *et al.*, 2002; Acierno & Mitchell, 2007). Entre coelhos sobreviventes (CS) e não sobreviventes (CNS), as diferenças observadas não foram significativas ( $P=0,134$ ). Dos coelhos sobreviventes (CS), 12,98% apresentam níveis de L-lactato dentro dos valores de referência, ao passo que 30,29% surgem com níveis de L-lactato plasmático abaixo dos valores de referência ( $4,47 \pm 0,21$  mmol/L) e 56,73% com níveis acima dos valores de referência ( $13,33 \pm 0,26$  mmol/L). No grupo de coelhos não sobreviventes (CNS), 8,62% apresentam níveis de L-lactato dentro dos valores de referência, 44,83% apresentam níveis abaixo dos valores de referência ( $3,87 \pm 0,29$  mmol/L) e 46,55% apresentam níveis acima dos valores de referência ( $13,75 \pm 0,54$  mmol/L), não sendo possível estabelecer nenhuma relação entre os dois grupos. Contudo, os coelhos não sobreviventes apresentaram um valor médio de L-lactato plasmático inferior aos sobreviventes (8,82 mmol/L e 9,89 mmol/L, respectivamente). Isto pode ser justificado pela não homogeneidade presente no grupo de animais doentes, nomeadamente pela presença de animais com diferentes afecções e/ou afecções concomitantes e ao mesmo tempo diferentes graus de gravidade, uma vez que, tendo em conta estudos anteriores, diferentes afecções influenciam de forma diferente os níveis de lactato, surgindo na maioria das vezes relacionada com a gravidade da situação clínica (Lagutchik *et al.*, 1998; Rand *et al.*, 2002). Os resultados obtidos entre coelhos sobreviventes (CS) e não sobreviventes (CNS), não corroboram estudos anteriormente efectuados em outros mamíferos, que indicam que animais com valores elevados de lactato apresentam pior prognóstico e/ou mais reservado, apresentando maior tendência a não sobreviverem (Lagutchik *et al.*, 1998; Papp *et al.*, 1999; McMichael *et al.*, 2005). Se avaliarmos a caracterização dos grupos, efectuada com base na comparação múltipla de médias pelo teste de ANOVA, verificou-se que existem diferenças muito significativas entre os grupos de afecções/sistemas afectados ( $P=0,008$ ) mas quando colocada a hipótese sobre a influência dos níveis de L-lactato com o tipo de evolução em termos de sobrevivência, não foi correspondida, apresentando-se sem diferenças significativas ( $P>0,05$ ). Uma possível justificação para tal facto pode estar relacionada com a heterogeneidade da amostra, anteriormente referida, isto é, a presença de diversas afecções e/ou afecções concomitantes, com diferentes graus de gravidade e o facto das amostras serem

pequenas, dificultando bastante a interpretação dos dados. Tendo em conta os níveis de L-lactato plasmático em coelhos consoante o tipo de patologia/sistema afectado, a avaliação sobre os níveis médios deste parâmetro para uma medição única, surgiu dentro da normalidade em 16,67% dos grupos (2/12), sendo que 8,33% dos grupos (1/12) apresentou níveis abaixo dos valores de referência e 75% dos grupos (9/12) apresentou níveis acima dos valores de referência, o que vem a confirmar estudos anteriormente realizados em outros mamíferos que referem que diferentes afecções influenciam de forma variada os níveis de lactato. Ao serem interpretados os diferentes resultados obtidos, quer a partir do limite máximo dos intervalos para um nível de confiança de 95%, quer a partir dos valores de variação (IC 95%) observados dentro dos próprios grupos pode verificar-se alguma heterogeneidade. Isto sugere que, embora dentro destes grupos possa haver uma média de níveis de lactato dentro dos valores de referência, a probabilidade de serem encontrados animais que se apresentem hiperlactatémicos ou hipolactatémicos, existe. O facto do número de observações por grupo ter sido reduzido em alguns deles, pode ter influência nos resultados obtidos. A não homogeneidade referida, ou seja, a presença de animais com diferentes afecções e/ou afecções concomitantes e de animais com apresentações clínicas de diferentes gravidades, dificulta de alguma forma a interpretação dos resultados quando envolvidos em estudo diferentes animais. O grupo de animais com piómetra/distócia (C6) apresenta-se como o grupo com valores médios de L-lactato mais baixos ( $5,76 \pm 6,01$ ), podendo este resultado dever-se ao facto de animais gestantes e/ou em mau estado geral se apresentarem normalmente em anorexia ou com uma taxa de ingestão muito reduzida, impossibilitando ou diminuindo o incremento de lactato por parte da cecotrofia sendo que o aporte de glucose se encontra também ele reduzido. Por outro lado os grupos de coelhos com outras afecções reprodutivas (♀) (C7) e o grupo de coelhos com hipomotilidade/atonía gastrointestinal (C2) apresentam-se com os valores médios de L-lactato mais elevados,  $12,15 \pm 4,51$  e  $10,87 \pm 4,65$  respectivamente. No caso do grupo C7, tal elevação pode dever-se à presença de situações neoplásicas relativamente frequentes em coelhas adultas não castradas e que segundo a literatura elevam os níveis de lactato sanguíneo (Mathews, 2006; Allen & Holm, 2008). No grupo C2, os elevados níveis de lactato dever-se-ão essencialmente ao sobrecrescimento bacteriano inerente à síndrome e ao facto do aparelho digestivo dos coelhos ser muito longo, o que conduz a que, em caso de falha na oxigenação/perfusão se originem produções de lactato por parte de um número elevado de células e consequentemente hiperlactatémia, situação que já foi anteriormente referida em estudo em canídeos com torção e dilatação gástrica (GDV) (Papp *et al.*, 1999). Níveis de L-lactato dentro dos valores de referência surgiram apenas no

grupo de animais com dificuldade/insuficiência respiratória ( $7,85\pm 4,41$ ), valor este inesperado, mas que se pode dever à heterogeneidade da amostra anteriormente referida, bem como ao facto dos animais já se poderem encontrar numa fase compensada, não havendo assim uma hipóxia considerável a ponto de elevar os níveis de lactato. Dos grupos de coelhos formados, aqueles que se apresentaram com maior número de animais não sobreviventes, indicando por isso um pior prognóstico, foram: o grupo de coelhos com insuficiência renal (C4), o grupo de coelhos com anemia (C11), o grupo de coelhos com dificuldade/insuficiência respiratória (C5), e o grupo de coelhos com hipomotilidade/atonía gastrointestinal (C2), com 57,69%, 44,74%, 38,10% e 37,18% e de mortes, respectivamente. Interpretando os valores médios de L-lactato obtidos, verificou-se que em dois dos grupos (C2 e C4), o nível de lactato presente em coelhos não sobreviventes se apresenta inferior quando comparado com os sobreviventes, ao passo que nos outros dois grupos (C5 e C11), os coelhos não sobreviventes apresentam valores médios de lactato superiores aos sobreviventes. Através da avaliação dos níveis de lactato entre coelhos sobreviventes e não sobreviventes, tendo em conta o grupo de patologia/sistema afectado, não foi possível detectar diferenças significativas ( $P>0,05$ ), tendo apenas sido caracterizada uma população. Tal situação pode ter resultado, possivelmente, do reduzido número de animais presentes nos respectivos grupos (C2, C4, C6 e C11); do facto de nem todos os animais apresentarem o mesmo tipo de resposta perante a mesma terapia, e ao mesmo tempo de se estar perante diferentes afecções, com diferentes gravidades, todas elas incluídas num mesmo grupo, podendo assim ter influenciado os valores médios de lactato. O facto do grupo de coelhos com insuficiência renal (C4) apresentar a maior percentagem de mortalidade (57,69%) pode dever-se ao facto de a maioria dos casos reportados se dever a uma insuficiência renal crónica (irreversível), em pacientes com idade já avançada. Os coelhos com anemia (C11) foram o segundo grupo com maior percentagem de mortalidade (44,74%). O facto de estarem inseridos neste grupo animais com anemias graves (por hemólise e/ou hemorragias difusas), com grandes falhas na oxigenação sanguínea, alterações hemodinâmicas, entre outras, pode justificar os presentes resultados. O grupo de animais com insuficiência respiratória, apesar de se apresentar com níveis de lactato dentro dos valores de referência, apresentou uma taxa de mortalidade na ordem dos 38,10%, sendo que tal facto se pode justificar pela heterogeneidade da amostra, visto estarem presentes animais com diferentes afecções, com diferentes gravidades, todas elas incluídas num mesmo grupo, podendo assim dificultar a interpretação dos resultados. O quarto grupo com maior mortalidade (37,18%) é o grupo de animais com hipomotilidade/atonía gastrointestinal. Esta síndrome pode dever-se a causas dietéticas e de alteração da flora bacteriana gastrointestinal

mas também a causas infecciosas, ambientais ou neoplásicas. O aparelho digestivo é considerado o sistema mais crítico dos coelhos, pois dele dependem de forma muito directa diversas funções cujo comprometimento conduzem a um ciclo vicioso, difícil de controlar.

Os resultados do estudo C vieram não só reforçar algumas das diferentes avaliações efectuadas no estudo B, mas também vieram corroborar estudos anteriores que demonstraram noutros mamíferos que os valores médios de lactato no momento da admissão tendem a ser superiores a medições seguintes, isto se a resposta ao tratamento ministrado for a ideal (Bolton, 2007). O valor médio de L-lactato no grupo de coelhos doentes hospitalizados em UCI no momento de admissão é de  $10,58 \pm 6,27$  mmol/L, sendo este valor considerado acima dos valores de referência, contudo, após instituição de terapêutica os níveis de L-lactato foram diminuindo gradualmente nas medições seguintes, chegando mesmo, nas duas últimas medições (L3 e L4) a atingir níveis abaixo dos valores de referência. Foi observada uma diminuição progressiva nos níveis médios de L-lactato ao longo das quatro medições ( $L1 > L2 > L3 > L4$ ). Dos 25 coelhos envolvidos neste estudo, 60% dos animais sobreviveram (12/25) e 40% não sobreviveram (10/25). O grupo de coelhos sobreviventes (CS) apresenta o primeiro valor médio de L-lactato (L1) acima dos valores de referência ( $13,25 \pm 6,21$  mmol/L), ao passo que o grupo de coelhos não sobreviventes (CNS) apresenta o primeiro valor médio de L-lactato (L1) dentro dos valores de referência ( $7 \pm 4,64$  mmol/L). Os níveis de L-lactato no grupo de CS diminuiu para valores fisiológicos nas duas últimas medições (L3 e L4) ao passo que no grupo de CNS os valores de L-lactato diminuem abaixo dos níveis de referência nas três medições seguintes (L2, L3 e L4). Segundo estudos anteriores, entre duas ou mais medições distintas, o ideal em termos de variações é surgirem diminuições iguais ou superiores a 30-50% num curto espaço de tempo (3 a 6h) (Nel *et al.*, 2004). Regra geral, os coelhos não sobreviventes apresentam uma taxa de diminuição nos níveis de lactato entre L1 e L4 mais acentuada com 57,6%, contra os 37,1% nos coelhos sobreviventes. A diferença entre a primeira medição (L1) e a segunda (L2) foi mais acentuada nos coelhos não sobreviventes (40,7%) quando comparada com os coelhos sobreviventes (31,0%). Tais factos evidenciam que animais com níveis de lactato inferiores aos valores de referência, apresentam um pior prognóstico. De uma maneira geral, em termos de prognóstico, a combinação da apresentação clínica/estado geral do animal e dos respectivos níveis de lactato surgem com maior utilidade. Tal prognóstico tende a ser pior aquando da presença de níveis baixos de lactato persistentes no tempo, ficando bastante abaixo dos limites inferiores assumidos como referência. Nos coelhos sobreviventes (CS), apesar dos níveis médios de lactato iniciais (L1) se apresentarem acima dos valores de referência, os possíveis desequilíbrios e alterações

metabólicas existentes conseguiram ser compensadas recorrendo-se a tratamento médico e suporte nutricional, regulando não só os níveis de lactato como todo o estado geral do animal. Nos coelhos não sobreviventes (CNS), o nível médio de lactato inicial (L1), apesar de se encontrar dentro dos valores de referência, encontra-se já no limite inferior do mesmo. Após instituição de terapêutica adequada, direccionada a cada caso específico, bem como manutenção de um suporte nutricional adequado, os animais não responderam positivamente, acabando mesmo algum deles por falecer após 12h-48h. Esta diminuição dos níveis de lactato para níveis abaixo dos valores de referência pode dever-se ao facto de os coelhos em estado crítico deixarem de fazer um processo digestivo normal, diminuindo assim a cecotrofia e por consequência, diminuir o aporte de lactato por essa mesma via. Ao não ingerirem alimento em quantidades e proporções adequadas, também o aporte de energia diminui, deteriorando-se todos os desequilíbrios metabólicos pré-existentes, degradando cada vez mais todo o estado geral do animal, levando a uma falência múltipla de órgãos.

Estudos realizados anteriormente em gatos, referem as dificuldades que surgem associadas à utilização do parâmetro lactato sanguíneo em termos de prognóstico e evolução de felinos. Sendo referido que o factor stress e consequente cascata de alterações (libertação de catecolaminas e corticosteróides endógenos) potenciam esse mesmo valor (Rand *et al.*, 2002; Acierno *et al.*, 2008; Pang & Boysen, 2007). O aumento dos níveis de lactato associado ao stress surge essencialmente pela acção das catecolaminas (adrenalina, noradrenalina e dopamina), as quais, ao mesmo tempo que estimulam a disponibilidade da glucose, promovem um aumento da glicólise, condições que por si só, conduzem a alterações no normal metabolismo e consequentemente a um aumento de lactato (aumento da disponibilidade de piruvato associado a condições aeróbias normais ou reduzidas). A própria vasoconstrição que surge como resultado da acção das catecolaminas diminui significativamente a perfusão tecidual conduzindo a aumentos dos níveis séricos de lactato (Christopher & O'Neill, 2000; Rand *et al.*, 2002). Visto os coelhos serem uma espécie também ela muito reactiva ao stress (Ward, 2006), pensou-se que tais consequências se aplicassem a estes animais, dificultando um pouco a interpretação dos resultados, contudo, tal facto, se existente, não foi muito evidente.

Estudos anteriores sugerem que os valores de AGV, glucose e lactato no sangue dos coelhos variam consoante a relação existente entre a dieta e o estado fisiológico do animal, sendo estes valores mais elevados em coelhos alimentados à base de aveia e luzerna do que em animais alimentados à base de ração comercial (Marty & Vernay, 1984). Visto que nem todos os coelhos envolvidos no estudo eram sujeitos à mesma dieta, sendo que alguns deles estavam

mesmo sujeitos a alimentação forçada, sendo o estado fisiológico também variável consoante a patologia e a gravidade da mesma, tais variações podem alterar e dificultar a interpretação dos resultados.

O D-lactato é considerado o isómero fisiológico em ratos, visto que altas produções de D-lactato gástrico têm sido reportadas nestes animais (Ewaschuk *et al.*, 2007). Seriam assim necessários mais estudos em coelhos de forma a averiguar se o mesmo acontece nesta espécie e qual a sua influência no prognóstico/sobrevivência destes animais. Mais estudos são necessários para um melhor entendimento do metabolismo do lactato nos coelhos bem como para confirmar os resultados obtidos e colmatar as falhas existentes no presente estudo.

## 7. CONCLUSÃO

Tomando como base a experiência adquirida durante a realização deste trabalho e tendo em conta todos os resultados obtidos, pode concluir-se o seguinte:

A mensuração dos níveis de lactato é uma técnica minimamente invasiva e um parâmetro de monitorização que pode ser facilmente utilizado pelos médicos veterinários na prática clínica, contudo, é necessário um conhecimento profundo sobre o metabolismo aeróbio e anaeróbio, bem como sobre a fisiologia do trato gastrointestinal do coelho. As pesquisas efectuadas em termos da monitorização e prognóstico tendo em conta os níveis de lactato em coelhos são nulas, mas com o presente estudo evidenciou-se um grande potencial da sua utilização em pacientes críticos na prática clínica, sendo necessários estudos futuros que aprofundem e corroborem tais resultados.

Este estudo sugere que um valor único de lactato plasmático no momento da admissão não pode ser utilizado para avaliar a perspectiva de sobrevivência em coelhos doentes, mas que medições sequenciais de lactato plasmático podem ser úteis na monitorização destes animais e que devem ser utilizadas na identificação de pacientes que requerem uma terapêutica mais agressiva. Além disso, a monitorização das alterações nos níveis de lactato ao longo do tempo auxilia na identificação de coelhos com um mau prognóstico e uma reduzida taxa de sobrevivência. Uma mensuração única dos níveis de L-lactato plasmático não tem valor significativo em termos de prognóstico, apesar de evidenciar diferenças relevantes quando comparando coelhos doentes (CD) e não doentes (CND), sendo que os coelhos não

sobreviventes (CNS) apresentam normalmente valores médios de L-lactato inferiores quando comparados com animais sobreviventes (CS).

As medições subsequentes mostraram maior segurança aquando da necessidade de tecer considerações no que diz respeito à evolução futura do animal nomeadamente ao grau de sobrevivência. Níveis baixos de L-lactato plasmático persistentes ao longo do tempo, ou cujas reduções tenham ocorrido de forma significativa abaixo dos mesmos, apresentam um prognóstico mais reservado, com elevada mortalidade. Daí que animais com valores de L-lactato inferiores apresentaram pior evolução e conseqüentemente pior prognóstico.

A interpretação de valores únicos de lactato tem várias limitações. Primeiro, as concentrações de lactato sanguíneo reflectem a interacção entre a produção e a eliminação de lactato. Por exemplo, em pacientes com sépsis e insuficiência hepática, o valor de lactato podem estar elevado comparado com um paciente sem insuficiência hepática, mas ambos podem evidenciar o mesmo grau de stress. Segundo, um aumento das concentrações de lactato pode indicar outros mecanismos de hipoxia tecidual, como a regulação em adrenalina que estimula a actividade Na/K-adenosina trifosfato no músculo esquelético e inibição do metabolismo do piruvato ou um aumento da sua produção. Dadas estas limitações, mensurações seriadas são mais importante no prognóstico do que mensurações simples.

Em suma, a mensuração dos níveis de L-lactato plasmático tem relevância em termos de terapêutica e prognóstico. Os valores de L-lactato têm relevância em termos de prognóstico, essencialmente na avaliação do grau de morbidade do animal e na sua sobrevivência, quando avaliados no decorrer do tempo. Os coelhos com níveis de L-lactato inferiores tendem a não sobreviver ou a apresentar um prognóstico mais reservado.

A utilização do lactato plasmático pode complementar outras investigações e análises no manejo do paciente, contudo, a sua utilização como parâmetro único é questionável. Em pacientes críticos, existem três razões principais para a mensuração dos níveis de lactato: como um marcador de hipoperfusão, para orientar e averiguar a eficácia da terapêutica e para prever a mortalidade dos pacientes.

São no entanto necessários mais estudos e pesquisas para avaliar o papel preditivo independente do lactato em comparação com outros parâmetros clínicos e laboratoriais obtidos rotineiramente nos coelhos, bem como para um melhor entendimento do metabolismo do mesmo nesta espécie, de forma a confirmar os resultados obtidos neste estudo, colmatando as falhas existentes.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acierno, M.J. & Mitchell M.A. (2007). Evaluation of four point-of-care meters for determination of blood lactate concentrations in dogs, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 230(9), 1315-1318.

Acierno, M.J., Johnson, M.E., Eddleman, L.A. & Mitchell, M.A. (2008). Measuring statistical agreement between four point of care (POC) lactate meters and a laboratory analyzer in cats, *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10, 110-114.

Allen, S.E. & Holm, J.L. (2008). Lactate: physiology and clinical utility, *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 18(2), 123-132.

Bakker, J., Gris, P., Coffernils, M., Kahn, R.J. & Vincent, J. (1996). Serial blood lactate levels can predict the development of multiple organ failure following septic shock, *The American Journal of Surgery*, 171, 221-226.

Bakker, J. & Lima, A.P. (2004). Increased blood lactate levels: an important warning signal in surgical practice, *Critical Care*, 8, 96-98.

Berg, J.M., Tymoczko, J.L. & Stryer, L. (2004a). Capítulo 16 – Glicólise e glicogenólise. In *Bioquímica*, 5ª Edição, 443-482. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Berg, J.M., Tymoczko, J.L. & Stryer, L. (2004b). Capítulo 17 – O ciclo do ácido cítrico. In *Bioquímica*, 5ª Edição, 483-507. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Blas, E. & Gidenne, T. (1998). Chapter 2 – Digestion of starch and sugars. In Blas, C. & Wiseman, J., *The nutrition of the rabbit*, 17-38. UK: CABI Publishing.

Bolton, J.D. (2007). Clinical use of lactate testing in shock states, *Seminars in Anaesthesia, Perioperative Medicine and Pain*, 26, 35-39.

Boutilier, R.G. (2001). Mechanisms of cell survival in hypoxia and hypothermia, *The Journal of Experimental Biology*, 204, 3171-3181.

Brouns, R., Sheorajpanday, R., Wauters, A., Surgeloose, D., Mariën, P. & Deyn, P.P. (2008). Evaluation of lactate as a marker of metabolic stress and cause of secondary damage in acute ischemic stroke or TIA, *Clinica Chimica Acta*, 397, 27-31.

Carabaño, R., Fraga, M.J., Santomá, G. & Blas, J.C. (1988). Effect of diet on composition of cecal contents and on excretion and composition of soft and hard feces of rabbit, *Journal of Animal Science*, 66, 901-910.

Carabaño, R. & Piquer, J. (1998). Chapter 1 – The digestive system of the rabbit. In Blas, C. & Wiseman, J., *The nutrition of the rabbit*, 1-16. UK: CABI Publishing.

Cerovic, O., Golubovic, V., Spec-Marn, A., Kremzar, B. & Vidmar, G. (2003). Relationship between injury severity and lactate levels in severely injured patients, *Intensive Care Medicine*, 29, 1300-1305.

Cheifetz, I.M., Kern, F.H., Schulman, S.C., Greeley, W.J., Ungerleider, R.M. & Meliones, J.N. (1997). Serum lactates correlate with mortality after operations for complex congenital heart disease, *The Annals of Thoracic Surgery*, 64, 735-738.

Christopher, M.M. & O'Neill, S. (2000). Effect of Specimen collection and storage on blood glucose and lactate concentrations in healthy, hyperthyroid and diabetic cats, *Veterinary Clinical Pathology*, 29, 22-28.

Chrusch, C., Bands, C., Bose, D., Li, X., Jacobs, H., Duke, K., Bautista, E., Eschun, G., Light, R.B. & Mink, S.N. (2000). Impaired hepatic extraction and increased splanchnic production contribute to lactic acidosis in canine sepsis, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 161, 517-526.

Corley, K.T.T., Donaldson, L.L. & Furr, M.O. (2005). Arterial lactate concentration, hospital survival, sepsis and SIRS in critically ill neonatal foals, *Equine Veterinary Journal*, 37, 53-59.

Davies, R.R. & Davies, J.A.E.R. (2003). Rabbit gastrointestinal physiology, *The Veterinary Clinics Exotic Animal Practice*, 6, 139-153.

Didwania, A., Meller, J., Kassel, D., Jackson, E.V. & Chernow, B. (1997). Effect of intravenous lactated Ringer's solution infusion on the circulating lactate concentration: part 3 – results of a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial, *Critical Care Medicine*, 25(11), 1851-1854.

Duke, T.D., Butt, W. & South, M. (1997). Predictors of mortality and multiple organ failure in children with sepsis, *Intensive Care Medicine*, 23, 684-692.

Evans, D.L. & Golland, L.C. (1996). Accuracy of accusport for measurement of lactate concentrations in equine blood and plasma, *Equine Veterinary Journal*, 28(5), 398-402.

Ewaschuk, J.B., Naylor, J.M. & Zello, G.A. (2005). D-lactate in human and ruminant metabolism, *Journal of Nutrition*, 135, 1619-1625.

Fraga, M.J., Ayala, P.P., Carabaño, R. & Blas, J.C. (1991). Effect of type of fiber on the rate of passage and on the contribution of soft feces to nutrient intake of finishing rabbits, *Journal of Animal Science*, 69, 1566-1574.

Gladden, L.B. (2004). Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium, *Journal of Physiology*, 558, 5-30.

Gore, D.C., Jahoor, F., Hibbert, J.M. & DeMaria, E.J. (1996). Lactic acidosis during sepsis is related to increased pyruvate production, not deficits in tissue oxygen availability, *Annals of Surgery*, 224, 97-102.

Gossett, K.A., Cleghorn, B. & Martin, G.S. (1987). Correlation between anion gap, blood l-lactate concentration and survival in horses, *Equine Veterinary Journal*, 19, 29-30.

Guyton, A.C. & Hall, J.E. (2003). Chapter 72, Energetic and metabolic rate – adenosine triphosphate function as an energy currency in metabolism. In textbook of medical physiology, 11<sup>th</sup> Edition, 881-883. Philadelphia: Elsevier – Saunders.

Hagman, R., Reezigt, B.J., Ledin, H.B. & Karlstam, E. (2009). Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra, *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51(2), 1-9.

Hall, E.R. (1952). Investigation on the microbiology of cellulose utilization in domestic rabbits, *Journal of General Microbiology*, 7, 350-357.

Harcourt-Brown, F. (2002). Chapter 1 – Biological characteristics of the domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculi*). In Harcourt-Brown, F., *Textbook of rabbit medicine*, 1-18. Oxford: Butterworth-Heinemann.

Henderson, I.S.F., Franklin, R.P., Wilkins, P.A. & Boston, R.C. (2008). Association of hyperlactatemia with age, diagnosis, and survival in equine neonates, *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 18(5), 496-502.

Huckabee, W.E. (1961a). Abnormal resting blood lactate – I. the significance of hyperlactatemia in hospitalized patients, *American Journal of Medicine*, 30(6), 833-839.

Huckabee, W.E. (1961b). Abnormal resting blood lactate – II. lactic acidosis, *American Journal of Medicine*, 30(6), 840-848.

Hughes, D., Rozanski, E.R., Shofer, R.S., Laster, L.L. & Drobatz, K.J. (1999). Effect of sampling site, repeated sampling, pH, and Pco<sub>2</sub> on plasma lactate concentration in healthy dogs, *American Journal of Veterinary Research*, 60(4), 521-524.

Jackson, E.V., Wiese, J., Sigal, B., Miller, J., Bernstein, W., Kassel, D., Aduen, J., Bhatiani, A., Kerzner, R., Davidson, L., Miller, C. & Chernow, B. (1997). Effects of crystalloid solutions on circulating lactate concentrations: part 1 – implications for the proper handling of blood specimens obtained from critically ill patients, *Critical Care Medicine*, 25(11), 1840-1846.

James, J.H., Luchette, F.A., McCarter, F.D. & Fischer, J.E. (1999). Lactate is an unreliable indicator of tissue hypoxia in injury or sepsis, *The Lancet*, 354, 505-508.

Jansen, T.C., Bommel, J.V., Bakker, J. & Bakker, J. (2009). Blood lactate monitoring in critically ill patients: a systematic health technology assessment, *Critical Care Medicine*, 37(10), 2827-2838.

Jordan, G.W., Statland, B. & Halsted, C. (1983). CSF lactate in diseases of the CNS, *Archives of Internal Medicine*, 143, 85-87.

Karagiannis, M.H., Reniker, A.N., Kerl, M.E. & Mann F.A. (2006). Lactate measurement as an indicator of perfusion, *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 28(4), 287-298.

Kovacic, J.P. (2009). Chapter 60 – Lactic acidosis. In Silverstein, D.C. & Hopper, K., *Small animal critical care medicine*, 254-257. Canada: Saunders Elsevier.

Kruse, J.A. (2002). Chapter 18 – blood lactate concentration in sepsis. In Vincente, J.L., Carlet, J. & Opal, S.M., *The sepsis text*, 323-338. USA: Kluwer Academic Publishers.

Lagutchik, M.S., Ogilvie, G.K., Hackett, T.B. & Wingfield, W.E. (1998). Increased lactate concentrations in ill and injured dogs, *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 8(2), 117-127.

Levrant, J., Ichai, C., Petit, I., Ciebiera, J.P., Perus, O. & Grimaud, D. (2003). Low exogenous lactate clearance as an early predictor of mortality in normolactatemic critically ill septic patients, *Critical Care Medicine*, 31(3), 705-710.

Levy, B., Gibot, S., Franck, P., Cravoisy, A. & Bollaert, P.E. (2005). Relation between muscle Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> ATPase activity and raised lactate concentrations in septic shock: a prospective study, *Lancet*, 365(5), 871-875.

Luft, F.C. (2001). Lactic acidosis update for critical care clinicians, *Journal of the American Society of Nephrology*, 12, s15-s19.

Mathews, K.A. (2006). Chapter 62 – Lactate. In *Veterinary Emergency and Critical Care Manual*, 2<sup>nd</sup> Edition. United Kingdom: Lifelearn.

Marty, J. & Vernay, M. (1984). Absorption and metabolism of the volatile fatty acids in the hind-gut of the rabbit, *British Journal of Nutrition*, 51, 265-277.

McMichael, M.A., Lees, G.E., Hennessey, J., Sanders, M. & Boggess, M. (2005). Serial plasma lactate concentrations in 68 puppies aged 4 to 80 days, *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 15, 17-21.

Meakins, J. & Long, C.N.H. (1927). Oxygen consumption, oxygen debt and lactic acid in circulatory failure, *Journal of Clinic Investigation*. 4, 273-293.

Mellema, M. (2001). Cardiac output, wedge pressure and oxygen delivery, *The Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice – Critical Care: Cardiovascular focus*, 31(6), 1175-1205.

Meregalli, A., Oliveira, R. P. & Friedman, G. (2004). Occult hypoperfusion is associated with increased mortality in hemodynamically stable, high-risk, surgical patients, *Critical Care*, 8(2), r60-r65.

Mizock, B.A. & Falk, J.L. (1992). Lactic acidosis in critical illness, *Critical Care Medicine*, 20(1), 80-91.

Monnet, E. (2009). Chapter 148 – Postthoracotomy management. In Silverstein, D.C. & Hopper, K., *Small animal critical care medicine*, 642-644. Canada: Saunders Elsevier.

Moore, J.N., Owen, R. & Lumsden, J.H. (1976). Clinical evaluation of blood lactate levels in equine colic, *Equine Veterinary Journal*, 8(2), 49-54.

Nel, M., Lobetti, R.G., Keller, N. & Thompson, P.N. (2004). Prognostic value of blood lactate, blood glucose, and hematocrit in canine babesiosis, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18, 471-476.

Nguyen, H.B., Rivers, E.P., Knoblich, B.P., Jacobsen, G., Muzzin, A., Ressler, J.A. & Tomlanovich, M.C. (2004). Early lactate clearance is associated with improved outcome in severe sepsis and septic shock, *Critical Care Medicine*, 32(8), 1637-1642.

Nichol, A.D., Egi, M., Pettila, V., Bellomo, R., French, C., Hart, G., Davies, A., Stachowski, E., Reade, M.C., Bailey, M. & Cooper, D.J. (2010). Relative hyperlactatemia and hospital mortality in critically ill patients: a retrospective multi-centre study, *Critical Care*, 14(r25).

Paixão, N. (2004). Monitorização cardio-respiratória na unidade de cuidados intensivos (UCI), Grupo de Especialistas en cardiologia y aparato respiratorio – GECAR, Barcelona: AVEPA.

Pang, D.S. & Boysen, S. (2007). Lactate in veterinary critical care: Pathophysiology and management, *Journal of the American Animal Hospital Association*, 43, 270-279.

Papp, E., Drobatz, K.J. & Hughes, D. (1999). Plasma lactate concentration as a predictor of gastric necrosis and survival among dogs with gastric dilatation-volvulus: 102 cases (1995-1998), *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 215, 49-52.

Parker, D.S. & McMillan, R.T. (1976). The determination of volatile fatty acids in the caecum of the conscious rabbit, *British Journal of Nutrition*, 35, 365-371.

Petrie, A. & Watson, P. (2006). Chapter 2 – Descriptive statistics. In *Statistics for veterinary and animal science*, second edition. Oxford: Blackwell Publishing.

Pittard, A.J. (1999). Does blood lactate measurement have a role in the management of the critically ill patient?, *Annals of Clinical Biochemistry*, 36, 401-407.

Quesenberry, K.E. & Carpenter, J.W. (2004). *Ferrets, rabbits, and rodents – clinical medicine and surgery*, second edition, USA: Saunders.

Rabelo, R.C. & Arnold, C.F. (2007). RICO score – parâmetros clínico-laboratoriais de cães atendidos em sala de urgência (HV – universidade complutense de Madrid) e associação prognóstica com sobrevivência às 24 horas, 7 dias e 28 dias, *Acta Scientiae Veterinariae*, 35(s2), s686-s688.

Rand, J.S., Kinnaird, E., Baglioni, A., Blackshaw, J. & Priest, J. (2002). Acute stress hyperglycemia in cats is associated with struggling and increased concentrations of lactate and norepinephrine, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16, 123-132.

Savigny, M. (2006). Measuring blood lactate levels, *Veterinary Technician*, 27.

Shapiro, N.I., Howell, M.D., Talmor, D., Nathanson, L.A., Lisbon, A., Wolfe, R.E. & Weiss, J.W. (2005). Serum lactate as a predictor of mortality in emergency department patients with infection, *Annals of Emergency Medicine*, 45(5), 524-528.

Stacpoole, P.W., Wright, E.C., Baumgartner, T.G., Bersin, R.M., Buchalter, S., Curry, S.H., Duncan, C., Harman, E.M., Henderson, G.N., Jenkinson, S., Lachin, J.M., Lorenz, A., Schneider, S.H., Siegel, J.H., Summer, W.R., Thompson, D., Wolfe, C.L. & Zorovich, B. (1994). Natural history and course of acquired lactic acidosis in adults, *The American Journal of Medicine*, 97, 47-53.

Stämpfli, H. (2005). D-lactate metabolism and the clinical signs of D-lactataemia in calves, *The Veterinary Record*, 156(18), 816.

Sullivan, L.A., Campbell, V.L., Klopp, L.S. & Rao, S. (2009). Blood lactate concentrations in anesthetized dogs with intracranial disease, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23, 488-492.

Tappy, L. & Chioléro, R. (2007). Substrate utilization in sepsis and multiple organ failure, *Critical Care Medicine*, 35(s19), s531-534.

Tennent-Brown, B.S., Wilkins, P.A., Lindborg, S., Russell, G. & Boston, R.C. (2007). Assessment of a point-of-care lactate monitor in emergency admissions of adult horses to a referral hospital, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21, 1090-1098.

Tennent-Brown, B.S., Wilkins, P.A., Lindborg, S., Russell, G. & Boston, R.C. (2010). Sequential plasma lactate concentrations as prognostic indicators in adult equine emergencies, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24, 198-205.

Theye, R.A. (1971). Effects of halothane, anoxia, and hemorrhage upon canine whole-body, skeletal muscle, and splanchnic excess lactate production, *Anesthesiology*, 35(4), 394-400.

Toffaletti, J., Hammes, M.E., Gray, R., Lineberry, B. & Abrams, B. (1992), Lactate Measured in diluted and undiluted whole blood and plasma: comparison of methods and effect of hematocrit, *Clinical Chemistry*, 38(12), 2430-2434.

Trzeciak, S., Dellinger, R.P., Chansky, M.E., Arnold, R.C., Schorr, C., Milcarek, B., Hollenberg, S.M. & Parrillo, J.E. (2007). Serum lactate as a predictor of mortality in patients with infection, *Intensive Care Medicine*, 33, 970-977.

Tuchschmidt, J., Oblitas, D. & Fried, J.C. (1991). Oxygen consumption in sepsis and septic shock, *Critical Care Medicine*, 19(5), 664-671.

Valenza, F., Aletti, G., Fossali, T., Chevillard, G., Sacconi, F., Irace, M. & Gattinoni, L. (2005). Lactate as a marker of energy failure in critically ill patients: hypothesis, *Critical Care*, 9(6), 588-593.

Vernay, M. (1987). Origin and utilization of volatile fatty acids and lactate in the rabbit: influence of the faecal excretion pattern, *British Journal of Nutrition*, 57, 371-381.

Ward, M.L. (2006). Chapter 2 – Physical examination and clinical techniques. In Meredith, A. & Flecknell, P., *BSAVA Manual of Rabbit Medicine and Surgery*, Second edition, 18-36. Englands: British Small Animal Veterinary Association.

Weil, M.H. & Afifi, A.A. (1970). Experimental and clinical studies on lactate and pyruvate as indicators of the severity of acute circulatory failure (shock), *Circulation*, 41(6), 989-1001.

Wiese, J., Didwania, A., Kerzner, R. & Chernow, B. (1997). Use of different anticoagulants in tesr tubes for analysis of blood lactate concentrations: part 2 – implications for the proper handling of blood specimens obtained from critically ill patients, *Critical Care Medicine*, 25(11), 1847-1850.

Wotman, K., Wilkins, P.A., Palmer, J.E. & Boston, R.C. (2009). Association of blood lactate concentration and outcome in foals, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23, 598-605.

# ANEXOS

**Anexo 1.** Lista de espécies observadas durante o estágio (número e frequência relativa)

<b>Espécie</b>	<b>(Nº)</b>	<b>(%)</b>
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	941	18,75%
<i>Psittacus erithacus erithacus</i>	590	11,76%
<i>Melopsittacus undulatus</i>	398	7,93%
<i>Mustela putorius furo</i>	378	7,53%
<i>Serinus canaria</i>	296	5,90%
<i>Chinchila lanigera</i>	206	4,10%
<i>Cavia porcellus</i>	206	4,10%
<i>Nymphicus hollandicus</i>	200	3,98%
<i>Agapornis fischeri</i>	130	2,59%
<i>Trachemys scripta</i>	120	2,39%
<i>Agapornis personata</i>	101	2,01%
<i>Amazona aestiva</i>	73	1,45%
<i>Meriones unguiculatus</i>	67	1,33%
<i>Agapornis roseicollis</i>	66	1,32%
<i>Amazona amazónica</i>	63	1,26%
<i>Amazona panamensis</i>	55	1,10%
<i>Phodopus sungorus</i>	50	1,00%
<i>Iguana iguana</i>	49	0,98%
<i>Cyanoliseus patagonus</i>	47	0,94%
<i>Myiopsitta monachus</i>	44	0,88%
<i>Ara ararauna</i>	42	0,84%
<i>Rattus norvegicus</i>	40	0,80%
<i>Pogona vitticeps</i>	38	0,76%
<i>Amazona ochrocephala</i>	37	0,74%
<i>Agrionemys horsfieldii</i>	35	0,70%
<i>Passer domesticus</i>	31	0,62%
<i>Atelerix albiventris</i>	30	0,60%
<i>Aratinga wagleri</i>	30	0,60%
<i>Eclectus roratus</i>	30	0,60%
<i>Tamias sibirinus</i>	26	0,52%
<i>Testudo graeca</i>	26	0,52%
<i>Testudo marginata</i>	23	0,46%
<i>Sus scrofa</i>	18	0,36%
<i>Furcifer pardalis</i>	18	0,36%
<i>Pionites leucogaster</i>	17	0,34%
<i>Alectoris rufa</i>	15	0,30%
<i>Poicephalus senegalus</i>	15	0,30%
<i>Mesocricetus auratus</i>	14	0,28%
<i>Chloebia gouldiae</i>	14	0,28%
<i>Mauremys leprosa</i>	14	0,28%
<i>Eublepharis macularius</i>	14	0,28%
<i>Carduelis carduelis</i>	12	0,24%
<i>Pyrrhura molinae</i>	12	0,24%
<i>Ara macao</i>	10	0,20%
<i>Aratinga solstitialis</i>	10	0,20%
<i>Columba livia</i>	10	0,20%
<i>Agapornis nigrigenis</i>	9	0,18%
<i>Testudo hermanni</i>	9	0,18%
<i>Python molurus</i>	9	0,18%
<i>Ara chloroptera</i>	8	0,16%
<i>Agapornis lilianae</i>	8	0,16%

**Anexo 1. (continuação)** Lista de espécies observadas durante o estágio (número e frequência relativa)

<i>Poephila guttata</i>	8	0,16%
<i>Anodorhynchus hyacinthinus</i>	8	0,16%
<i>Nandayus nanday</i>	8	0,16%
<i>Camaleo calypttratus</i>	8	0,16%
<i>Cacatua galerita</i>	7	0,14%
<i>Amazona autumnalis</i>	7	0,14%
<i>Carduelis chloris</i>	7	0,14%
<i>Apalone ferox</i>	7	0,14%
<i>Geochelone elegans</i>	7	0,14%
<i>Callitrix jacchus</i>	6	0,12%
<i>Cynomys ludovicianus</i>	6	0,12%
<i>Aratinga acuticaudata</i>	6	0,12%
<i>Aratinga mitrata</i>	6	0,12%
<i>Falco rusticolus</i>	6	0,12%
<i>Platycercus eximius</i>	6	0,12%
<i>Spermophilus richardsoni</i>	5	0,10%
<i>Mus musculus</i>	5	0,10%
<i>Cacatua alba</i>	5	0,10%
<i>Amazona leucocephala</i>	5	0,10%
<i>Amazona auropalliata</i>	5	0,10%
<i>Amazona barbadensis</i>	5	0,10%
<i>Ara glaucogularis</i>	5	0,10%
<i>Meleagris gallopavo</i>	5	0,10%
<i>Streptopelia decaocto</i>	5	0,10%
<i>Camaleo melleri</i>	5	0,10%
<i>Rhacodactylus ciliatus</i>	5	0,10%
<i>Petaurus breviceps</i>	4	0,08%
<i>Miopithecus ogouensis</i>	4	0,08%
<i>Lepus europeus</i>	4	0,08%
<i>Pionites melanocephala</i>	4	0,08%
<i>Amazona oratrix</i>	4	0,08%
<i>Aratinga jandaya</i>	4	0,08%
<i>Psittacula krameri</i>	4	0,08%
<i>Cyanoramphus novaezelandiae</i>	4	0,08%
<i>Neophema splendida</i>	4	0,08%
<i>Geochelone carbonaria</i>	4	0,08%
<i>Stigmochelys pardalis</i>	4	0,08%
<i>Centrochelys sulcata</i>	4	0,08%
<i>Physignathus cocincinus</i>	4	0,08%
<i>Lampropeltis getulus</i>	4	0,08%
<i>Spermophilus tridecemlineatus</i>	3	0,06%
<i>Pionus menstruus</i>	3	0,06%
<i>Cacatua leadbeateri</i>	3	0,06%
<i>Cacatua moluccensis</i>	3	0,06%
<i>Orthopsittaca manilata</i>	3	0,06%
<i>Trichoglossus haematodus</i>	3	0,06%
<i>Anolis carolinensis</i>	3	0,06%
<i>Graptemys pseudogeographica</i>	3	0,06%
<i>Astrochelys radiata</i>	3	0,06%
<i>Basiliscus plumifrons</i>	3	0,06%
<i>Chelydra serpentina</i>	3	0,06%
<i>Ceratophrys cranwelli</i>	3	0,06%

**Anexo 1. (continuação)** Lista de espécies observadas durante o estágio (número e frequência relativa)

<i>Bombina orientalis</i>	3	0,06%
<i>Macaca mulatta</i>	2	0,04%
<i>Poephila acuticauda</i>	2	0,04%
<i>Bolborhynchus lineola</i>	2	0,04%
<i>Falco sparverius</i>	2	0,04%
<i>Pica pica</i>	2	0,04%
<i>Pyrrhura egrégia</i>	2	0,04%
<i>Platycercus elegans</i>	2	0,04%
<i>Primolius maracana</i>	2	0,04%
<i>Primolius couloni</i>	2	0,04%
<i>Euplectes afer</i>	2	0,04%
<i>Forpus coelestis</i>	2	0,04%
<i>Parabuteo unicinctus</i>	2	0,04%
<i>Psephotus haematonotus</i>	2	0,04%
<i>Psephotus varius</i>	2	0,04%
<i>Eolophus roseicapillus</i>	2	0,04%
<i>Amadina fasciata</i>	2	0,04%
<i>Epicrates cenchria</i>	2	0,04%
<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	1	0,02%
<i>Octodon degus</i>	1	0,02%
<i>Phodopus roborovski</i>	1	0,02%
<i>Amazona farinosa</i>	1	0,02%
<i>Ara catalina</i>	1	0,02%
<i>Ara militaris</i>	1	0,02%
<i>Aratinga finschi</i>	1	0,02%
<i>Passer montanus</i>	1	0,02%
<i>Falco peregrinus</i>	1	0,02%
<i>Psittacus erithacus timneh</i>	1	0,02%
<i>Pyrrhura rupicola</i>	1	0,02%
<i>Serinus serinus</i>	1	0,02%
<i>Amazona viridigenalis</i>	1	0,02%
<i>Tyto alba</i>	1	0,02%
<i>Lorius garrulus</i>	1	0,02%
<i>Diopsittaca nobilis</i>	1	0,02%
<i>Probosciger aterrimus</i>	1	0,02%
<i>Polytelis swainsonii</i>	1	0,02%
<i>Sturnus vulgaris</i>	1	0,02%
<i>Padda oryzivora</i>	1	0,02%
<i>Terrapene carolina</i>	1	0,02%
<i>Boa constrictor</i>	1	0,02%
<i>Alligator sinensis</i>	1	0,02%
<i>Pseudemys floridana</i>	1	0,02%
<i>Cyprinus carpio</i>	1	0,02%
<i>Triturus vulgaris</i>	1	0,02%
<i>Ambystoma mexicanum</i>	1	0,02%
<i>Dendrobates azureus</i>	1	0,02%
Total	5019	