

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

DOENÇAS DE CHINCHILAS (*Chinchilla lanigera*)

TESE DE DOUTORADO

Ricardo Barbosa de Lucena

**Santa Maria, RS, Brasil
2012**

DOENÇAS DE CHINCHILAS (*Chinchilla lanigera*)

por

Ricardo Barbosa de Lucena

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Medicina Veterinária**

Orientador: Prof. Claudio Severo Lombardo de Barros

Santa Maria, RS, Brasil.
2012

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Tese de Doutorado

DOENÇAS DE CHINCHILAS (*Chinchilla lanigera*)

Elaborada por
Ricardo Barbosa de Lucena

Como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Medicina Veterinária

COMISSÃO EXAMINADORA

Claudio Severo Lombardo de Barros, PhD
(presidente, orientador)

Ana Lucia Schild, Dra. (UFPeI)

Eliza Simone Viégas Sallis, Dra. (UFPeI)

Margarida Buss Raffi, Dra. (UFPEL)

Rafael Almeida Fighera, Dr. (UFMS)

Santa Maria, 09 de março de 2012.

RESUMO

Tese de Doutorado

Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária

Universidade Federal de Santa Maria

DOENÇAS DE CHINCHILAS (*Chinchilla lanigera*)

AUTOR: RICARDO BARBOSA DE LUCENA

ORIENTADOR: CLAUDIO SEVERO LOMBARDO DE BARROS

Santa Maria, 09 de março de 2012.

As doenças de chinchilas foram estudadas através da avaliação de laudos de necropsia entre janeiro de 1997 e dezembro de 2011. Em 202 chinchilas necropsiadas, 189 (93,5%) tiveram o diagnóstico determinado, e 13 (6,5%) tiveram diagnóstico inconclusivo, por ausência de lesões ou autólise acentuada. Dentre as 202 chinchilas computadas, 162 eram fêmeas (80%), 37 eram machos (18%), e em quatro chinchilas (2%) o sexo não foi anotado. As chinchilas tinham entre um dia a 12 anos de idade. As doenças foram agrupadas nas seguintes categorias: doenças inflamatórias, doenças causadas por intoxicações, doenças causadas por agentes físicos, doenças metabólicas, doenças parasitárias, doenças degenerativas, distúrbios circulatórios, neoplasmas, distúrbios do desenvolvimento e “outros distúrbios”. As doenças inflamatórias foram as mais prevalentes (52 casos [25,7%]) e foram representadas por casos de gastrite (10 casos), enterite necrosante (6 casos), septicemia (5 casos), listeriose (5 casos), broncopneumonia bacteriana (4 casos), piometra (4 casos), diarreia com isolamento de *Proteus* sp. (3 casos), abscessos subcutâneos e em linfonodos (2 casos), endometrite (2 casos), otite (2 casos), pielonefrite (2 casos), abscesso do ligamento redondo do fígado (1 caso), pneumonia fibrinosa (1 caso), pneumonia intersticial (1 caso), hepatite e colecistite com isolamento de *Salmonella* sp. (1 caso), histiocitose pulmonar (1 caso), miosite linfo-histiocítica (1 caso) e um caso de dermatofitose (*Trichopyton mentagrophytes*). O segundo grupo de doenças mais prevalentes foram as intoxicações (22,3%), representado por 45 casos de intoxicação por salinomicina. As doenças causadas por agentes físicos (21 casos [10,4%]) incluíam casos de traumas causados por outros animais (8 casos), automutilação

após injeção intramuscular (8 casos), prolapso de reto (3 casos) e parto distócico (2 casos). A categoria de doenças metabólicas foi representada por 16 casos (7,9%) de lipidose hepática. As doenças parasitárias (8 casos [4%]) consistiram em infestação por pulga (4 casos), piolho (3 casos) e giardíase (1 caso). Doenças degenerativas (5 casos [2,5%]) incluíam insuficiência renal crônica (2 casos), necrose aleatória de hepatócitos (1 caso) e necrose muscular de origem desconhecida (1 caso). Os distúrbios circulatórios incluíram dois casos (0,99%) de insuficiência cardíaca congestiva. Neoplasmas foram representados por dois casos (0,99%) de adenocarcinoma gástrico. Um caso de *atresia ani*, associado a ausência do trato reprodutor, intestino grosso e rins policísticos representou a categoria de distúrbios do desenvolvimento (0,5%). Algumas doenças não se enquadraram nas categorias acima e foram enquadradas em “outros distúrbios” (38 casos [18,8%]). Nesta categoria, doenças dentárias foi o distúrbio mais comum, diagnosticado em 9% (18 de 202) de todas as chinchilas examinadas. Seguido por casos de hipertermia (14 casos), dois casos de anemia, dois casos de metaplasia de células adiposas do córtex da adrenal, e dois casos de mucometra.

Palavras-chave: doenças de chinchilas, causas de morte, estudo retrospectivo, estudo prospectivo, epidemiologia, patologia.

ABSTRACT

Doctoral Thesis

Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária

Universidade Federal de Santa Maria

DISEASES OF CHINCHILLAS (*Chinchilla lanigera*)

AUTHOR: RICARDO BARBOSA DE LUCENA

ADVISER: CLAUDIO SEVERO LOMBARDO DE BARROS

Santa Maria, March 9th 2012.

Diseases of chinchilla were studied through the review of necropsy reports of 202 postmortem examination carried out in this species from January 1997 to December 2011. One hundred and eighty nine of these necropsies (93.5%) had a conclusive diagnosis and in 13 (6.5%) a conclusive diagnosis was not reached due either absence of lesions or advanced autolysis. One hundred and sixty two (80%) of the necropsied chinchilla were females and 37 (18%) were males and the sex was not recorded in four cases (2%). Ages of necropsied chinchillas varied from one day to 12-years-old. The encountered diseases were grouped in the following categories: inflammatory diseases, diseases caused by intoxications, diseases caused by physical agents, metabolic diseases, parasitism, degenerative diseases, circulatory disturbances, developmental disorders and “other disorders”. Inflammatory diseases were the most prevalent (52 cases [25.7%]) and included gastritis (10 cases), necrotizing enteritis (6 cases), septicemia (5 cases), listeriosis (5 cases), bacterial bronchopneumonia (4 cases), pyometra (4 cases), diarrhea associated with *Proteus* sp. (3 cases), subcutaneous and lymph node abscesses (2 cases), endometritis (2 cases), otitis (2 cases), pyelonephritis (2 cases), abscesses in hepatic the round ligament (1 cases), fibrinous pneumonia (1 case), interstitial pneumonia (1 case), hepatitis and cholecystitis associated with *Salmonella* sp. (1 case), pulmonary histiocytosis (1 case), lymphohistiocytic miositis (1 case), and dermatophytosis by *Trichopyton mentagrophytes* (1 case). The second most prevalent group of diseases was that caused by intoxications (22,3% of the cases) including 45 cases of intoxication by salinomycin. Diseases caused by physical agents (21 cases [10.4%]) included trauma cases caused by other animals (8 cases), self mutilation secondary to intramuscular injection (8

cases), rectal prolapsed (3 cases) and dystocia (2 cases). Metabolic diseases were represented by 16 cases (7.9%) of hepatic lipidosis. Parasitic diseases were represented by 8 cases (4%) flea (4 cases) lice (4 cases) infestations and one case of giardiasis. Five cases (2.5%). Degenerative diseases (5 cases or 2.5%) included two cases of chronic renal failure, one case of scattered hepatocellular necrosis and one case of muscle necrosis of unknown origin. Circulatory disturbances included two cases (0.99%) of congestive heart failure. Neoplasms were represented by two cases (0.99%) of gastric adenocarcinoma. Developmental disorders included one (0.5%) case of *atresia ani* associated with polycystic kidneys and absence of reproductive tract and large intestine. Thirty eight cases (18.8%) did not fit in any of the above categories and were placed as “other disorders”. In this category dental disease was the most commonly (8 cases or 9%) diagnosed disorder, followed by 14 cases of hyperthermia, two cases of anemia, two cases of fat metaplasia of adrenal cortex and two cases of mucometra.

Keywords: chinchilla, causes of death, retrospective study, prospective study, epidemiology, pathology.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 CAPÍTULO 1. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Chinchilas	12
2.1.1 Chinchilas em vida livre	12
2.1.2 Chinchilas em cativeiro.....	13
2.1.3 Anatomia e fisiologia geral das chinchilas.....	14
2.1.4 Dieta das chinchilas.....	14
2.2 Doenças de chinchilas	15
2.2.1 Doença dentária.....	15
2.2.2 Constipação.....	15
2.2.3 Diarreia.....	16
2.2.4 Distúrbios reprodutivos.....	16
2.2.5 Infecções bacterianas.....	16
2.2.6 Infecções parasitárias.....	16
2.2.7 Infecção viral.....	17
2.2.8 Infecções fúngicas.....	18
2.2.9 Hipertermia.....	18
2.2.10 Neoplasia.....	18
2.3 Chinchilas como modelo experimental	19
3 CAPÍTULO 2. Doenças de chinchilas (<i>Chinchilla lanigera</i>)	20
4 CAPÍTULO 3. Surtos de intoxicação por salinomicina em chinchilas (<i>Chinchilla lanigera</i>)	39
5 CAPÍTULO 4. Necrotizing enteritis associated with <i>Clostridium perfringens</i> Type B in chinchillas (<i>Chinchilla lanigera</i>)	47

6	CAPÍTULO 5. Gastrite crônica e metaplasia intestinal em chinchilas naturalmente infectadas por <i>Helicobacter</i> spp.....	52
7	CAPÍTULO 6. Infiltrative gastric adenocarcinoma in a chinchilla (<i>Chinchilla lanigera</i>) naturally infected by <i>Helicobacter pylori</i>	70
8	CAPÍTULO 7. Conjuntivite bacteriana secundária à doença dentária em chinchilas (<i>Chinchilla lanigera</i>).....	83
9	DISCUSSÃO	91
10	CONSIDERAÇÕES FINAIS	94
11	REFERÊNCIAS	95

1 INTRODUÇÃO

Chinchilas são roedores de porte médio, de hábitos noturnos, originários das altas montanhas andinas da América do Sul (BOONE, 1933; BIDLINGMAIER, 1937). A domesticação da espécie se deu principalmente pelo interesse em produzir peles em escala comercial e pela escassez de animais de vida livre para esse fim. Atualmente há milhões de chinchilas criadas em cativeiro por todo o mundo. Embora as chinchilas tenham sido originalmente domesticadas para produção de pele, como ocorre até hoje, há também, considerável aumento de chinchilas criadas como animais de companhia e de laboratório (DONNELLY, 2003).

Estudos sobre as doenças de chinchilas são escassos e, na maioria das vezes, são repetições e revisões de literatura (DONNELLY, 2003). Os estudos retrospectivos e prospectivos das causas de morte nessa espécie são antigos e não há estudos sobre as enfermidades de chinchilas no Brasil. Na necropsia das chinchilas remetidas ao LPV têm sido observadas diversas lesões, responsáveis pela morte, ou apenas achados incidentais de necropsia. Pesquisas nos principais buscadores de indexação científica (Medline, Scopus, Scielo, CAB Abstracts) revelam que essas lesões muitas vezes não são descritas em chinchilas na literatura internacional ou alternativamente, fazem parte de descrições antigas e que precisam ser mais bem caracterizadas. A grande maioria dos artigos sobre chinchilas se refere ao estudo da espécie como modelo em pesquisas de audição devido o fácil acesso ao seu sistema auditivo, desde as grandes bulas timpânicas até as orelhas médias (NUNLEY; SMITH, 1976). Quando se procura por estudos patofisiológicos ou de manejo em chinchilas no Brasil, descobre-se que esses são ainda mais escassos e na maioria das vezes se resumem a *sites* ou *blogs* mantidos pelos próprios criadores, sem embasamento científico.

O Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) tem realizado vários estudos retrospectivos com o objetivo de compilar dados epidemiológicos e clínico-patológicos das enfermidades e causas de morte em diferentes espécies, e já foram publicados dados referentes às doenças de bovinos, cães, equinos e ovinos (LUCENA et al., 2010; RISSI et al., 2010a; PIEREZAN et al., 2009a; FIGHERA et al., 2008a). No entanto, não foram compilados ainda os dados referentes às doenças que afetam chinchilas na área de influência do LPV-UFSM. Os objetivos deste estudo foram relatar a frequência e as características epidemiológicas e clínico-patológicas das doenças de

chinchilas diagnosticadas no LPV-UFSM. Para isso foram consultados os arquivos do LPV-UFSM e compilados os dados referentes a todos os diagnósticos de doenças de chinchilas realizados entre 1997 e 2011 (15 anos). Os resultados desta Tese serão apresentados na forma de artigos científicos que já foram publicados ou estão em fase de publicação. Esses trabalhos descrevem os aspectos epidemiológicos e clínico-patológicos das principais doenças diagnosticadas no período estudado.

2 CAPÍTULO 1

Revisão de Literatura

2.1 Chinchilas

2.1.1 Chinchilas em vida livre

Chinchilas (*Chinchilla lanigera*) são mamíferos histricomorfos pertencentes à ordem Rodentia e família Chinchillidae, nativas dos Andes, com distribuição natural restrita ao Chile, Bolívia e Peru (BIDLINGMAIER, 1937). Adaptaram-se às baixas temperaturas encontradas na região de origem e adquiriram uma pele coberta por pelo excepcionalmente denso. Os filhotes nascem em avançado estágio de desenvolvimento, com os olhos abertos, ativos e com dentes funcionais (BOONE, 1933; BIDLINGMAIER, 1937; WALKER, 1975; BICKEL, 1987; BERESTOV; KOZHEVNIKOVA, 1989).

Originalmente são descritas duas espécies de chinchila, *C. lanigera* conhecida como chinchila chilena e *C. brevicaudata* conhecida como chinchila-de-cauda-curta ou chinchila boliviana (JIMINEZ, 1990). A espécie *C. brevicaudata* havia sido considerada extinta, e a última observação dessa espécie em estado selvagem datava de 1953 (RUDOLPH, 1955; JIMINEZ, 1996), porém há relatos de pequenos grupos habitando o Norte do Chile (CORTÉS et al., 2003). A chinchila chilena (*C. lanigera*) também anteriormente considerada extinta foi redescoberta no norte-central do Chile em 1975, formando duas pequenas populações (MOHLIS, 1983). Essa descoberta levou à criação da Reserva Nacional das Chinchilas em 1983 (JIMINEZ, 1990).

A alta qualidade da pele das chinchilas criou uma grande demanda por peles durante o século XIX (IRIATE; JASIC, 1986) e, em 1823, a caça às chinchilas tinha se tornado um negócio rentável, em que os atravessadores compravam as peles que os nativos obtinham da caça às chinchilas. Cada pele de chinchila valia mais do que um mês de salário de trabalho nas minas, a fonte de renda predominante nos Andes na época (BIDLINGMAIER, 1937; MILLER et al., 1983). Acredita-se que somente em 1900 foram abatidas em torno de dois milhões de chinchilas para obtenção de pele para exportação (JIMINEZ, 1994). Como os métodos tradicionais de captura tornaram-se inviáveis à medida que o número de chinchilas

foi decrescendo, os caçadores passaram a utilizar o fogo e explosivos para capturar os animais em seus delicados túneis subterrâneos. Por outro lado, a planta *Puya berteroniana*, fonte de alimentação e refugio para as chinchilas, também estava degradada devido ao fogo e à introdução de animais domésticos na região somando-se aos fatores para o declínio de chinchilas em seu *habitat* natural. Como consequência a população de chinchilas foi decrescendo até o seu quase completo desaparecimento (BIDLINGMAIER 1937, MILLER et al., 1983, WALKER 1975, JIMINEZ 1994). Atualmente as chinchilas selvagens que habitam a Reserva Nacional das Chinchilas no Chile estão listadas na “categoria um” das espécies ameaçadas de extinção pelo Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Flora and Fauna.

2.1.2 Chinchilas em cativeiro

A possibilidade da criação de chinchilas em cativeiro para obtenção de peles resultou na domesticação da espécie durante o século XX, mas antes disso, numerosas tentativas foram realizadas sem sucesso (BOONE, 1933; BIDLINGMAIER, 1937). O engenheiro americano Mathias Chapman foi o primeiro a conseguir reproduzir chinchilas em cativeiro. Doze chinchilas foram capturadas por ele em 1923 a uma altitude de aproximadamente 4.900 metros (BOONE, 1933; BOWEN; JENKINS, 1969). Onze sobreviveram e foram exportadas. Portanto, as chinchilas hoje criadas em cativeiro são oriundas do cruzamento de oito machos com três fêmeas, capturadas em 1923 por Chapman (BOONE, 1933). Na Califórnia, Chapman criou os animais de forma intensiva, conseguiu aumentar significativamente o número de matrizes e, em 1933 iniciou a primeira comercialização de pele de chinchilas criadas em cativeiro, apesar dos frequentes problemas dentários e outras doenças apresentadas pelos animais (BOONE, 1933). Ao longo dos anos, fazendas produtoras de peles foram se expandindo pelos Estados Unidos e Canadá, e animais de criação também foram exportados para a Europa, e outras partes do mundo (IRIATE; JASIC, 1986). Atualmente, a Argentina é o país com maior número de criadores e principal exportador de pele de chinchilas (AACC, 2011). O Brasil está entre os primeiros criadores e exportadores de peles de chinchilas (ACHILA, 2011). Embora as chinchilas tenham sido originalmente mantidas em cativeiro para produção de peles, o que continua acontecendo, observa-se considerável aumento na criação da espécie como animais de estimação e animais de laboratório (DONNELLY, 2003).

2.1.3 Anatomia e fisiologia geral das chinchilas

Acredita-se que a vida média das chinchilas de vida livre seja de curta duração (JIMENEZ, 1996), já as chinchilas mantidas em cativeiro vivem em média 10 anos ou mais, e algumas chegam a alcançar até 20 anos de idade (KLINE, 1977; RIEDSTRA, 1991; STRAKE et al., 1996). O peso vivo das chinchilas adultas criadas em cativeiro é de 400-800g; as fêmeas em geral, são em torno de 10% mais pesadas que os machos (WALKER, 1975; WEBB, 1991; HOEFER, 1994). As chinchilas selvagens tendem a ser mais leves, com os adultos pesando 400-500g (JIMENEZ, 1996).

As chinchilas demonstram diversas adaptações do formato anatomofisiológico básico dos roedores. Uma delas é a presença de bulas timpânicas excepcionalmente grandes que, em combinação com as grandes orelhas, contribuem para a sua audição extremamente sensível a baixas frequências. O sistema digestivo é adaptado para lidar com alimentos volumosos, com alto teor de fibra, e baixo valor energético (KENNEDY, 1952; STRAKE et al., 1996). O estômago e o ceco são relativamente grandes, com o ceco atuando como uma câmara de fermentação por meio de bactérias anaeróbicas. A absorção de nutrientes, além de ácidos graxos voláteis, é limitado ao intestino delgado, assim a coprofagia, comparável com a cecotrofia em coelhos, é necessária para que as chinchilas possam se beneficiar totalmente da digestão fecal das fibras vegetais (CHEN-PAN; FUJIWARA, 1989; EBINO, 1993; CÁCERES; BOZINOVIC, 1994).

2.1.4 Dieta das chinchilas

Estudos da dieta da população de chinchila que restam na vida selvagem através da observação e análise de resíduos fecais determinou que elas ingerem folhas, caules, cascas e sementes de uma variedade de plantas, dependendo da estação do ano (SERRA, 1978). No entanto, a planta puya-azul (*Puya berteroniana*), além de proporcionar abrigo, apresenta-se como uma proporção significativa da dieta ao longo do ano (SERRA, 1978; RODRIGUEZ, 1983). Poucas pesquisas foram realizadas sobre as exigências dietéticas de chinchilas em cativeiro. Consequentemente, as dietas têm sido largamente baseadas na extrapolação de dados relativos a animais de laboratório, incluindo ratos, cobaias e coelhos, e das preferências demonstradas por chinchilas quando foram oferecidos vários itens alimentares potenciais

(KENNEDY, 1952; HOEFER, 1994; STRAKE et al., 1996). Alimentação seletiva não fornece uma indicação da adequação de dietas, já que há uma tendência natural a escolher alimentos mais ricos em energia (VELOSO; BOZINOVIC, 1993). Baixa quantidade de fibras na alimentação induz sérios problemas intestinais, principalmente constipação do intestino grosso (COUSENS, 1963). Por conveniência, chinchilas de laboratório e de cativeiro, são tipicamente alimentadas com uma dieta peletizada, contendo grãos, alfafa e suplementada com vitaminas e minerais (BOWEN; JENKINS, 1969; KLINE, 1977). Isso geralmente é complementado com pequenas quantidades de feno para garantir uma ingestão adequada de fibras dietéticas.

2.2 Doenças de chinchilas

Devido à escassez de informações de dados clínicos, conhecimento da evolução dos sinais clínicos, diagnóstico e tratamento das doenças que acometem chinchilas, os livros-texto de medicina de chinchilas na maioria das vezes se baseiam no conhecimento e experiência com outras espécies de roedores exóticos semelhantes. As poucas informações sobre doenças espontâneas em chinchilas foram obtidas principalmente da experiência de campo com animais de laboratório (DONNELLY, 2003).

2.2.1 Doença dentária

Doença dentária é descrita como um dos principais problemas de saúde em roedores domésticos (CAPELLO, 2008). Esse problema é especialmente grave em chinchilas, resultando num complexo de sinais clínicos tanto primários relacionados à função dentária, quanto secundários, por interferir com outros órgãos e sistemas. Chinchilas acometidas por má oclusão dentária podem desenvolver timpanismo, constipação, anorexia e inanição, hipersalivação, perda dos pelos da região perioral, deformação do maxilar e, obstrução do canal lacrimal que resulta em epífora, abscedação retrobulbar e exoftalmia (CROSSLEY, 2001).

2.2.2 Constipação

Constipação é também um grave problema decorrente do fornecimento de alimentos pobres em fibras (COUSENS, 1963; DONNELLY, 2003). Em casos de constipação, as fezes aparecem mais escuras, ressecadas e disformes, muitas vezes estão alongadas ou mais estreitas, ocasionalmente com sangue (CROSSLEY, 2001; DONNELLY, 2003).

2.2.3 Diarreia

Diarreia é também um grave distúrbio gastrointestinal em chinchilas. Ocorre principalmente em chinchilas jovens acometidas com infecção por *Giardia*. Mudanças bruscas na alimentação também podem resultar em diarreia (DONNELLY, 2003; SAUNDERS, 2009).

2.2.4 Distúrbios reprodutivos

Distocia é o principal problema reprodutivo relatado em chinchilas. É usualmente associada com um ou mais fetos mal posicionados durante o parto. Obesidade da fêmea e perturbações durante o parto pode contribuir para a ocorrência de parto distócico (SAUNDERS, 2009).

2.2.5 Infecções bacterianas

Dentre as doenças infecciosas, a infecção por *Listeria monocytogenes* é descrita como um importante problema em criadouros comerciais de chinchila (DONNELLY, 2003; SAUNDERS, 2009). Ocorre na forma de surtos ou em casos isolados e tem baixa ocorrência em chinchilas criadas como animais de companhia (DONNELLY, 2003). Bactérias também responsáveis por doença grave e morte em chinchilas incluem as do gênero *Yersinia*, *Klebsiella*, *Salmonella* e *Proteus*. Outras bactérias como *Bordetella* spp., *Streptococcus* spp. e *Pasteurella* spp. são frequentemente isoladas de chinchilas acometidas por pneumonia (DONNELLY, 2003; SAUNDERS, 2009).

2.2.6 Infecções parasitárias

Há descrições antigas de toxoplasmose em chinchilas comerciais (KEAGY, 1949). As lesões consistiam em aumento do baço e linfonodos mesentéricos e hemorragia nos pulmões. Outro estudo relata a ocorrência de infecção concomitante de *Frenkelia* spp. e *Toxoplasma gondii* em duas chinchilas com grave quadro de encefalite (MEINGASSNER; BURTSCHER, 1977). Espécies de *Giardia* são normalmente encontradas no intestino de chinchilas e o papel desse agente como causa de doença é difícil de estabelecer, devido ser encontrado em chinchilas doentes e saudáveis (BOWDEN 1959, DONNELLY 2003). Estresse e más condições do ambiente têm sido relacionados a aumento do número do parasita, resultando em diarreia e morte. O diagnóstico de giardíase deve ser considerado quando há quadro de diarreia associado à presença do protozoário em grande número, e exclusão de outro agente causador. Os sinais clínicos de giardíase inclui uma sequência cíclica de perda do apetite e diarreia com emagrecimento e pelos sem brilho (DONNELLY, 2003). A infecção por *Cryptosporidium* spp. também foi descrita como causa de grave quadro de diarreia e morte em uma chinchila (YAMINI; RAJU, 1986).

Surtos de nematodíases causadas pelo ascarídeo *Baylisascaris procyonis* tem sido relatados em chinchilas no Canadá (SANFORD, 1991). As chinchilas afetadas por este nematódeo desenvolvem torcicolo, incoordenação, paralisia, e decúbito. Os surtos foram associados ao uso de feno contaminado por fezes de procionídeos.

Chinchilas podem servir de hospedeiros intermediários para cestódeos incluindo *Taenia serialis*, *Taenia psiformes*, *Echinococcus granulosus*, e *Hymenolepis nana*. Os relatos ocorreram na década de 1950, possivelmente os casos de infecção ocorreram em chinchilas que ingeriram ração contaminada por fezes de cães (GORHAM; FARRELL, 1955). Uma descrição recente descreve a observação de mais de 600 cistos de *Taenia crassiceps* na cavidade abdominal de uma chinchila *pet* importada da Holanda para o Japão (KUGI et al., 1999).

2.2.7 Infecção viral

Chinchilas também são susceptíveis a infecção por herpesvírus humano 1 e, alguns casos de encefalite grave causados por esse vírus têm sido relatados (WOHLSEIN et al.,

2002; SAUNDERS 2009). Os animais desenvolvem quadro de conjuntivite que posteriormente progride para sinais neurológicos caracterizados por desorientação, decúbito, e apatia. Histologicamente, observam-se meningite e polioencefalite não-supurativa com necrose neuronal e corpúsculos de inclusão intranuclear. Em ambos os olhos foi observado ceratite ulcerativa, uveíte, retinite e degeneração da retina. Os sinais clínicos, a distribuição das lesões, e o antígeno viral sugeriu infecção ocular primária com subsequente envolvimento do sistema nervoso central.

2.2.8 Infecções fúngicas

Infecções fúngicas são descritas em chinchilas mantidas em ambientes úmidos e com pouca ventilação, porém têm menor ocorrência se comparadas às infecções bacterianas (DONNELLY, 2003; SAUNDERS, 2009). Dermatofitose, predominantemente causada por *Trichophyton mentagrophytes* é a infecção fúngica mais frequente. *Microsporium canis* e *M. gypsum* também têm sido isolados da pele de chinchilas (SAUNDERS, 2009).

2.2.9 Hipertermia

Exposição a altas temperaturas, especialmente em ambientes com alta umidade, pode resultar em hipertermia e considerável mortandade em chinchilas. A zona de conforto está entre 18,3°C a 26,7°C; quando a temperatura ambiental ultrapassa muito o limiar superior os animais entram em decúbito e apresentam respiração acelerada; mucosas vermelhas que passam à cianóticas; hipersalivação viscosa e, às vezes, diarreia com sangue. A temperatura retal usualmente ultrapassa os 39,4°C (DONNELLY, 2003).

2.2.10 Neoplasia

Apesar do longo tempo de vida das chinchilas (até 20 anos) em comparação com outros roedores, as referências da ocorrência de neoplasmas nesta espécie é raramente relatada (DONNELLY, 2003). Tumores, como neuroblastoma, carcinoma, lipoma e hemangioma foram listados no *Annual Reports of the San Diego County Livestock Department* em 1950

(*apud* DONNELLY, 2003). Outro relato de 1953 descreveu um linfoma maligno em uma chinchila (NEWBERNE; SEIBOLD, 1953) e outro, em 1963, descreveu um carcinoma hepático (NOBEL; NEUMANN, 1963). Uma revisão de 5 anos dos protocolos de necropsia de chinchilas submetidas ao *Animal Medical Center* de Nova York, revelou apenas um diagnóstico de leiomiossarcoma uterino como achado incidental em uma chinchila com sinais neurológicos decorrente de otite média crônica; não havia metástases associadas ao tumor (GREENACRE, 2004). Um estudo retrospectivo de 35 anos de exames de chinchilas apresentadas ao Colégio de Medicina Veterinária da Universidade do Tennessee contabilizou dois casos de neoplasia: linfossarcoma e adenocarcinoma do pulmão (GREENACRE, 2004). Na última década foi relatado um osteosarcoma vertebral em um macho de 11 anos de idade (SIMOVA-CURD et al., 2008) e carcinoma da glândula salivar em uma fêmea de 12 anos de idade (SMITH et al., 2010). A ausência notável de relatos de neoplasmas em chinchilas até o momento, provavelmente, reflete a ênfase em estudos de causas de morte de chinchilas jovens, provenientes de criadores comerciais de produção de pele ou animais de pesquisa. Com o aumento do número de chinchilas criadas como *pet*, é esperado que aumentem os relatos de casos de tumores, assim como demais distúrbios geriátricos.

2.3 Chinchilas como modelo experimental

Chinchilas têm sido utilizadas como modelo experimental basicamente em pesquisas otológicas, pois têm sensibilidade auditiva muito semelhante a dos humanos, e grandes bulas revestidas por ossos finos, que permite fácil acesso cirúrgico ao ouvido médio (BROWNING; GRANICH, 1978). Essa espécie é utilizada como modelo para diferentes estudos do ouvido, desde a acústica (HARRISON, 1998; BAUER, 2003), mecanismos da infecção do ouvido e seu tratamento (GIEBINK, 1999; BAKALETZ, 2009), até efeitos ototóxicos de drogas (DANIEL; MUNGUIA, 2008). Ultimamente a espécie tem sido apontada como um modelo experimental para o estudo de teníase causada por *Taenia solium* (MARAVILLA et al., 2011).

3 CAPÍTULO 2

Doenças de chinchilas (*Chinchilla lanigera*)

Ricardo B. de Lucena, Paula R. Giaretta, Bianca Tessele, Rafael A. Fighera, Glaucia D. Kommers, Luiz Francisco Irigoyen e Claudio S.L. Barros

(Artigo submetido para publicação na revista **Pesquisa Veterinária Brasileira.**)

Doenças de chinchilas (*Chinchilla lanigera*)¹

Ricardo B. Lucena², Paula R. Giaretta³, Bianca Tessele³, Rafael A. Fighera⁴, Glaucia D. Kommers⁴, Luiz Francisco Irigoyen⁴ e Claudio S. L. Barros⁴

ABSTRACT.- Lucena R.B., Giaretta P.R., Tessele B., Fighera R.A., Kommers, G.D., Irigoyen L.F. & Barros C.S.L. 2011 [**Diseases of chinchilla (*Chinchilla lanigera*)**] Doenças de chinchilas (*Chinchilla lanigera*). *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil. E-mail: claudioslbarros@uol.com.br

Diseases of chinchilla were studied through the review of necropsy reports of 202 postmortem examination carried out in this species from January 1997 to December 2011. One hundred and eighty nine of these necropsies (93.5%) had a conclusive diagnosis and in 13 (6.5%) a conclusive diagnosis was not reached due either absence of lesions or advanced autolysis. One hundred and sixty two (80%) of the necropsied chinchilla were females and 37 (18%) were males and the sex was not recorded in four cases (2%). Ages of necropsied chinchillas varied from one day to 12-years-old. The encountered diseases were grouped in the following categories: inflammatory diseases, diseases caused by intoxications, diseases caused by physical agents, metabolic diseases, parasitism, degenerative diseases, circulatory disturbances, developmental disorders and “other disorders”. Inflammatory diseases were the most prevalent (52 cases [25.7%]) and included gastritis (10 cases), necrotizing enteritis (6 cases), septicemia (5 cases), listeriosis (5 cases), bacterial bronchopneumonia (4 cases), pyometra (4 cases), diarrhea associated with *Proteus* sp. (3 cases), subcutaneous and lymph node abscesses (2 cases), endometritis (2 cases), otitis (2 cases), pyelonephritis (2 cases), abscesses in hepatic the round ligament (1 cases), fibrinous pneumonia (1 case), interstitial pneumonia (1 case), hepatitis and cholecystitis associated with *Salmonella* sp. (1 case),

¹ Recebido em.

Aceito para publicação em

² Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia Veterinária, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brasil.

³ Graduação em Medicina Veterinária, Laboratório de Patologia Veterinária, CCR, UFSM, Santa Maria, RS.

⁴ Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde, UFSM, Santa Maria, RS 97105-900, Brasil.

*Autor para correspondência: claudioslbarros@uol.com.br

pulmonary histiocytosis (1 case), lymphohistiocytic myositis (1 case), and dermatophytosis by *Trichopyton metagrophytes* (1 case). The second most prevalent group of diseases was that caused by intoxications (22,3% of the cases) including 45 cases of intoxication by salinomycin. Diseases caused by physical agents (21 cases [10.4%]) included trauma cases caused by other animals (8 cases), self mutilation secondary to intramuscular injection (8 cases), rectal prolapsed (3 cases) and dystocia (2 cases). Metabolic diseases were represented by 16 cases (7.9%) of hepatic lipidosis. Parasitic diseases were represented by 8 cases (4%) flea (4 cases) lice (4 cases) infestations and one case of giardiasis. Five cases (2.5%). Degenerative diseases (5 cases or 2,5%) included two cases of chronic renal failure, one case of scattered hepatocellular necrosis and one case of muscle necrosis of unknown origin. Circulatory disturbances included two cases (0.99%) of congestive heart failure. Neoplasms were represented by two cases (0.99%) of gastric adenocarcinoma. Developmental disorders included one (0,5%) case of *atresia ani* associated with polycystic kidneys and absence of reproductive tract and large intestine. Thirty eight cases (18.8%) did not fit in any of the above categories and were placed as “other disorders”. In this category dental disease was the most commonly (8 cases or 9%) diagnosed disorder, followed by 14 cases of hyperthermia, two cases of anemia, two cases of fat metaplasia of adrenal cortex and two cases of mucometra.

INDEX TERMS: chinchilla, causes of death, retrospective study, prospective study, epidemiology, pathology.

RESUMO.- As doenças de chinchilas foram estudadas através da avaliação de laudos de necropsia entre janeiro de 1997 e dezembro de 2011. Em 202 chinchilas necropsiadas, 189 (93,5%) tiveram o diagnóstico determinado, e 13 (6,5%) tiveram diagnóstico inconclusivo, por ausência de lesões ou autólise acentuada. Dentre as 202 chinchilas computadas, 162 eram fêmeas (80%), 37 eram machos (18%), e em quatro chinchilas (2%) o sexo não foi anotado. As chinchilas tinham entre um dia a 12 anos de idade. As doenças foram agrupadas nas seguintes categorias: doenças inflamatórias, doenças causadas por intoxicações, doenças causadas por agentes físicos, doenças metabólicas, doenças parasitárias, doenças degenerativas, distúrbios circulatórios, neoplasmas, distúrbios do desenvolvimento e “outros distúrbios”. As doenças inflamatórias foram as mais prevalentes (52 casos [25,7%]) e foram

representadas por casos de gastrite (10 casos), enterite necrosante (6 casos), septicemia (5 casos), listeriose (5 casos), broncopneumonia bacteriana (4 casos), piometra (4 casos), diarreia com isolamento de *Proteus* sp. (3 casos), abscessos subcutâneos e em linfonodos (2 casos), endometrite (2 casos), otite (2 casos), pielonefrite (2 casos), abscesso do ligamento redondo do fígado (1 caso), pneumonia fibrinosa (1 caso), pneumonia intersticial (1 caso), hepatite e colecistite com isolamento de *Salmonella* sp. (1 caso), histiocitose pulmonar (1 caso), miosite linfo-histiocítica (1 caso) e um caso de dermatofitose (*Trichopyton mentagrophytes*). O segundo grupo de doenças mais prevalentes foram as intoxicações (22,3%), representado por 45 casos de intoxicação por salinomicina. As doenças causadas por agentes físicos (21 casos [10,4%]) incluíam casos de traumas causados por outros animais (8 casos), automutilação após injeção intramuscular (8 casos), prolapso de reto (3 casos) e parto distócico (2 casos). A categoria de doenças metabólicas foi representada por 16 casos (7,9%) de lipidose hepática. As doenças parasitárias (8 casos [4%]) consistiram em infestação por pulga (4 casos), piolho (3 casos) e giardíase (1 caso). Doenças degenerativas (5 casos [2,5%]) incluíam insuficiência renal crônica (2 casos), necrose aleatória de hepatócitos (1 caso) e necrose muscular de origem desconhecida (1 caso). Os distúrbios circulatórios incluíam dois casos (0,99%) de insuficiência cardíaca congestiva. Neoplasmas foram representados por dois casos (0,99%) de adenocarcinoma gástrico. Um caso de *atresia ani*, associado a ausência do trato reprodutor, intestino grosso e rins policísticos representou a categoria de distúrbios do desenvolvimento (0,5%). Algumas doenças não se enquadraram nas categorias acima e foram enquadradas em “outros distúrbios” (38 casos [18,8%]). Nesta categoria, doenças dentárias foi o distúrbio mais comum, diagnosticado em 9% (18 de 202) de todas as chinchilas examinadas. Seguido por casos de hipertermia (14 casos), dois casos de anemia, dois casos de metaplasia de células adiposas do córtex da adrenal, e dois casos de mucometra.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: chinchilas, causas de morte, estudo retrospectivo, estudo prospectivo, epidemiologia, patologia.

INTRODUÇÃO

Chinchilas (*Chinchilla lanigera*) são mamíferos histricomorfos pertencentes à ordem Rodentia e família Chinchillidae, nativas dos Andes, com distribuição natural restrita ao Chile, Bolívia e Peru (Bidlingmaier 1937). Há duas espécies, *Chinchilla brevicaudata* originária da Bolívia e *Chinchilla lanigera* encontrada principalmente no Chile (Boone 1933, Bidlingmaier 1937). A espécie *C. lanigera* foi domesticada e atualmente há milhões de chinchilas criadas em cativeiro por todo o mundo (Boone 1933, Bidlingmaier 1937, Jimenez 1996). Embora as chinchilas tenham sido originalmente domesticadas visando a produção de pele, o que ocorre até hoje, há também, considerável aumento de chinchilas criadas como animais de companhia e de laboratório (Donnelly 2003).

Na literatura são encontrados poucos estudos sobre as doenças de chinchilas, na sua maioria são estudos antigos, das décadas de 1950 e 1960, ou são repetições e revisões de literatura (Donnelly 2003). Ultimamente tem-se observado aumento do número de cadáveres de chinchilas remetidos para necropsia no Laboratório de Patologia Veterinária da UFSM (LPV-UFSM). Além de diferentes lesões, casos de gastrite são frequentemente observados, associados ou não a sinais clínicos. A avaliação histológica do estômago em muitas dessas chinchilas revela gastrite associada à atrofia gástrica e diferentes graus de metaplasia intestinal e displasia. Lipidose hepática é outra lesão comumente encontrada em chinchilas na rotina de diagnóstico (dados não publicados).

O presente estudo tem como objetivo avaliar os aspectos epidemiológicos, sinais clínicos e os achados patológicos das doenças que acometem chinchilas, através do estudo dos casos de necropsia de chinchilas realizadas no LPV-UFSM entre os anos 1997-2011.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram revisados os protocolos de necropsia de chinchilas realizadas no LPV-UFSM, entre janeiro de 1997 e dezembro de 2011 (15 anos). Desses, foram computadas informações quanto à idade, ao sexo, os sinais clínicos, as alterações laboratoriais, as lesões macroscópicas e histopatológicas e, o diagnóstico definitivo. Aqueles protocolos de necropsia que não apresentavam um diagnóstico definitivo ou que não continham informações que permitissem concluir por um diagnóstico foram considerados como inconclusivos.

Após a compilação dos diagnósticos, os dados foram agrupados nas seguintes categorias: distúrbios circulatórios, distúrbios do desenvolvimento, doenças causadas por agentes físicos, doenças degenerativas, doenças inflamatórias, doenças parasitárias, doenças metabólicas, doenças causadas por intoxicações e neoplasmas. Os distúrbios que não puderem ser enquadrados em nenhuma dessas categorias foram agrupados sob a denominação de “outros distúrbios”. Além da identificação da causa da morte foram computados os achados incidentais de necropsia. Para uma melhor distribuição dos distúrbios quanto à faixa etária, as chinchilas foram divididas em cinco grandes grupos de idade, tendo em vista sua longa longevidade: filhotes em lactação (desde o nascimento até os dois meses de idade que é a idade de desmame adotada pelos criadores); jovens (dos três aos oito meses de idade); adultos jovens (a partir dos nove meses de idade, quando entram em idade reprodutiva, até dois anos); adultos (de dois aos nove anos de idade); e idosos (dez anos de idade ou mais).

RESULTADOS

Durante o período de 1997-2011 foram necropsiadas 252 chinchilas no LPV-UFSM. Dessas, 202 morreram espontaneamente ou foram submetidas à eutanásia por apresentarem alguma doença. As outras 50 necropsias dizem respeito ao estudo de carcaças de chinchilas saudáveis abatidas para obtenção da pele, desta forma, não foram consideradas no presente trabalho. Dentre as 202 chinchilas computadas, 162 eram fêmeas (80%), 37 eram machos (18%), e quatro chinchilas não tiveram o sexo definido (2%) devido extensa mutilação em recém-nascidos pelas mães, e em um caso de malformação com ausência do trato reprodutor. A idade dos animais variou de um dia a 12 anos de idade. A prevalência das doenças diagnosticadas em chinchilas de acordo com a categoria de doença e idade dos animais, entre os anos de 1997-2011 estão sumarizadas no Quadro 1.

As doenças inflamatórias foram as mais prevalentes, correspondendo a 25,7% (52 de 202 casos) de todas as chinchilas avaliadas. Dentre as doenças infecciosas prevaleceram os casos de gastrite (10 casos) associado a bactérias espiraladas na mucosa, interpretadas como *Helicobacter* sp. Gastrite, também, foi observada em outros casos como achados incidentais e não associado com a morte desses animais. Listeriose foi diagnosticada em cinco animais, provenientes de três surtos. Septicemia foi diagnosticada em cinco chinchilas. Outras doenças inflamatórias incluíram enterite necrosante (6 casos), broncopneumonia bacteriana (4 casos), piometra (4 casos), diarreia com isolamento de *Proteus* sp. (3 casos), abscessos subcutâneos e

linfáticos (2 casos), endometrite (2 casos), otite (2 casos), pielonefrite (2 casos), abscesso do ligamento redondo do fígado (1 caso), pneumonia fibrinosa (1 caso), pneumonia intersticial (1 caso), colecistite e hepatite com isolamento de *Salmonella* sp. (1 caso), histiocitose pulmonar (1 caso), miosite linfo-histiocítica (1 caso) e um caso de dermatofitose (*Trichopyton mentagrophytes*).

As intoxicações também tiveram grande número de casos, devido a necropsia de 45 chinchilas provenientes de importantes surtos de intoxicação por salinomicina, diagnosticados em quatro propriedades que forneceram ração de um mesmo lote contaminado aos seus animais.

As doenças causadas por agentes físicos também tiveram grande representação (21 casos), principalmente devido aos casos de trauma (8 casos) provocado por outras chinchilas (Fig. 1) ou animais maiores, como também casos de automutilação (8 casos) (Fig. 2) após administração de enrofloxacina via intramuscular. Outros casos associados a lesões traumáticas incluem cinco mortes de chinchilas com constipação intestinal (5 casos), prolapso de reto (3 casos) e parto distócico (2 casos) (Fig. 3).

A categoria de doenças metabólicas foi representada por protocolos em que constavam lipidose hepática (Fig. 4) como principal ou única lesão encontrada (16 casos), porém, degeneração gordurosa do fígado foi um achado incidental frequente em chinchilas que morreram por outras causas, e que passaram por período de restrição alimentar.

Doenças parasitárias foram diagnosticadas em oito chinchilas. Quatro delas infestadas por pulgas, três por piolhos e uma com giardíase. Dentre as doenças degenerativas, foram computados casos de insuficiência renal crônica (2 casos), necrose aleatória de hepatócitos de origem não determinada (1 caso) e de necrose muscular (1 caso), também de etiologia desconhecida. Os distúrbios circulatórios se limitaram a dois casos de insuficiência cardíaca congestiva. Neoplasmas foram representados por dois casos de adenocarcinoma gástrico. A categoria de distúrbios do desenvolvimento foi representada por um caso de malformações múltiplas em uma chinchila recém-nascida.

Algumas doenças não se enquadraram nas categorias acima e foram enquadradas em “outros distúrbios” (38 casos). Nesta categoria, doenças dentárias foi o distúrbio mais comum, diagnosticado em 9% (18 de 202) de todas as chinchilas examinadas (Fig. 5). Seguido por casos de hipertermia (14 casos), ocorridos principalmente nos meses de verão. Outros casos incluíram anemia (2 casos), metaplasia de células adiposas do córtex da adrenal

associado a alopecia nas regiões ventrolateral do abdômen e ventral cervical (2 casos) e mucometra (2 casos).

Em 13 casos não foram observadas lesões macroscópicas ou histológicas, ou o animal estava em avançado grau de autólise, que comprometeu sua avaliação. Esses casos foram computados como diagnóstico inconclusivo.

DISCUSSÃO

Considerando todas as categorias de doenças, a categoria “doenças inflamatórias” apresentou o somatório de maior número de casos (52 de 202), semelhante aos estudos de necropsia realizados na década de 1950 nos Estados Unidos (Brenon 1953, Brenon 1955) e na Inglaterra (Bowden 1959). Dentre as lesões inflamatórias, as de origem infecciosa foram as mais prevalentes, principalmente as causadas por bactérias. Grande número de chinchilas tinham gastrite moderada a acentuada como principal lesão. Na maioria desses casos foi possível observar bactérias espiraladas na mucosa gástrica, que marcaram positivamente na coloração de Warthin-Starry e imuno-histoquímica com anticorpo anti-*Helicobacter pylori* (dados não publicados). Em uma chinchila acometida por adenocarcinoma gástrico, exame de PCR e sequenciamento genético de amostra obtida da mucosa do estômago revelou a presença de *Helicobacter* com 99% de compatibilidade com *Helicobacter pylori* (Lucena et al. 2012a). Desde a descoberta de *H. pilory* como indutor de gastrite em humanos no ano de 1983 (Warren & Marshall 1983), este microrganismo tem sido implicado na carcinogênese gástrica baseado em diversos estudos epidemiológicos (Parsonnet 1991). Estudo experimental em gerbil da Mongólia revelou que *H. pylori* induz gastrite, metaplasia intestinal, como também adenocarcinoma gástrico em 37% dos animais infectados, comprovando a participação desta bactéria no desenvolvimento de câncer gástrico (Watanabe 1998).

Listeriose é outra doença bacteriana importante em chinchilas, descrita na forma de surtos em diferentes partes do mundo (Finley & Long 1977, Wilkerson et al. 1997, Sabočanec et al. 2000, Kirinus et al. 2010). As chinchilas parecem ser uma das espécies animais mais sensíveis à infecção por *Listeria monocytogenes*, quando comparadas a outras espécies (Finley & Long 1977). A forma encefálica de listeriose tem sido relatada (Bowden 1959), mas a maioria dos surtos descreve a doença na forma de septicemia, com predominante envolvimento hepático (Finley & Long 1977, Wilkerson et al. 1997, Sabočanec et al. 2000, Kirinus et al. 2010). No presente estudo foram necropsiadas cinco chinchilas com a forma

septicêmica da doença. Elas eram provenientes de três surtos com morbidade que variou de 6-16% e letalidade de 100%. Três desses casos haviam sido relatados anteriormente (Kirinus et al. 2010). Acredita-se que surtos de listeriose estejam relacionados ao fornecimento de ração infectada por *L. monocytogenes* carregada por outros roedores de vida livre, principalmente os ratos (Wilkerson et al. 1997, Sabočanec et al. 2000).

Outras chinchilas apresentaram infecção bacteriana secundária, principalmente na forma de septicemia. Infecções oportunistas causadas pela flora bacteriana normal têm sido observadas causando morte de chinchilas, seja por infecção localizada de um órgão ou como septicemia. Exemplos de bactérias oportunistas são *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *Pseudomonas* sp. ou *Escherichia coli*. Os animais afetados geralmente estão imunocomprometidos pela idade, estado nutricional ou estresse da criação (altas temperaturas, troca de ração etc.) (Donnelly 2003). *Proteus* spp. é outra bactéria que tem sido associada a casos de pneumonia, enterite, metrite e pielonefrite, por vezes em associação com outras bactérias (Bowden 1959, Donnelly 2003). Neste estudo *Proteus* spp. foi isolado em chinchilas acometidas por pneumonia, pileonefrite e enterite. Acredita-se que espécies de *Proteus* atuam como bactérias oportunistas nos tecidos já comprometidos por outros agentes ou nos casos de baixa imunidade do organismo animal (Greene 2006). Chinchilas acometidas por septicemia geralmente têm histórico de doença com evolução aguda, observado neste estudo e também num estudo das doenças de chinchilas desenvolvido na Inglaterra (Bowden 1959). Em surtos de chinchilas acometidas por septicemia deve-se procurar solucionar erros de manejo, controlar a temperatura na faixa de conforto térmico no interior do criatório, ou sanar qualquer outro fator que induza estresse nas chinchilas.

Surto de infecção por *Clostridium perfringens* tipo B acometeu cinco chinchilas em um lote de 395. As lesões consistiam de extensa enterite necrosante associada a numerosos agregados bacterianos na superfície epitelial com invasão da lâmina própria, moderado edema pulmonar e degeneração gordurosa do fígado. A genotipificação de *C. perfringens* isolado, realizada por reação em cadeia de polimerase multiplex (mPCR), revelou *C. perfringens* tipo B pela detecção das toxinas alfa, beta e épsilon. Os achados sugerem *C. perfringens* tipo B como importante causador de morte súbita ou aguda em chinchilas (Lucena et al. 2011).

Intoxicação por salinomicina foi a doença isolada mais prevalente no presente estudo. No entanto, a grande representação dessa doença deve-se ao grande número de necropsias realizadas em quatro importantes surtos de intoxicação por este antibiótico ionóforo em

diferentes criatórios de chinchilas no Rio Grande do Sul, após administração de ração de um mesmo lote contaminado. Foi comprovado que chinchilas são sensíveis a doses relativamente baixas de salinomicina (37 ppm), e desenvolvem grave lesão nos músculos esqueléticos (Lucena et al. 2012b).

Degeneração gordurosa do fígado predominou entre todas as lesões descritas nos laudos de necropsia. Em 16 casos esta era a lesão predominante ou única lesão observada. Anteriormente, lipidose hepática havia sido descrita como altamente sugestiva de aflatoxicose aguda, observado em uma mortandade de chinchilas na Argentina após ingestão de ração contendo 208 ppm de aflatoxinas (González 2008). Porém, em estudo experimental as chinchilas demonstraram ser resistentes a aflatoxinas na dose de 200 ppm por até oito semanas de ingestão (Cepeda et al. 2011). Na nossa experiência, degeneração gordurosa do fígado manifesta-se como uma lesão secundária decorrente da diminuição da ingestão de ração em chinchilas em boa condição corporal ou obesas, seja por qualquer problema de saúde que induza inanição, ou até mesmo nas chinchilas saudáveis mantidas em jejum pré-abate.

Assim como descrito na literatura, doença dentária manifestou-se como uma importante causa de morte em chinchilas (Donnelly 2003, Crossley 2001). Má oclusão resultou do crescimento excessivo da coroa clínica dos dentes incisivos e molares e pré-molares. Como consequência, as chinchilas desenvolveram emagrecimento e caquexia pela dificuldade de apreensão dos alimentos. O crescimento excessivo da porção apical dos dentes maxilares resultou em compressão do canal lacrimal, manifestado por epífora e até casos de conjuntivite bacteriana secundária. A falta de atrito dentário é o principal fator implicado no alongamento exagerado dos dentes de roedores mantidos em cativeiro (Weinreb 1967). Fatores adicionais como deficiência de vitamina A, também tem sido sugeridos (Wolbach 1933). Em chinchilas, acredita-se que altos níveis de cortisol no soro sanguíneo também pode predispor o crescimento dentário excessivo (Crossley 2001).

Exposição a altas temperaturas, especialmente em ambientes com alta umidade, pode resultar em hipertermia e considerável mortandade em chinchilas. A zona de conforto está entre 18,3°C a 26,7°C; quando a temperatura ambiente ultrapassa muito o limiar superior os animais entram em decúbito e apresentam respiração acelerada; mucosas vermelhas que passam à cianóticas; hipersalivação viscosa e, às vezes, diarreia com sangue. A temperatura retal usualmente ultrapassa os 39,4°C (Donnelly 2003). Esses sinais clínicos foram

semelhantes aos observados nas chinchilas do presente estudo. Foram acometidas principalmente chinchilas jovens e todos os casos ocorreram basicamente nos meses de verão, janeiro e fevereiro, que apresentam temperaturas mais altas. Em muitos casos houve falha no resfriamento dos galpões. As lesões macroscópicas e histológicas se restringiam a lipidose hepática leve a moderada.

Infestação parasitária limitou-se a presença de ectoparasitas e um caso de giardíase. Os casos de infestação por piolho ocorreram em chinchilas criadas como *pet* (uma chinchila adulta e seus dois filhotes). A infestação por pulgas ocorreu em chinchilas que tinham contato com ratos. Não são encontrados na literatura relatos de infestação por estes ectoparasitas em chinchilas. Espécies de *Giardia* são normalmente encontradas no intestino de chinchilas (Bowden 1959, Donnelly 2004). Estresse e más condições do ambiente estão relacionados a aumento do número do parasita, resultando em diarreia e morte. O diagnóstico de giardíase deve ser considerado quando há quadro de diarreia associado à presença do protozoário em grande número, e exclusão de outro agente causador (Donnelly 2003).

Mortes relacionadas a agentes físicos foram mais prevalentes em animais recém-nascidos que sofreram mutilação por suas mães após o nascimento. Casos de automutilação foram vistos em chinchilas medicadas com 0,15 ml de enrofloxacina por via intramuscular. Os animais inicialmente mutilavam as extremidades dos dedos e porção dorsal dos pés, que evoluía para completa destruição da porção distal do membro. Enrofloxacina é um antibiótico do grupo das quinolonas. Reações adversas ao uso das quinolonas têm sido descritas em diferentes espécies e estão relacionadas principalmente aos efeitos neurotóxicos da droga. Reações neurotóxicas à fluoroquinolonas descritas em humanos tratados com altas doses são numerosas e incluem dor de cabeça, tonturas, cansaço ou sonolência, visão anormal, agitação e pesadelos (Lipsky & Baker 1999, Stahlmann & Lode 1999). Em equinos adultos, altas doses de enrofloxacina por via intravenosa induz reações adversas como contração do focinho, excitabilidade, e comportamento apreensivo (Bertone et al. 2000). É possível que o uso de altas doses de enrofloxacina tenha induzido automutilação nas chinchilas, já que apenas os animais do criatório que receberam a injeção apresentaram o problema.

Dentre os distúrbios do trato gastrointestinal de chinchilas, casos de constipação estão os mais prevalentes (Donnelly 2003). Obstrução intestinal tem sido descrito em chinchilas mantidas à base de dietas ricas em proteínas e energia, associado à reduzida ingestão de fibras (Cousens 1963). Semelhante ao observado no presente estudo, em que os casos de

constipação foram observados em chinchilas alimentadas basicamente com frutas e verduras, e baixo teor de fibras. As fezes estavam diminuídas de tamanho, ressecadas e acumuladas principalmente na porção final do cólon e reto.

Duas chinchilas apresentaram metaplasia de células adiposas no córtex da adrenal. Tinham histórico de serem agressivas. Demonstravam áreas de alopecia e nessas áreas a pele era fina e com acúmulo de gordura no subcutâneo. Hiperplasia das glândulas adrenais foi um achado incidental comum em 70% das chinchilas adultas e idosas que morreram por diferentes causas. Geralmente acompanhado por hipotricose simétrica na região lateral do abdômen e dorso. Metaplasia de células adiposas do córtex adrenal foi observado em 5% de 497 necropsias sistemáticas em humanos. Os pacientes acometidos por essa lesão tinham maior prevalência de histórico de hipertensão arterial e doença coronariana quando comparados ao grupo controle (Saeger & Reinhard 1998). Um estudo de 11 chinchilas relativamente saudáveis, mas com hipotricose bilateral (*fur-chewing*), demonstrou hiperplasia das adrenais em todos os animais. Os autores sugeriram estresse como uma possível causa para hiperplasia adrenal em chinchilas (Tisljar et al. 2002).

Não há descrição de malformações em chinchilas. Apenas um caso de malformação foi observado no presente estudo. Tratava-se de uma chinchila recém-nascida com ausência do ânus. Durante a necropsia foi constatado que também não estava presente todo o trato reprodutor, parte do cólon, o reto e a bexiga. Os rins eram policísticos. Esse tipo de anomalia é denominado *atresia ani*, um defeito relativamente comum em bovinos e ovinos, e que geralmente acompanha malformações urogenitais (Gilmore & Fechheimer 1969, Dennis 1972).

CONCLUSÕES

As doenças mais comuns de chinchilas incluem doenças dentárias, gastrite, ocasionada por infecção por bactérias do gênero *Helicobacter*, e outras infecções bacterianas localizadas ou septicêmicas. Lipidose hepática é uma lesão frequentemente observada na necropsia de chinchilas e sua ocorrência não está associada diretamente a nenhuma entidade específica, possivelmente está relacionada a condições que induzam a parada brusca na ingestão de ração. A espécie é sensível a doses relativamente baixas de antibióticos ionóforos, manifestada por grave necrose muscular. Outros distúrbios comuns incluem hipertermia devido a falhas no arejamento do ambiente nos meses de verão e lesões de origem traumática principalmente em filhotes. Como prevenção para a ocorrência das principais doenças, as

chinchilas devem ser mantidas em ambientes na zona de conforto (18,3°C a 26,7°C), alimentadas com dieta rica em fibras, e livres de fatores que possam induzir estresse, já que boa parte dos distúrbios que acomete a espécie parece ter relação direta com erros de manejo.

AGRADECIMENTOS.- Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Bidlingmaier T.C. 1937. Notes on Genus Chinchilla. J. Mammol. 18:159-163.
- Boone A.R. 1933. Three American chinchilla farms produce most costly fur. Pop. Science Mont. December 1933.
- Bertone A.L., Tremaine W.H., Macoris D.G., Simmons E.J., Ewert K.M., Herr L.G. & Weisbrode S.E. 2000. Effect of long-term administration of an injectable enrofloxacin solution on physical and musculoskeletal variables in adult horses. J. Am. Vet. Med. Assoc. 217:1514-1521.
- Bowden R.S.T. 1959. Diseases of chinchillas. Vet. Rec. 71:1033-1035.
- Brenon H.C. 1953. Postmortem examinations of chinchillas. J. Am. Vet. Med. Assoc. 123:310.
- Brenon H.C. 1955. Postmortem examinations of chinchillas. J. Am. Vet. Med. Assoc. 126:225-226.
- Cepeda A.S., Hansen Q.A., Murcia G. & Diaz G.J. 2011. Aflatoxicosis en chinchillas (*Chinchilla lanigera*). Rev. Med. Vet. Zoot. Córdoba. 16:2356-2363.
- Cousens P.J. 1963. The chinchilla in veterinary practice. J. Small Anim. Pract. 4:199-205.
- Crossley D.A. 2001. Dental disease in chinchillas in the UK. J. Small Anim. Pract. 42:12-19.
- Dennis S.M. 1972. Atresia ani in sheep. Vet. Rec. 91:219-22.
- Donnelly T.M. 2003. Disease Problems of Chinchillas. p. 254-265. In: Quesenberry K.E., Carpenter J.W. (Ed.), Ferrets, Rabbits, and Rodents: Clinical Medicine and Surgery. 2nd ed. 261 pp. Saunders Elsevier, St. Louis.
- Finley G.G. & Long J.R. 1977. An epizootic of listeriosis in chinchillas. Can. Vet. J. 18:164-167.

- Gilmore L.O. & Fechheimer N.S. 1969. Congenital abnormalities in cattle and their general etiologic factors. *J. Dairy Sci.* 52:1831.
- González P.M.L., Carvalho E.C.Q., Tissera J.L., Keller K.M., Magnoli C.E., Rosa C.A.R., Dalcero A.M. & Cavaglieri L.R. 2008. An outbreak of acute aflatoxicosis on chinchilla (*Chinchilla lanigera*) farm in Argentina. *J. Vet. Diagn. Invest.* 20:853-6.
- Greene C. E. 2006. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 3rd ed. Saunders Elsevier, St Louis. 1387p.
- Jimenez J.E. 1996. The extirpation and current status of wild chinchillas *Chinchilla lanigera* and *C. brevicaudata*. *Biol. Cons.* 77:1-6.
- Kirinus J.K., Krewer C., Zeni D., Monego F., Silva M.C., Kommers G.D. & Vargas A.C. 2010. Surto de listeriose sistêmica em chinchillas. *Cien. Rural.* 40:686-689.
- Lipsky B.A. & Baker C.A. 1999. Fluoroquinolone toxicity profiles: a review focusing on newer agents. *Clin. Infect. Dis.* 28:352-364.
- Lucena R.B., Farias L., Libardoni F., Vargas A.C., Giaretta P. & Barros C.S.L. 2011. Necrotizing enteritis associated with *Clostridium perfringens* Type B in chinchillas (*Chinchilla lanigera*). *Pesq. Vet. Bras.* 31:1071-1074.
- Lucena R.B., Rissi D.R., Queiroz D.M.M. & Barros C.S.L. 2012a. Infiltrative gastric adenocarcinoma in a chinchilla (*Chinchilla lanigera*) naturally infected by *Helicobacter pylori*. *J. Vet. Diagn. Invest.* No prelo.
- Lucena R.B., Figuera R.A., Tessele B., Giaretta P.R. & Barros C.S.L. 2012b. Surtos de intoxicação por salinomicina em chinchilas (*Chinchilla lanigera*). *Pesq. Vet. Bras.* No prelo.
- Parsonnet J., Vandersteen D., Goates J., Sibley R.K., Pritikin J. & Chang Y. 1991. *Helicobacter pylori* infection in intestinal- and diffuse-type gastric adenocarcinomas. *J. Natl. Cancer Inst.* 83:640-643.
- Sabočanec R, Čuljak K., Ramada K., Naglič T., Šeol B. & Matičić D. 2000. Incidence of listeriosis in farm chinchillas (*Chinchilla laniger*) in Croatia. *Vet. Arch.* 70:159-167.
- Saeger W. & Reinhard K. 1998. Fat-Cell metaplasia in the adrenal cortex: incidence, structure, and correlation to basic diseases in a postmortem series. *Endocr. Pathol.* 3:241-247.
- Stahlmann R. & Lode H. 1999. Toxicity of quinolones. *Drugs* 58(Suppl 2):37-42.

- Tisljar M., Janić D., Grabarević Z., Simpraga B., Marinculić A., Pinter L., Janicki Z., & Nemanic A. 2002. Stress-induced Cushing's syndrome in fur-chewing chinchillas. *Acta Vet. Hung.* 50:133-42.
- The Eurogast Study Group. 1993. An international association between *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *Lancet* 341:1359-1362.
- Warren J.R. & Marshall B.J. 1983. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1:1273–1275.
- Watanabe W., Tada M., Nagai H., Sasaki S. & Masafumi N. 1998. *Helicobacter pylori* induces gastric cancer in Mongolian gerbils. *Gastroenterol.* 115:642-648.
- Weinreb M.M., Assif D. & Michaeli Y. 1967. Role of attrition in the physiology of the rat incisor. I The relative value of different components of attrition and their effect upon eruption. *J. Dent. Res.* 46:527-531.
- Wilkerson M.J., Melendy A. & Stauber E. 1997. An outbreak of listeriosis in a breeding colony of chinchillas. *J. Vet. Diag. Invest.* 9:320-323.
- Wolbach S.B. & Howep R. 1933. The incisor teeth of albino rats and guinea pigs in vitamin A deficiency and repair. *Am. J. Pathol.* 9:275-293.

Quadro 1. Relação entre as categorias de idade e as diferentes categorias de doenças diagnosticadas em chinchilas no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria entre 1997-2011

Categorias de doenças	Prevalências das categorias de doenças por faixa etária (número de casos)						Total/ % dos 202 casos
	Filhote	Jovem	Adulto jovem	Adulto	Idosa	Idade não informada	
Doenças inflamatórias	6	9	10	19	8	-	52 (25,7%)
Doenças tóxicas	12	4	14	15	-	-	45 (22,3%)
Causados por agentes físicos	6	9	4	2	-	-	21 (10,4%)
Doenças metabólicas	2	3	6	3	1	1	16 (7,9%)
Doenças parasitárias	2	1	-	4	1	-	8 (4,0%)
Doenças degenerativas	-	-	1	2	1	-	4 (1,9%)
Distúrbios circulatórios	-	1	-	1	-	-	2 (1,0%)
Neoplasmas	-	-	-	1	1	-	2 (1,0%)
Distúrbios do desenvolvimento	1	-	-	-	-	-	1 (0,5%)
Outros distúrbios	-	4	9	21	2	2	38 (18,8%)
Inconclusivo	1	6	3	2	-	1	13 (6,4%)
Total	30	37	47	70	14	4	202

Fig. 1. Mutilação de uma chinchila recém-nascida provocada pela mãe algumas horas após o parto. Foram ingeridos os membros torácicos, os músculos abdominais, o esterno e praticamente todas as vísceras da cavidade abdominal e torácica, restando apenas o rim direito e parte do timo.

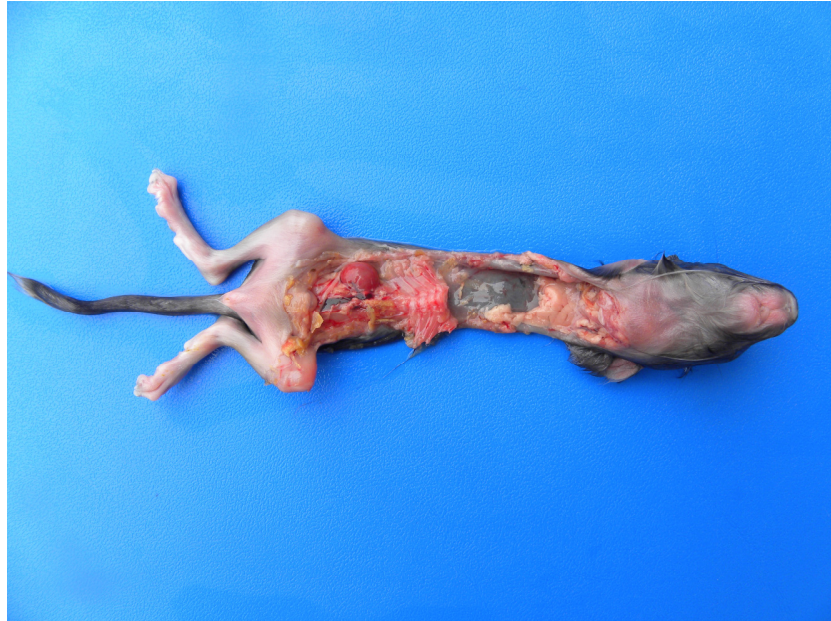


Fig. 2. Automutilação de parte do membro pélvico direito de uma chinchila após injeção intramuscular de enrofloxacina. A chinchila decepou parte dos dígitos e da pele dorsal e plantar.



Fig. 3. Parto distócico. Um feto grande está mal posicionado, com o dorso voltado para a abertura do canal do parto. O fígado está pálido com aumento de volume (lipidose hepática).



Fig. 4. Marcada lipidose hepática em uma chinchila que morreu em decorrência de hipertermia. O fígado está pálido, aumentado de volume, com as bordas arredondadas. A lipidose hepática é uma consequência do quadro de anorexia desenvolvido pela chinchila.

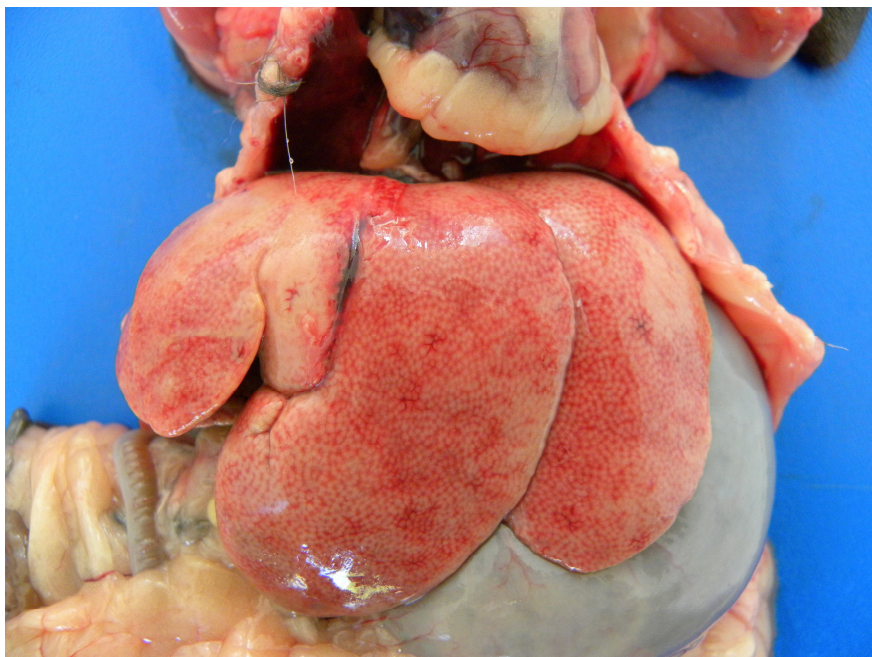


Fig. 5. Desenvolvimento exagerado dos dentes incisivos de uma chinchila com grave doença dentária. Note que as coroas clínicas alongadas impedem o fechamento da boca.



4 CAPÍTULO 3

Surto de intoxicação por salinomicina em chinchilas (*Chinchilla lanigera*)

Ricardo B. Lucena, Rafael A. Figuera, Bianca Tessele, Paula R. Giaretta
e Claudio S.L. Barros

(Artigo publicado na revista **Pesquisa Veterinária Brasileira**)

Pesq. Vet. Bras. 32(1):43-48, janeiro 2012

Surtos de intoxicação por salinomicina em chinchilas (*Chinchilla lanigera*)¹

Ricardo B. Lucena², Rafael A. Figuera³, Bianca Tessele⁴, Paula R. Giaretta⁴
e Claudio S.L. Barros^{3*}

ABSTRACT- Lucena R.B., Figuera R.A., Tessele B., Giaretta P.R. & Barros C.S.L. 2012. [**Outbreaks of salinomycin toxicosis in Chinchillas (*Chinchilla lanigera*).**] Surtos de intoxicação por salinomicina em chinchilas (*Chinchilla lanigera*). *Pesquisa Veterinária Brasileira* 32(1):43-48. Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil. E-mail: claudioslbarros@uol.com.br

Four outbreaks of ionophore toxicosis are described in chinchillas from four commercial farms located in three municipalities in the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil. Approximately 2,000 chinchillas showed decrease in food intake one week after start ingesting a ration containing 37 ppm of salinomycin. Four hundred and twenty seven chinchillas showed apathy. Of those 277 develop sternal and lateral recumbence, dyspnea and coma followed by death. First deaths occurred eight days after the start on the salinomycin containing ration; clinical course was 2-5 days. Serum chemistry carried out in four chinchillas revealed increased levels of alanine transaminase, aspartate transaminase, alkaline phosphatase, creatininin kinase, glucose, triglicerids and total cholesterol. Forty five affected chinchillas were necropsied; consistent necropsy findings were marked hepatic lipidosis; additionally twelve pregnant chinchillas had dead decomposing fetuses. Microscopically skeletal muscles had multifocally swollen hypereosinophilic myofibers with loss of cross striations. In those chinchillas that survived longer than a few days, microscopic features in the skeletal muscle included segmental fragmentation of dead fibers (focular necrosis) and myofiber regeneration. Marked fatty degeneration was observed in the livers of all affected chinchillas. No microscopic changes were observed in other organs. Chemical analysis in the feed consumed by the chinchillas did not detect aflatoxins or pesticides residues; bacterial culture performed in samples of liver and intestinal contents from necropsied chinchillas yielded no significant bacterial growth. Analysis by thin layer chromatography performed in the ration consumed by the chinchillas detected 37 ppm of salinomycin. The suspected ration was fed to 12 chinchillas three of which (25%) died with similar lesions to those observed in the natural cases. The diagnosis of salinomycin toxicosis was based in the epidemiology, histology of the lesions, on the detection of significant amounts of salinomycin in the ration used to feed the chinchillas in the four involved farms and on the reproduction of disease by feeding the suspected ration to susceptible chinchillas.

INDEX TERMS: Diseases of chinchilla, pathology, ionophore, poisoning, muscle necrosis, intoxications.

¹ Recebido em 16 de agosto de 2011.

Aceito para publicação em 5 de outubro de 2011.

² Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia Veterinária, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brasil.

³ Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde, UFSM, Santa Maria, RS. *Autor para correspondência: claudioslbarros@uol.com.br

⁴ Graduação em Medicina Veterinária, Laboratório de Patologia Veterinária, CCR-UFSM, Santa Maria, RS.

RESUMO- Quatro surtos de intoxicação por salinomicina são descritos em chinchilas de três municípios do Estado do Rio Grande do Sul. Uma semana após a ingestão de ração contendo 37 ppm de salinomicina, aproximadamente duas mil chinchilas de quatro fazendas expostas diminuíram o consumo da ração. Quatrocentos e vinte sete chinchilas demonstraram apatia. Dessas, duzentos e setenta e sete desenvolveram decúbito esternal e lateral, dispneia e coma, seguidos de morte. As primeiras mortes ocorreram oito

dias após a ingestão da ração. A evolução dos sinais clínicos até a morte ou eutanásia foi de 2-5 dias. Os exames bioquímicos do soro sanguíneo em quatro chinchilas revelaram níveis aumentados da alanina aminotransferase, aspartato transaminase, fosfatase alcalina, creatina cinase, glicose, triglicerídeos e colesterol total. Quarenta e cinco chinchilas foram submetidas à necropsia. Os achados macroscópicos consistiam de marcada lipidose hepática em todas as chinchilas necropsiadas; fetos em estado de decomposição em doze chinchilas que estavam prenhes. Microscopicamente, múltiplas fibras musculares esqueléticas estavam hipereosinofílicas, tumefeitas e com perda das estriações. Nas chinchilas que sobreviveram por mais dias era possível observar segmentos fragmentados de miofibras afetadas (necrose flocular) e regeneração de miofibras. No fígado foi observada marcada degeneração gordurosa. Não foram observadas anormalidades microscópicas nos demais órgãos analisados. Análises à procura de aflatoxinas, resíduos de pesticidas e isolamento bacteriano foram negativos. A análise da ração por cromatografia líquida revelou 37ppm de salinomicina na ração. A ração suspeita foi administrada a 12 chinchilas, três das quais (25%) morreram apresentando lesões semelhantes às observadas nas chinchilas com a doença natural. O diagnóstico de intoxicação por salinomicina foi baseado na epidemiologia, lesões histológicas características e na presença de salinomicina na ração administrada nas quatro criações envolvidas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: doenças de chinchilas, patologia, intoxicação por ionóforos, necrose muscular, intoxicações.

INTRODUÇÃO

Salinomicina sódica é um antibiótico poliéter monocarboxílico do grupo ionóforo sintetizado pelo do fungo *Streptomyces albus* (Miyazaki et al. 1974). Tem propriedades antimicrobianas e anticoccídicas (Kinashi et al. 1973, Miyazaki et al. 1974), e é também, utilizado como promotor de crescimento em frangos, suínos, e bovinos (Novilla 1992). Salinomicina atua diretamente nas membranas biológicas, incluindo membranas plasmática e mitocondrial, como um ionóforo com estreita seletividade para íons alcális e uma forte preferência para potássio. Dessa forma, promove efluxo celular e mitocondrial de potássio e inibe a fosforilação oxidativa mitocondrial (Mitani et al. 1976). Atualmente pesquisas indicam que salinomicina induz apoptose de células cancerígenas humanas de diferentes origens, em cânceres agressivos e resistentes a outras drogas. Esse ionóforo supera os mecanismos de resistência a apoptose das células neoplásicas decorrentes da perda de p53, superexpressão de Bcl-2, P-glicoproteína ou proteossoma 26S (Naujokat et al. 2010).

A intoxicação por antibióticos ionóforos ocorre quando há ingestão de altas doses da droga por erros de cálculos ou contaminação de rações, administração da droga a espécies sensíveis ou potencialização da toxidade decorrente do uso em combinação com outras drogas (Miller et al. 1986, Novilla 1992, Bezerra et al. 1999, Van der Linde-Spiman et al. 1999, Novilla et al. 2007). Casos de intoxicação por salinomicina são descritos em equinos (Rollinson et al. 1987),

suínos (Plumlee et al. 1995), perus (Stuart 1983), bovinos (Gava et al. 1997), gatos (Van der Linde-Spiman et al. 1999), coelhos (Peixoto et al. 2009), cabras (Agaoglu et al. 2002) e humanos (Li et al. 2010). Salinomicina induz principalmente degeneração e necrose de músculos esqueléticos em diferentes espécies (Barros 2007), mas afeta principalmente o músculo cardíaco em bovinos (Gava et al.), e tem sido relatada como causa de polineuropatia em gatos (Van der Linde-Spiman 1999). No nosso conhecimento, não há descrição de intoxicação por antibióticos ionóforos em chinchilas.

O propósito deste artigo é descrever a investigação epidemiológica, os sinais clínicos e a morfologia das lesões observadas em importantes surtos de doença muscular em chinchilas em 2009 no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Dados relacionados à epidemiologia e aos sinais clínicos de 277 chinchilas que morreram de doença muscular aguda ou subaguda foram coletados através de entrevistas com os proprietários. Foi realizado exame clínico detalhado e coletadas amostras de sangue de quatro chinchilas, que foram subsequentemente submetidas a eutanásia e necropsiadas. Foi realizado hemograma. Atividades séricas de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), g-glutamyltransferase (GGT) e creatinina cinase (CK) os níveis séricos de triglicerídeos, glicose, colesterol total, e valores de proteína total foram determinados de acordo a técnicas anteriormente publicadas (Schmid & von Forstner 1986); valores de referência para células sanguíneas e parâmetros bioquímicos de chinchilas foram baseados em dados previamente estabelecidos (Quesenberry et al. 2003, Silva et al. 2005).

Exames *postmortem* e histológico foram realizados em 45 chinchilas afetadas. Destas, 25 morreram espontaneamente; as demais foram eutanasiadas devido à acentuada dificuldade respiratória e decúbito lateral. Durante a necropsia foram colhidas amostras de fígado e conteúdo intestinal de quatro chinchilas para exame bacteriológico. Foram colhidos em formalina a 10% fragmentos de diferentes músculos esqueléticos, sistema nervoso central e periférico (nervos ciáticos e plexo braquial), coração, rim, baço, fígado, sistema digestivo, pulmão, útero e testículo. Os tecidos foram rotineiramente processados e embebidos em parafina. Após serem cortados a 3µm, os tecidos foram corados com hematoxilina e eosina; adicionalmente fragmentos de sistema nervoso central e periférico foram corados por *luxol fast blue*.

A determinação qualitativa e quantitativa de antibióticos ionóforos na ração foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência com base em método previamente publicado (Kamphues et al 1990). Foram determinados os níveis de aflatoxinas na ração, conteúdo intestinal e fígado de quatro chinchilas por cromatografia líquida de alta eficiência e *cromatografia líquida* acoplada à *espectrometria de massa* (LC-MS-MS) de acordo com método anteriormente publicado (Mallmann et al. 2000). Adicionalmente, verificou-se a presença de resíduos de pesticidas na ração usando *cromatografia gasosa* acoplada à *espectrometria de massa* com modo de ionização química negativa e monitorando íons selecionados (GC-MS (NCI-SIM)) de acordo com método já estabelecido (Kolberg et al. 2011).

Para comprovar sua toxicidade, a ração foi administrada a três grupos de chinchilas no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria. O Grupo 1 era constituído de quatro chinchilas com idade de oito a dez anos, o Grupo 2 por quatro chinchilas com oito meses de idade e o Grupo 3 por quatro chinchilas com um mês de idade. Foram utilizadas quatro chinchilas controle para cada grupo.

RESULTADOS

Durante as três primeiras semanas de setembro de 2009 foi observada grande mortalidade de chinchilas em criadouros comerciais no Estado do Rio Grande do Sul. As mortes ocorreram principalmente em quatro fazendas, após o fornecimento de uma nova partida de ração para chinchilas. A ração fornecida em todas as fazendas foi adquirida de um mesmo fabricante e pertenciam ao mesmo lote de fabricação. Aproximadamente 2.000 chinchilas foram expostas nas quatro fazendas. A partir do quarto dia do fornecimento, praticamente todas as chinchilas diminuíram o consumo da ração; dessas 427 demonstraram marcada apatia, e 277 morreram ou foram submetidas à eutanásia *in extremis*. As primeiras mortes ocorreram aproximadamente oito dias após o início da alimentação com essa nova partida de ração. Na Propriedade 1, a ração foi suspensa logo após as primeiras mortes, mas ainda ocorreram mortes após uma semana de suspensão do alimento suspeito. Nas outras três propriedades, as chinchilas consumiram a ração por até 15 dias e, nesses estabelecimentos, observou-se mortes de chinchilas até 15 dias após a suspensão da ração. Foi observada maior susceptibilidade dos animais mais jovens (50% dos filhotes desmamados que ingeriram a ração morreram).

Devido a suspeita de contaminação da ração como causa dos surtos, foi investigado a presença de contaminantes bacterianos, coccidiostáticos, pesticidas, e micotoxinas na ração e em órgãos de quatro animais. Os testes foram negativos para todas substâncias testadas, exceto para a droga coccidiostática salinomicina. Amostras da ração revelaram uma concentração de 37ppm de salinomicina.

Os primeiros sinais clínicos se iniciaram a partir do sexto dia após a ingestão da ração e incluíram perda do apetite, anorexia, apatia, diminuição da ingestão de água, relutância em se movimentar, decúbito esternal, seguido por decúbito lateral, dispneia e coma. Algumas fêmeas abortaram. No exame clínico de 15 chinchilas foi observada intensa dor muscular à palpação e apatia. Os reflexos espinhais estavam presentes e não foram observados sinais de disfunção cerebral. O exame de sangue realizado em quatro chinchilas não revelou anormalidades hematológicas. A bioquímica do soro dos mesmos animais revelou atividade elevada de AST (477 UI/L; 452 IU/L; 482 UI; 465 UI), ALT (89 UI; 102 UI; 75 UI; 68 UI), CK (633 IU/L; 580 IU/L; 608 IU/L; 540 IU/L), fosfatase alcalina (203 IU/L; 180 IU/L; 199 IU/L; 201 IU/L), glicose (520mg/dL; 303mg/dL; 455mg/dL; 503mg/dL) e elevação nos níveis de triglicerídeos (2.000mg/dL; 1.500mg/dL; 800mg/dL; 1.800mg/dL) e colesterol total (322 IU/L; 269 IU/L; 180 IU/L; 310 IU/L). A evolução dos sinais clínicos até a morte ou eutanásia foi de 2-5 dias.

Na necropsia de 45 chinchilas (17 machos e 28 fêmeas, doze delas prenhes), todas apresentavam boa condição nutricional. No interior do útero das 12 chinchilas prenhes havia conteúdo viscoso e escuro, os fetos estavam enfisematosos e friáveis (sugerindo que a morte dos fetos havia ocorrido algum tempo antes da morte das mães). O fígado de todas as chinchilas afetadas estava aumentado de vo-

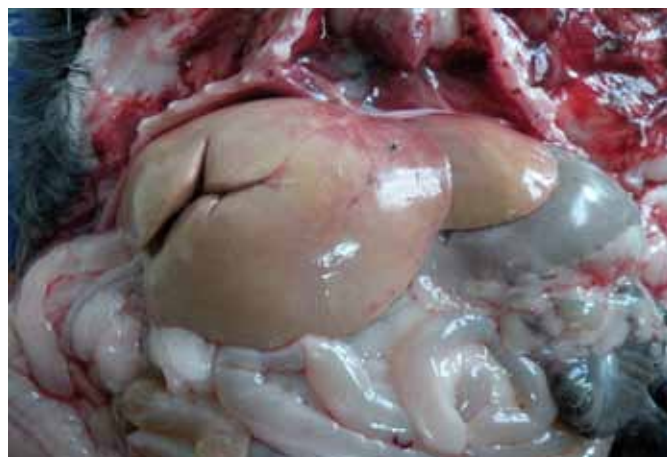


Fig.1. Acentuada lipidose hepática em uma chinchila intoxicada por salinomicina. Observe que o fígado está aumentado de volume, pálido, com as bordas arredondadas. A lipidose hepática é uma consequência do quadro de anorexia desenvolvido pela chinchila e não da ação direta do tóxico.

lume, com bordas arredondadas, pálido e friável (Fig.1). Não foram observadas lesões macroscópicas nos demais órgãos. Microscopicamente, foi observada marcada degeneração e necrose dos músculos dos membros pélvicos e torácicos, músculos lombares, masseter, músculos abdominais e diafragma. Múltiplas fibras musculares estavam hipereosinofílicas, aumentadas de diâmetro, com perda das estriações (Fig.2). Nas chinchilas que sobreviveram por mais dias era possível observar fibras fragmentadas, e as porções fragmentadas tomavam um aspecto de flocos (necrose flocular) (Fig.3 e 4). Em alguns casos o segmento necrótico estava infiltrado por macrófagos e, em menor quantidade, por linfócitos. Eram observadas ainda raras fibras em regeneração (Fig.5). No fígado foi observada marcada vacuolização dos hepatócitos de todas as zonas hepáticas, interpretado como degeneração gordurosa (Fig.6). Não foram observadas anormalidades microscópicas nos demais órgãos analisados.

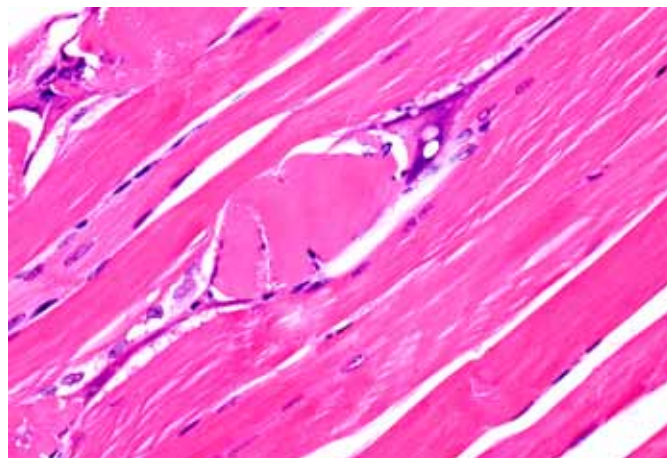


Fig.2. Músculo esquelético de uma chinchila intoxicada por salinomicina. Uma fibra muscular está hipereosinofílica, tumefeita e com perda das estriações. Note que há infiltração de macrófagos nas duas extremidades do segmento de fibra degenerado. HE, obj.20x.

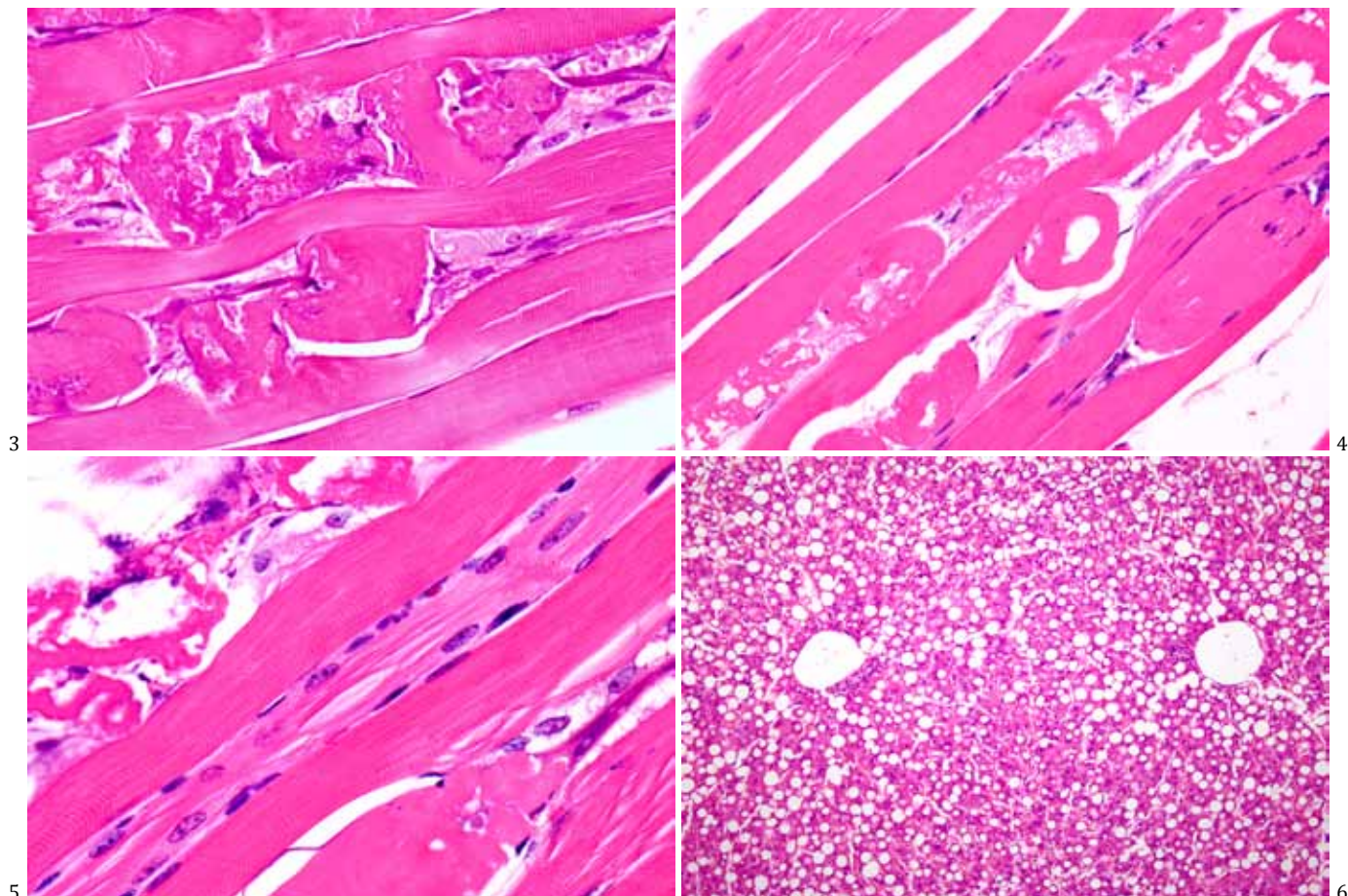


Fig. 3. Necrose segmentar no músculo esquelético de uma chinchila intoxicada por salinomicina. Segmentos de miofibras estão tumefeitos e hipereosinofílico; em outras fibras há segmentos com fragmentação do sarcoplasma (necrose flocular). HE, obj. 20x.

Fig. 4. Secção longitudinal do músculo de uma chinchila intoxicada por salinomicina. O sarcoplasma separou-se da membrana basal, fragmentou-se e está granulado (necrose flocular ou granular). HE, obj. 40x.

Fig. 5. Secção longitudinal do músculo esquelético de uma chinchila que sobreviveu por maior período de tempo consumindo a ração contaminada por salinomicina. Note que as miofibras apresentam lesões em diferentes estágios. Na parte superior há uma fibra com necrose flocular; no centro há invasão de mioblastos numa tentativa de regeneração; no canto inferior direito observe uma fibra tumefeita, com marcada eosinofilia e perda das estriações. HE, obj. 40x.

Fig. 6. Acentuada vacuolização do citoplasma dos hepatócitos (lipidose hepática) em uma chinchila intoxicada por salinomicina. Essa lesão é consequência da restrição alimentar nas chinchilas debilitadas e não resulta de uma ação direta da droga sobre o fígado. HE, obj. 10x.

Os efeitos tóxicos da ração foram comprovados pela sua administração a chinchilas. Três de 12 chinchilas que ingeriam a ração suspeita (25%) morreram; dessas uma era adulta jovem e outras duas eram filhotes (50%). Os sinais clínicos e as lesões microscópicas foram semelhantes aos observados nas quatro fazendas em que as chinchilas ingeriram a mesma ração do mesmo lote.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de toxicose por salinomicina nestes surtos foi baseado nos dados epidemiológicos, sinais clínicos, bioquímica sérica e achados histopatológicos. A causa foi confirmada pela detecção de salinomicina na ração fornecida para as chinchilas em todas as propriedades envolvidas e pela reprodução da doença com a ração suspeita. Fatores determinantes para a ocorrência de toxicose por ionóforos incluem erros na formulação de rações, super dosagem, mistura inadequada do premix e administração da ração

para espécies não-alvo (Novilla 2007). A fábrica onde foi processada a ração envolvida no presente surto realiza mistura de rações para outras espécies animais, como bovinos, aves, suínos e coelhos. No entanto, não foi possível determinar a fonte de contaminação da ração. Possivelmente ocorreu contaminação da ração das chinchilas com ração de outra espécie animal, ou adição de *premix* indicado para outra espécie animal.

Na literatura não há referências quanto à susceptibilidade de chinchilas aos ionóforos, assim como dose terapêutica recomendada. No conhecimento dos autores, esta é a primeira descrição de intoxicação por salinomicina em *Chinchilla lanigera*. Há marcada variação na toxicidade dos antibióticos ionóforos entre as diferentes espécies animais. Os cães, gatos, equinos e perus aparentam serem as espécies mais sensíveis aos ionóforos (Stuart et al. 1983, Novilla & Owen 1997, Rollinson et al. 1987, Van der Linde-Spiman et al. 1999). A avaliação da ração peletizada envolvida nos

surtos aqui relatados demonstrou 37 ppm de salinomicina, valores semelhantes ou inferiores de salinomicina foram observados nos surtos em perus (Stuart 1983), equinos (Rollinson et al. 1987) e gatos (Van der Linde-Sipman et al. 1999). Parece claro que chinchilas são vulneráveis aos efeitos tóxicos de antibióticos ionóforos, em dose relativamente baixas. Considerando que uma chinchila adulta com peso médio de 800g consome aproximadamente 80g/dia de uma ração contendo 37ppm de salinomicina, pode-se inferir que no presente surto foi ingerido uma dose de 3.7mg de salinomicina/kg peso vivo/dia.

Os exames bioquímicos do soro sanguíneo em quatro chinchilas revelaram níveis aumentados da ALT, AST, fosfatase alcalina, CK, glicose, triglicerídeos e colesterol total. Altos níveis de AST, ALT e CK foram descritos em outras espécies animais intoxicadas por ionóforos (Rollinson et al. 1987, Novilla 2007, Rajaian et al. 2009). ALT é uma enzima citoplasmática, e AST é uma enzima tanto citoplasmática quanto mitocondrial. O aumento do nível de AST no soro pode indicar dano hepático e/ou muscular. A atividade de CK aumentada no soro é um indicativo característico de lesão muscular, comprovada pela avaliação histológica das chinchilas neste surto. Todas as chinchilas necropsiadas demonstraram degeneração hepática em grau moderado ou acentuado. Essa alteração tem sido observada em chinchilas que morrem por diferentes causas (Newberne 1953). Na nossa experiência, vacuolização hepática é também observada em associação a várias doenças de chinchilas e mesmo em chinchilas mantidas em restrição alimentar antes do abate (dados não publicados). Em razão disso lipídose hepática, mesmo acentuada, não deve ser considerada característica de aflatoxicose como foi anteriormente sugerido (Pereyra et al. 2008) nem de qualquer intoxicação específica.

A intensidade e a distribuição das lesões na intoxicação por ionóforos variam de acordo com a espécie animal. Lesões miocárdicas geralmente predominam sobre as lesões do músculo esquelético em bovinos e o inverso é verdadeiro para suínos; em frangos a intensidade é equivalente de lesões em ambos os tipos de músculos (Salles et al. 1994). Lesões miocárdicas nas chinchilas do presente surto não foram observadas na macroscopia ou na histologia. Em outras espécies, sugeriu-se que a intensidade de lesões macroscópicas e varia com a dose e duração de exposição ao antibiótico ionóforo (Salles et al. 1994, Bezerra et al. 1999). Em surtos de intoxicação por salinomicina em gatos a doença se manifestou de forma diferente, foram observadas lesões microscópicas neurodegenerativas periféricas e lesão muscular leve a ausente (Van der Linde-Sipman et al. 1999), doença clínica semelhante foi sugerida em cães possivelmente intoxicados por ionóforos (Safran et al. 1993). Neste surto os cães sobreviveram após o tratamento de suporte, e não foram realizadas avaliações patológicas. Colorações com *luxol fast blue* nos nervos periféricos de todas as chinchilas necropsiadas no presente surto descartou a ocorrência de lesões neurodegenerativas.

No nosso conhecimento, não há na literatura relatos de miopatia necrosante em chinchilas. Em outras espécies animais, degeneração e necrose muscular têm sido associadas

à ingestão de agentes tóxicos ou deficiência de vitamina E/selênio e esses devem ser considerados no diagnóstico diferencial na intoxicação por ionóforos (Barros 2007). No Sul do Brasil *Senna occidentalis* é uma importante causa de miopatia tóxica em bovinos em casos de contaminação da ração com sementes da planta ou ingestão da planta em pastoreio (Carmo et al. 2011). No presente surto, a investigação epidemiológica, não indicou a contaminação por sementes dessa planta na ração. A deficiência de vitamina E/selênio descrita em outras espécies, afeta geralmente animais jovens, a maioria das vezes na fase de lactação, dias ou meses após a introdução da ração deficiente (Barros 2007). No presente surto, as mortes ocorreram poucos dias após a administração da ração, foi afetado grande número de animais de todas as idades e a taxa de mortalidade diminuiu à medida que foi suspensa a administração da ração.

Agradecimentos.- Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Agaoglu Z.T, Akgul Y, Keles I, Ugras S., Aksoy A. & Cinar A. 2002. Accidental salinomycin intoxication of Angora goats in Turkey. *Small Rum. Res.* 45:159-161.
- Barros C.S.L. 2007. Intoxicação por antibióticos ionóforos, p.45-49. In: Riet-Correa F, Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R. (Eds), *Doenças de Ruminantes e Eqüídeos*. Vol.2. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria.
- Bezerra P.S, Loretti A.P, Riet-Correa F, Kamphues J. & Barros C.S.L. 1999. Monensin poisoning Brazilian horses. *Vet. Human Toxicol.* 41:383-385.
- Carmo P.M.S., Irigoyen L.F., Lucena R.B., Figuera R.A., Kommers G.D. & Barros, C.S.L. 2011. Spontaneous coffee senna poisoning in cattle: Report on 16 outbreaks. *Pesq. Vet. Bras.* 31:139-146.
- Gava A., Wouters A.T.B., Wouters F, Nizgoski L. & Barros C.S.L. 1997. Intoxicação por salinomicina em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 17:127-130.
- Li Y, Frang J., Wu S., Ma K, Li H, Yan X. & Dong, F. 2010. Identification and qualification of salinomycin in intoxication human plasma by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 398:955-961.
- Kamphues J, Meyer H., Liebler E.M. & Johannsen A. 1990. Animal nutrition for veterinarians – recent cases of clinical disorders in horses after intake of ionophore containing feed. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 97:537-539.
- Kinashi H., Ôtake N., Yonehara H., Sato S. & Saito S. 1973. The structure of salinomycin, a new member of the polyether antibiotics. *Tetrahedron Lett.* 49:4955-4958.
- Kolberg D.I., Prestes O.D., Adaime M.B. & Zanella R. 2011. Development of a fast multiresidue method for the determination of pesticides in dry samples (wheat grains, flour and bran) using QuEChERS based method and GC-MS. *Food Chem.* 125:1436-1442.
- Miller D.J.S, O'Connor J.J. & Roberts, N.L. 1986. Tiamulin/salinomycin interactions in pigs. *Vet. Rec.* 118:173-175.
- Mallmann C. A., Santurio J. M., Caade A., Fontana F. Z., Mostardeiro C. P. & Stefanon, E. B. 2000. Automation of the analytical procedure for the simultaneous determination of aflatoxins AFB1, AFB2, AFG1 and AFG2. 10th International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, Guarujá, SP, p.25. (Abstracts) Instituto Adolfo Lutz, Guarujá.
- Mitani M., Yamanishi T., Miyazaki Y. & Otake, N. 1976. Salinomycin effects on mitochondrial ion translocation and respiration. *Antimicrob. Agents Chemother.* 9:655-660.
- Miyazaki Y, Shibuya M., Hideo S., Kawaguchi O., Hirose C., Nagatsu J. & Esumi S. 1974. Salinomycin, a new polyether antibiotic. *J. Antibiot.* 27:814-821.
- Naujokat C., Fuchs D. & Opelz G. 2010. Salinomycin in cancer: A new mission for an old agent. *Mol. Med. Report* 3:555-559.

- Newberne P.M. 1953. An outbreak of bacterial gastroenteritis in the South American chinchilla. *North. Am. Vet.* 34:187-188.
- Novilla M.N. 1992. The veterinary importance of the toxic syndrome induced by ionophores. *Vet. Human Toxicol.* 34:66-70.
- Novilla M.N. 2007. Ionophores, p.1021-1041. In: Gupta R.C. (Ed.), *Veterinary Toxicology: basic and clinical principles*. Elsevier-AP, Amsterdam.
- Peixoto P.V., Nogueira V.A., González A.P., Tokarnia C.H. & França T.N. 2009. Accidental and experimental salinomycin poisoning in rabbits. *Pesq. Vet. Bras.* 29:695-699.
- Pereyra M.L.G., Carvalho E.C.Q., Tissera J.L., Keller K.M., Magnoli C.E., Rosa C.A.R., Dalcerro A.M. & Cavaglieri, L.R. 2008. An outbreak of acute aflatoxicosis on a chinchilla (*Chinchilla Lanigera*) farm in Argentina. *J. Vet. Diagn. Invest.* 20:853-856.
- Plumlee K.H., Johnson B. & Gale, F.D. 1995. Acute salinomycin toxicosis of pigs. *J. Vet. Diagn. Invest.* 7:419-420.
- Quesenberry K.E., Donnelly T.M. & Hillyer E.V. 2003. Biology, husbandry, and clinical techniques of guinea pigs and chinchillas, p.231-244. In: Quesenberry K.E. & Carpenter J.W. (Eds), *Ferrets, Rabbits, and Rodents: Clinical medicine and surgery*. 2nd ed. W.B. Saunders, St Louis, Missouri.
- Rajaian H., Nazifi S., Fazeli M., Poobaghi S.L., Sepehrimanesh M. & Ghezlbash A. 2009. Effects of various oral doses of salinomycin on serum biochemical parameters in calves. *Comp. Clin. Pathol.* 18:233-237.
- Rollinson J., Taylor F.G.R. & Chesney J. 1987. Salinomycin poisoning in horses. *Vet. Rec.* 121:126-128.
- Safran N., Aizenberg J. & Bark H. 1993. Paralytic syndrome attributed to lasalocid residues in a commercial ration fed to dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 202:1273-1275.
- Silva T.O., Kreutz L.C., Barcellos L.J.G., Borella J., Soso A.B. & Souza C. 2005. Reference values for Chinchilla (*Chinchilla laniger*) blood cells and serum biochemical parameters. *Ciência Rural* 35:602-606.
- Schmid M & von Forstner M. 1986. *Laboratory Testing in Veterinary Medicine: Diagnosis and clinical monitoring*. Boehringer, Mannheim, Germany, p.77-92.
- Stuart J.C. 1983. Salinomycin poisoning in turkeys. *Vet. Rec.* 113:597.
- Salles M.W.S., Barros C.S.L. & Barros S.S. 1994. Ionophore antibiotic (narsin) poisoning in rabbits. *Vet. Hum. Toxicol.* 36:437-444
- Van der Linde-Sipman J.S., Van den Ingh T.S.G.A.M., Van Nes J.J., Verhagen H., Kersten J.G.T.M., Beynen A.C. & Plekkringa R. 1999. Salinomycin-induced Polyneuropathy in cats: Morphologic and epidemiologic data. *Vet. Pathol.* 36:152-156.

5 CAPÍTULO 4

Necrotizing enteritis associated with *Clostridium perfringens*
Type B in chinchillas (*Chinchilla lanigera*)

Ricardo B. Lucena, Luana Farias, Felipe Libardoni, Agueda C. Vargas, Paula R.
Giaretta and Claudio S. L. Barros

(Artigo publicado na revista **Pesquisa Veterinária Brasileira**)

Pesq. Vet. Bras. 31(12):1071-1074, dezembro 2011

Necrotizing enteritis associated with *Clostridium perfringens* Type B in chinchillas (*Chinchilla lanigera*)¹

Ricardo B. Lucena², Luana Farias², Felipe Libardoni², Agueda C. Vargas³, Paula R. Giaretta⁴ and Claudio S. L. Barros⁵

ABSTRACT- Lucena R.B., Farias L., Libardoni F., Vargas A.C. Giaretta P.R. & Barros C.S.L. 2011. **Necrotizing enteritis associated with *Clostridium perfringens* Type B in chinchillas (*Chinchilla lanigera*).** *Pesquisa Veterinária Brasileira* 31(12):1071-1074. Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil. E-mail: claudioslbarros@uol.com.br

Four 3-4 month-old chinchillas (*Chinchilla lanigera*) from a commercial flock of 395 chinchillas, were found dead with evidence of previous diarrhea and prolapsed rectum. A fifth 8 month-old chinchilla died 8 hours after being found recumbent, apathetic, diarrheic and with a prolapsed rectum. Two chinchillas were necropsied and observed gross lesions consisted of extensive hemorrhagic enteritis, mild pulmonary edema and enlarged and yellow liver; this latter finding was particularly prominent in the chinchilla presenting longer clinical course. Histologically there was necrotizing enteritis associated with abundant bacterial rods aggregates in the intestinal surface epithelium and within the *lamina propria*. In the lungs there were small amounts of pink proteinaceous material (edema) in the interstitium and marked vacuolar hepatocellular degeneration (lipidosis) in the liver. Anaerobic cultures from the intestinal contents of one of the affected chinchillas yielded *Clostridium perfringens*. Genotyping of this *C. perfringens* isolate was achieved by multiplex polymerase chain reaction (mPCR) as *C. perfringens* type B due to detection of alpha, beta and epsilon-toxin genes. These findings suggest *C. perfringens* type B as an important cause of sudden or acute death in chinchillas.

INDEX TERMS: Diseases of chinchilla, pathology, *Clostridium perfringens*, enterotoxemia, intestinal infection.

RESUMO.- [Enterite necrosante associado a infecção por *Clostridium perfringens* tipo B em chinchilas (*Chinchilla lanigera*).] Quatro chinchilas (*Chinchilla lanigera*) com 3-4 meses de idade, pertencentes a um criadouro comercial com 395 chinchilas, foram encontradas mortas com evidências de diarréia prévia e prolapso de reto. Uma quinta chinchila, de oito meses de idade, foi encontrada em decúbito, apática,

com diarréia e prolapso de reto, e morreu após oito horas. Duas chinchilas foram submetidas à necropsia. As lesões macroscópicas consistiam de extensa enterite hemorrágica, moderado edema pulmonar e fígado pálido e aumentado de volume; este achado foi particularmente proeminente na chinchila que apresentou curso clínico mais longo. Histologicamente foi observado enterite necrosante associada a numerosos agregados bacterianos na superfície epitelial com invasão da lâmina própria. Nos pulmões foi observada pequena quantidade de material proteináceo róseo amorfo (edema) no interstício e marcada degeneração hepatocelular vacuolar (lipidose). Cultura anaeróbica do conteúdo intestinal de uma chinchila afetada revelou crescimento de *Clostridium perfringens*. A genotipificação de *C. perfringens* isolado, realizada por reação em cadeia de polimerase *multiplex* (mPCR), revelou *C. perfringens* tipo B pela detecção das toxinas alfa, beta e épsilon. Estes achados sugerem que infecção por *C. perfringens* tipo B é uma importante causa de morte súbita ou aguda em chinchilas.

¹ Received on August 16, 2011.

Accepted for publication on September 5, 2011.

² Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil.

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, CCR-UFSM, Santa Maria, RS.

⁴ Graduação em Medicina Veterinária, Laboratório de Patologia Veterinária, CCR-UFSM, Santa Maria, RS.

⁵ Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde, UFSM, Avenida Roraima 1000, Santa Maria, RS 97105-900, Brasil. *Corresponding author: claudioslbarros@uol.com.br

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Doenças de chinchilas, patologia, *Clostridium perfringens*, enterotoxemia, infecção intestinal.

INTRODUCTION

Clostridium perfringens is a Gram-positive, anaerobic, rod-shaped, spore forming, oxygen-tolerant anaerobe which is a common inhabitant of the intestine of human beings and animals, but is also found in the environment (Songer 1996). *C. perfringens* is classified in five toxinotypes (A-E), according to the production of 4 major toxins (alpha [CPA], beta [CPB], epsilon [ETX], and iota [ITX]) (Hatheway 1990). *C. perfringens* type B produces alpha, beta, and epsilon toxin (Uzal & Songer 2008). CPA, the main lethal toxin of *C. perfringens*, is a multifunctional phospholipase, produced in varying amounts by almost all *C. perfringens* isolates. It causes hydrolysis of membrane phospholipids in different cells, resulting in lysis. It is lethal to mice, guinea pigs and rabbits when administered parenterally and causes hemolysis of erythrocytes of some animal species *in vitro* (Coetzer & Tustin 2004). CPB is a major virulence factor of *Clostridium perfringens*. The biological function of this lethal toxin has been largely unclear, although it is known to be an important factor in the pathogenesis of necrotic enteritis in humans and animals with a lethal pore-forming toxin (Steinthorsdottir 2000). The toxin apparently induces the release of catecholamines that are responsible for the increased blood pressure (Sakurai et al 1984). When injected i.d. into guinea pigs, a minimum dose of 2 ng causes purple areas of dermatonecrosis (Hatheway 1990). Epsilon toxin is produced as a prototoxin that is activated by proteolytic enzymes produced by the same organism (the kappa and lambda-toxins), or it can be activated by adding trypsin to the culture (Hatheway 1990). The gene for the production of epsilon toxin is thought to reside on a plasmid and is found only in strains of *C. perfringens* types B and D (Songer 1996). Epsilon-toxin primarily affects the intestine by increasing permeability of the gut wall, thus enhancing its own uptake, and acts systematically as a lethal toxin (Buxton 1978). After entering the circulation, it causes swollen hyperemic kidneys, edema in the lungs, and excess pericardial fluid (McDonel 1980). Small amounts of ETX detected in the gut of normal animals are considered innocuous, but persistence of high concentrations can be highly lethal; by increasing intestinal permeability and due to absorption into the circulation the toxin primarily targets the central nervous system, where it produces perivascular edema, hemorrhages and necrosis (Songer 1996).

Documentation of enteric disease by *C. perfringens* in chinchillas is rare and includes reports of the disease caused by type D (Newberne 1953, Moore & Greenlee 1975) and type A *C. perfringens* (Bartoszcze et al. 1990). These reports describe the clinical and microbiological aspects of the disease but little attention is drawn to the gross and histopathological lesions. Enteric disease in chinchillas caused by *C. perfringens* type B is apparently unreported.

The current study reports the occurrence of sudden deaths associated with necrotizing enteritis in chinchillas associated with *C. perfringens* type B toxin-infection and re-

ports on the gross and histopathological lesions as well on the use of multiplex polymerase chain reaction (mPCR) to confirm the diagnosis of the condition.

MATERIALS AND METHODS

An outbreak of sudden deaths observed in chinchillas from a commercial flock located in Southern Brazil. In this flock, comprising 395 chinchillas of various ages, four 3 to 4-month-old chinchillas (Chinchillas 1-4) were found dead. Liquid dark brown feces were adhered to the hairs of perianal region indicating previous diarrhea. Another chinchilla (Chinchilla 5) was found apathetic, diarrheic and with prolapsed rectum. Clinical course from the observation of first signs to death in Chinchilla 5 was 8 hours. Complete necropsies were performed in two chinchillas (chinchillas 4 and 5) and fragments of the following organs were sample in 10% buffered formalin: heart, lung, liver, spleen, kidney, brain, skeletal muscle, small and large intestine. After 24 hours of fixation the specimens were routinely processed for histopathology, sectioned to 4 µm and stained by hematoxylin and eosin. Intestinal contents and feces from one animal (Chinchilla 5) was cultured both aerobically and anaerobically on 5% sheep blood Agar; cultivated micro-organisms were identified through morphological and tinctorial characteristics and, after identification, isolated for further molecular characterization. *C. perfringens* DNA was extract by the CTAB (*Cetyltrimethylammonium bromide*) method (Sambrook & Russell 2001). Genotyping of the *C. perfringens* isolate was performed through multiplex polymerase chain reaction (mPCR) using specific primers for the toxin genes for *cpa*, *cpb*, *itx*, *etx* and *cpe* (enterotoxin) and methods described elsewhere (Meer & Songer 1997) (Table 1). Eight µl from the product of PCR were submitted to 1.5% agarose gel electrophoresis, stained with ethidium bromide and examined through ultraviolet transillumination.

Table 1. Sequence of the primers used in the multiplex PCR for amplification of genes encoding toxins and *Clostridium perfringens* types

Gene*	Toxin	Sequence 5' - 3'	Product (bp)**	Types
<i>cpa</i>	α-toxin	GCTAATGTTACTGCCGTTGACC TCTGATACATCGTGAAG	324	A, B, C, D, E
<i>cpb</i>	β-toxin	GCGAATATGCTGAATCATCTA GCAGGAACATTAGTATATCTTC	196	B, C
<i>iap</i>	ι-toxin	ACTACTCTCAGACAAGACAG CTTTCCTTCTATTACTATAACG	446	E
<i>etx</i>	ε-toxin	GCGGTGATATCCATCTATTTC CCACTTACTTGTCTACTAAC	655	B, D
<i>cpe</i>	enterotoxin	GGAGATGGTTGGATATTAGG GGACCAGCAGTTGTAGATA	233	A, B, C, D, E

* Oligos for the major toxin genes of *Clostridium perfringens* (Meer et al. 1997), ** Base par.

RESULTS

The gross and histopathological findings in the two necropsied chinchillas were mainly restricted to the intestines and were more marked in Chinchilla 5. Necropsied animals were in good body condition. The small intestine was distended by gas and was markedly reddened (Fig.1). The intestinal content was liquid and hemorrhagic and the mucosal surface was diffusely reddened, necrotic and covered by fibrin. Mild edema was observed in the lung. The liver was enlarged with rounded edges and the hepatic parenchyma was yellow, greasy and more friable than normal (hepatic

lipidosis); this latter change was particularly marked in chinchilla 5. No Gross changes were observed in the other organs. Histologically, there was coagulative necrosis and loss of the jejunal lining epithelium. The epithelial deprived areas were covered by a meshwork of fibrin and entrapped neutrophilic inflammatory cell infiltrate, necrotic cells consisting of cell debris, associated with hemorrhage and numerous basophilic bacilli aggregates (Fig.2). The lamina propria underneath was markedly infiltrated by plasma cells, lymphocytes and neutrophils with intralesional bacilli aggregates. Diffusely in the liver there was marked hepatocellular vacuolation which peripheralizes the hepatocyte nuclei (hepatic lipidosis). In the lungs there were small amounts of pink proteinaceous material (edema) in the interstitium. No lesions were found in the remaining organs sampled at necropsy for histopathological examination.

Clostridium perfringens was isolated from the intestinal content of chinchilla 5 and grew only in holding jars with



Fig.1. *Clostridium perfringens* type B necrotizing enteritis in Chinchilla 5. The intestine is distended by gas and bloody fluid; the intestinal serosa is markedly reddened. Note the pale and enlarged liver (hepatic lipidosis).

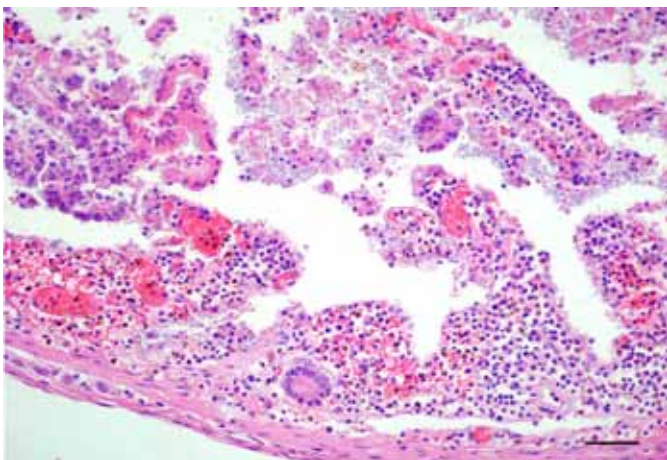


Fig.2. Photomicrograph of the small intestine in Chinchilla 5 showing necrotizing enteritis caused by *Clostridium perfringens* type B. Observe extensive necrotic areas of the intestinal epithelial and myriads of bacilli aggregates admixed with fibrin, cell debris and inflammatory cells within the lumen. Hematoxylin and eosin, obj.20x. Bar = 100µm.

an O₂ free atmosphere at 37°C. Colonies on blood agar showed a characteristic double-zone hemolysis around the colony: an inner clear zone due to theta-toxin; and an outer hazy zone due to CPA toxin. Gram staining, organisms were short gram-positive rods. By using mPCR the sample amplified the fragments of *cpa* (324 bp), *cpb* (196 bp) e *etx* (655 bp) genes visualized in agarose gel (1.5%) (Fig.3) which allowed genotyping of the isolate as *C. perfringens* tipo B (Meer & Songer 1997).

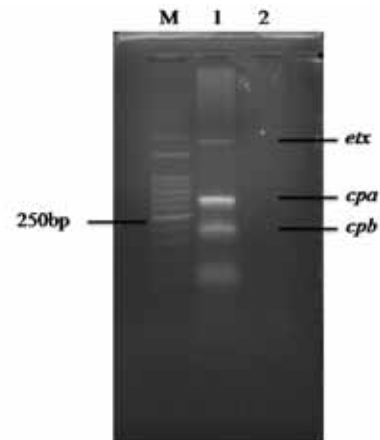


Fig.3. Agarose gel (1,5%) electrophoresis of multiplex *Clostridium perfringens* PCR. Lane M: size marker (Ludwig 50bp DNA ladder). Lane 1: *Cl. perfringens* type B isolate from *Chinchilla lanigera*. Lane 2: negative control. The amplified PCR products of beta (*cpb*), alpha (*cpa*) and epsilon-toxin (*etx*) are 196, 324 and 655bp, respectively.

DISCUSSION

The tentative diagnosis of intestinal infection by *Clostridium perfringens* was made based on clinical presentation (sudden death) and pathological findings of necrotizing enteritis associated with great numbers intralesional bacilli. The establishment of *C. perfringens* type B as the cause of the enteric condition was achieved by anaerobic bacteriological culture of the organism and the detection by PCR of the toxin genes *cpa*, *cpb* and *etx*. Although the toxin detection in the intestinal contents are indicated, it was not performed in the current cases due to the fast degradation of the toxins after death by the trypsin produced in the intestinal lumen (Sakurai & Duncan 1978). However the fact that *Clostridium* organisms are not normal constituents of the intestinal flora in chinchilla and that there no reports of *C. perfringens* type B supports our diagnosis.

The infection by *C. perfringens* is considered to be the most important cause of clostridial enteric disease in animals (Songer 1996) and deaths caused by *C. perfringens* type A (Bartoszcze et al. 1990) and D (Newberne 1953, Moore & Greenlee 1975) infections have been reported in chinchillas. In these previously described outbreaks the outcome of the illness was sudden deaths similarly to what was observed in the affected animals of this report. As was the case in the affected chinchillas from the current report, the reported deaths of chinchillas due to enteric infection by *C. perfringens* type A (Bartoszcze et al. 1990) was asso-

ciated with severe necrotizing enteritis; the reported centrilobular hepatic necrosis and splenic white pulp hyperplasia found in *C. perfringens* type infection (Bartoszcze et al. 1990) was not present in the chinchillas of this report. Severe hepatic lipidosis was a consistent finding in the affected chinchillas of this report. Hepatic lipidosis is a fairly common necropsy finding in chinchillas in a good nutritional plane that are submitted to alimentary restriction due to lack of food or illnesses-related anorexia (our unpublished data) and can not be construed as a specific lesion for any disease in particular. Most likely this is a lesion associated to increased hepatic influx of fatty acids due their mobilization from fat deposits for energy supply.

Enteric *C. perfringens* infections in farm animals and other species are generally called enterotoxemia because toxins produced in the intestine are absorbed in the general circulation and exert their action systemically (Uzal & Songer 2008). However, although this is true for many of *C. perfringens* toxins, some toxins produced in the intestine act only locally, as is the case of hemorrhagic enteritis produced by *C. perfringens* type B in small ruminants (Uzal & Songer 2008). In the cases of chinchillas reported here the lesions were basically restricted to the intestines in the form of necrotizing enteritis. No signs of systemic toxin action were evident; therefore it was preferred to name the condition by its main morphological diagnosis. However enterotoxemia is not excluded in these cases and actually probably occurred, since sudden or acute deaths associated with enterocolitis have been described in goats with enterotoxemia due to *C. perfringens* type D (Uzal et al. 2008).

Predisposing factors for *C. perfringens* type B induce necrotizing enteritis have not been investigated in chinchillas. *C. perfringens* is commonly found in the intestines of animals does not exhibit adherence and invasive properties towards healthy intestinal mucosa (Songer 1996). The disease manifests itself especially when there is sudden change in feeding to highly fermentable carbohydrates (Radostits et al. 2007). Information on possible dietary changes in the chinchillas of this report was not available and therefore it is not possible to speculate on the predisposing factors in this particular instance.

The results presented here suggest that *C. perfringens*

type B enteric infection is an important etiology to be considered in cases of sudden or acute deaths in chinchillas. PCR could be an useful diagnostic aid in such cases.

Acknowledgements.- This study was financially supported by the Brazilian agency National Council of Scientific and Technologic Development (CNPq), Grant 473493/2010-1.

REFERENCES

- Bartoszcze M., Nowakowska M., Rozskowski J., Matras J., Palec S. & Wystup E. 1990. Chinchilla deaths due to *Clostridium perfringens* A enterotoxin. *Vet. Rec.* 126:341-342.
- Buxton D. 1978. Further studies on the mode of action of *Clostridium welchii* type D epsilon toxin. *J. Med. Microbiol.* 11:293-298.
- Coetzer J.A.W. & Tustin R.C. 2004. *Clostridium perfringens* group infections, p.1819-1828. In: *Ibid.* (Eds), *Infections Diseases of Livestock*. Vol.3. 3rd ed. Oxford University Press, New York, NY.
- Hatheway C.L. 1990. Toxigenic clostridia. *Clin. Microbiol. Rev.* 3:66-98.
- McDonel J.L. 1980. *Clostridium perfringens* toxins (type A, B, C, D, E). *Pharmacol. Ther.* 10:617-655.
- Meer R.R. & Songer J.G. 1997. Multiplex polymerase chain reaction assay for genotyping *Clostridium perfringens*. *Am. J. Vet. Res.* 58:702-705.
- Moore R.W. & Greenlee H.H. 1975. Enterotoxemia in chinchillas. *Lab. Anim.* 9:153-154.
- Newberne P.M. 1953. An outbreak of bacterial gastroenteritis in South American chinchilla. *North. Am. Vet.* 34:187-188.
- Radostits O.M., Gay C.C. & Hinchcliff K.W. & Constable P.T. 2007. *Veterinary Medicine*. 10th ed. Saunders Elsevier, Edinburgh, UK.
- Sakurai J. & Duncan C.L. 1978. Some properties of beta-toxin produced by *Clostridium perfringens* type C. *Infect. Immun.* 21:678-680.
- Sakurai J, Fujii Y, Dezaki K & Endo K. 1984. Effect of *Clostridium perfringens* beta toxin on blood pressure of rats. *Microbiol. Immunol.* 28:23-31.
- Sambrook J. & Russell D.W. 2001. *Molecular cloning*, p.1.149, 6.61-6.62, 16.33-16.41. In: *A Laboratory Manual*. 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- Songer J.G. 1996. *Clostridial Enteric Diseases of Domestic Animals*. *Clin. Microbiol. Rev.* 9:216-239.
- Steinthorsdottir V., Halldórsson H. & Andreósson O.S. 2000. *Clostridium perfringens* beta-toxin forms multimeric transmembrane pores in human endothelial cells. *Microb. Pathog.* 28:45-50.
- Uzal F.A. & Songer J.G. 2008. Diagnosis of *Clostridium perfringens* intestinal infections in sheep and goats. *J. Vet. Diagn. Invest.* 20:253-265.
- Uzal F.A., Fish D.J., Saputo J., Sayeed S., McClane B.A., Songer G., Trinh H.T., Fernandez M.M.E. & Gard S. 2008. Ulcerative enterocolitis in two goats associated with enterotoxin- and beta2 toxin-positive *Clostridium perfringens* type D. *J. Vet. Diagn. Invest.* 20:668-672.

6 CAPÍTULO 5

Gastrite crônica e metaplasia intestinal em chinchilas naturalmente infectadas por
Helicobacter spp.

Ricardo B. Lucena, Maria Elisa Trost, Mauro P. Soares, Paula R. Giaretta, Glaucia D.
Kommers, Rafael A. Fighera e Claudio S. L. Barros

(Artigo pronto para ser submetido para publicação na revista **Pesquisa Veterinária
Brasileira**)

Gastrite crônica e metaplasia intestinal em chinchilas naturalmente infectadas por *Helicobacter* spp.¹

Ricardo B. Lucena², Maria Elisa Trost², Mauro P. Soares³, Paula R. Giaretta⁴, Glaucia D. Kommers⁵, Rafael A. Fighera⁵ e Claudio S. L. Barros⁵

ABSTRACT.- Lucena R.B., Trost M.E., Soares M.P., Giaretta P.R., Kommers, G.D., Fighera R.A. & Barros C.S.L. 2011 [**Chronic gastritis and intestinal metaplasia in chinchillas naturally infected with *Helicobacter* spp.**] Gastrite crônica e metaplasia intestinal em chinchilas naturalmente infectadas por *Helicobacter* spp. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil. E-mail

The aim of this study was to determine whether there is an association between *Helicobacter* spp. infection of the stomach of chinchillas and the presence of gastric lesions and epithelial proliferation within the mucosa of this tissue. The rapid urease test was positive in all animals. Histological examination of the stomachs of chinchillas at necropsy showed chronic gastritis in all chinchillas. Lesions consisted of moderate to heavy infiltration of the lamina propria by lymphocytes and plasma cells, and enlarged lymphoid follicles in all regions of the stomach. Intestinal metaplasia and dysplasia were observed in almost all of the chinchillas. Gastric *Helicobacter*-like organisms were detected by Warthin-Starry staining and immunohistotologically in all animals. Electron microscopy showed the bacteria on the epithelial surface and in gastric pits. The study indicates that *Chinchilla lanigera* has a naturally occurring gastritis associated with *Helicobacter* spp. and may therefore be a suitable animal model for the study of the gastritis and gastric cancer.

¹ Recebido em.

Aceito para publicação em

² Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia Veterinária, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brasil.

³ Laboratório Regional de Diagnóstico, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). Campus Universitário, Pelotas, RS CP 354, 96010-900, Brasil.

⁴ Graduação em Medicina Veterinária, Laboratório de Patologia Veterinária, CCR, UFSM, Santa Maria, RS.

⁵ Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde, UFSM, Santa Maria, RS 97105-900, Brasil.

*Autor para correspondência: claudioslbarros@uol.com.br

INDEX TERMS: chinchilla, gastritis, *Helicobacter*, stomach, preneoplastic lesions, pathology.

RESUMO.- Este estudo teve como objetivo determinar a associação entre infecção por *Helicobacter* spp. no estômago de chinchilas e a presença de lesões gástricas e proliferação epitelial da mucosa desse tecido. O teste rápido da urease foi positivo em todos os animais. Exame histológico do estômago revelou gastrite crônica em todas as chinchilas. As lesões consistiam em moderada a acentuada infiltração de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria, e grandes folículos linfóides em todas as regiões do estômago. Metaplasia intestinal e displasia gástrica foram observadas em quase todas as chinchilas. Organismo semelhantes a bactérias do gênero *Helicobacter* foram detectadas por coloração de Warthin-Starry e por imuno-histoquímica em todos os animais. A microscopia eletrônica revelou bactérias na superfície epitelial e nas fossetas gástricas. O estudo indica que *Chinchilla lanigera* tem ocorrência natural de gastrite associada a infecção por *Helicobacter* spp. e pode, portanto, ser um modelo animal adequado para o estudo da gastrite e câncer gástrico.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: chinchilas, gastrite, *Helicobacter*, estômago, lesões pré-neoplásicas, patologia.

INTRODUÇÃO

A primeira descrição de bactérias espiraladas na mucosa do estômago foi reportada num estudo com cães em 1893 (Bizzozero 1893). Somente 20 anos após o relato em cães, um tipo semelhante de bactérias foi reconhecido na mucosa gástrica humana (IARC 2011). A associação entre bactérias espiraladas e gastrite por sua vez, só foi reconhecida na década de 1980 e revolucionou o entendimento da gastrite crônica (Marshall & Warren, 1984). Atualmente, estima-se que aproximadamente 50% da população mundial encontra-se infectada por *H. pylori*, com maior prevalência nos países em desenvolvimento (Peek & Blaser 2002). A bactéria está presente em quase todos os pacientes humanos acometidos por gastrite crônica ativa, úlcera duodenal, ou úlcera gástrica e é, portanto, considerada um importante fator na etiologia dessas lesões (Marshall & Warren 1984, Peek & Blaser 2002). Estudos epidemiológicos indicam ainda, que a infecção por *Helicobacter pylori* é o principal fator de risco conhecido para o desenvolvimento de adenocarcinoma gástrico e linfoma do

tecido linfoide associado à mucosa (linfoma MALT) em humanos (IARC 1994, Peek & Blaser 2002).

A ocorrência de espécies de *Helicobacter* tem sido descrita em numerosas espécies animais (Nedrud 1999, Lee 2000). No entanto, relatos de lesão gástrica associada à presença natural de *Helicobacter* são incomuns. Gastrite subclínica tem sido documentada em macacos rhesus e cinomolgus infectados naturalmente por *Helicobacter pylori* (Baskerville & Newell 1988, Dubois et al. 1994, Handt et al. 1997, Riendel et al. 1999). Guepardos (*Acinonyx jubatus*) criados em cativeiro colonizados por *H. acinonychis* desenvolveram gastrite acompanhada por quadro de vômito e perda de peso (Eaton et al. 1993, Munson et al. 1999). Uma colônia de gatos infectados naturalmente por *H. pylori* manifestaram gastrite folicular difusa, com atrofia e áreas de displasia da mucosa gástrica (Esteves et al. 2000). A infecção por *H. muridarum* tem sido descrita como causa de gastrite em algumas linhagens de camundongos velhos (Lee et al. 1992, Queiroz et al. 1992). Relatos de metaplasia intestinal e câncer gástrico associados à infecção natural por espécies de *Helicobacter* são encontrados apenas em furões infectados por *H. mustelae* (Fox et al. 1990, Erdman et al. 1997, Fox et al. 1997), e em hamsters sírios infectados por *H. aurati* (Nambiar et al. 2005).

Infecção experimental por *H. pylori* tem sido induzida em diferentes animais (Kusters et al. 2006), porém, apenas gerbils da Mongólia (Watanabe et al. 1998) e camundongos geneticamente modificados (Rogers et al. 2005) infectados por *H. pylori* se mostraram eficientes no desenvolvimento de gastrite crônica, metaplasia intestinal e câncer gástrico. No entanto, há controvérsias quanto a total eficiência desses animais na indução de neoplasmas gástricos após infecção por *H. pylori*. A indução de câncer gástrico em gerbils da Mongólia requer insultos carcinogênicos adicionais e não são observadas metástases nos animais que desenvolvem o neoplasma gástrico, já nos camundongos isogênicos o desenvolvimento de adenocarcinoma invasivo é raro e falho em muitos estudos, independente da linhagem do camundongo ou cepa bacteriana utilizada (Chen et al. 2007).

Recentemente nós descrevemos um caso de adenocarcinoma gástrico associado a gastrite linfocelular, metaplasia e displasia gástrica em uma chinchila naturalmente infectada por *H. pylori*, identificada através de sequenciamento do gene 16S rRNA (Lucena et al. 2012a). Na rotina de diagnóstico é comum a observação de gastrite e úlcera gástrica em chinchilas, associada a sinais clínicos ou apenas como achado incidental de necropsia em chinchilas assintomáticas (Lucena et al. 2012b), porém a morfologia dessas lesões ainda não foi estudada. O presente trabalho tem como objetivo descrever a ocorrência de gastrite crônica

em chinchilas, bem como investigar a presença de *Helicobacter* spp. no estômago desses animais através de avaliação com teste rápido da urease, histoquímica, imuno-histoquímica e microscopia eletrônica.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante a rotina de necropsia de chinchilas no LPV-UFSM em 2010 e 2011 foram observadas 10 chinchilas com graves lesões macroscópicas de gastrite. Durante a necropsia foram coletados fragmentos da mucosa da região fúndica, corpo, cárdia e região antral do estômago, e acondicionados em teste rápido da urease comercial (Uretest[®]). O teste foi monitorado por um período de até 24 horas, quanto à mudança do meio, da cor amarela para rosa, indicando a presença de organismos produtores de urease no estômago.

Fragmentos das quatro regiões gástricas foram também coletados para posterior avaliação histológica e microscopia eletrônica. Para estudo histopatológico os tecidos foram fixados em formol tamponado 10%, processados rotineiramente, embebidos em parafina, seccionados a 5 µm, e corados com hematoxilina e eosina. Secções selecionadas foram avaliadas pelos métodos do azul Alciano e Warthin-Starry (WS). Para microscopia eletrônica as amostras da mucosa gástrica foram imediatamente fixadas em glutaraldeído 2% e paraformaldeído 2%, pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1%, desidratadas, e embebidas em Epon. Secções semi-finas foram coradas com azul de metileno, selecionadas, e secções ultrafinas foram cortadas, coradas com citrato de chumbo e acetato de uranila e examinadas com um microscópio EM 109 Zeiss a 80kw.

Secções das quatro partes do estômago de todas as chinchilas foram avaliadas por imuno-histoquímica (IHQ) usando o anticorpo anti-*Helicobacter pylori* (policlonal, DAKO, 1:100), pela técnica da avidina-biotina-peroxidase (LSAB Kit Peroxidase Universal, DakoCytomation). A reação com 3-3'diaminobenzidina (DAB) foi usada para detecção da marcação final.

A graduação das lesões histopatológicas do estômago foi categorizada como: (1) gastrite crônica (caracterizada por infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e formação de folículos linfóides); (2) úlcera; (3) atrofia das glândulas; (4) hiperplasia regenerativa; (5) metaplasia intestinal (diagnosticada pela presença de células caliciformes através da coloração com azul Alciano); (6) displasia gástrica; (7) quantidade de bactérias (avaliação por meio da marcação com WS e IHQ). Cada categoria foi graduada em leve (+); moderada (++); acentuada (+++); ou ausente (-).

RESULTADOS

A idade das 10 chinchilas avaliadas variou de três a nove anos, com média de 7,5 anos. Nove eram fêmeas e um era macho. Todas tinham em comum baixo escore corporal, histórico de reduzida ingestão de ração, apatia e pelos ressecados.

A avaliação macroscópica revelou que a serora do estômago estava marcadamente irregular e rugosa. A parede gástrica estava espessada, a mucosa irregular, rugosa e marcadamente congesta, com múltiplas úlceras, e pólipos nodulares (Fig. 1). Em oito chinchilas todo o estômago estava espessado, enquanto nas outras duas, apenas o corpo, antrum e parte do fundo. O teste da urease foi positivo nas amostra do estômago de todas as chinchilas (Fig. 2).

Os achados histopatológicos foram consistentes com gastrite crônica em todas as chinchilas e a inflamação variou de moderada a acentuada (Quadro 1). Inflamação da lâmina própria por abundante quantidade de linfócitos, plasmóticos e alguns macrófagos foi a lesão predominante em todos os animais. O infiltrado usualmente ocupava principalmente a porção superior da mucosa (Fig. 3), mas na maioria dos casos infiltrava as regiões mais profundas do estômago formando cordões contínuos de células que ocupavam a lâminas própria e se estendia até a túnica muscular. Nessas áreas havia proliferação de tecido conjuntivo fibroso. Frequentemente observavam-se múltiplas úlceras ou erosões do topo das vilosidades, recobertas por muco e neutrófilos. Grandes folículos linfóides, alguns com proeminente centro germinativo foram observados em todas as regiões do estômago, porém com menor frequência na cárdia. Nos locais com inflamação acentuada havia atrofia de glândulas gástricas, metaplasia intestinal, e perda de células parietais no corpo gástrico (Fig. 4). Metaplasia intestinal variou de discreta a acentuada e foi confirmada pela coloração de azul Alciano (Fig. 5). Em algumas áreas do estômago as glândulas gástricas estavam marcadamente dilatadas, tortuosas e, por vezes, apresentavam hiperplasia do epitélio foveolar e glandular, ou displasia caracterizada por células epiteliais alongadas, com núcleo hipercromático (Fig. 6). Edema moderado, também, foi observado associado às áreas de inflamação. A avaliação histoquímica (Fig. 7) e imuno-histoquímica (Fig. 8) detectou a presença de bactérias na superfície da mucosa gástrica de todas as chinchilas.

Na microscopia eletrônica foram observadas células epiteliais da mucosa gástrica em processo de degeneração e células necróticas. Na superfície celular foram observadas bactérias compatíveis morfologicamente com *Helicobacter pylori* (Fig. 9). Algumas bactérias

encontravam-se no interior do citoplasma das células epiteliais (Fig. 10). Na superfície da mucosa gástrica foram encontradas as formas bacilar medindo aproximadamente 2,2 por 0,85 μm e as formas cocoides com aproximadamente 1,37 μm de diâmetro (Fig. 11). Adjacente às áreas contendo bactérias observavam-se filamentos de muco.

DISCUSSÃO

O presente estudo demonstra que chinchilas naturalmente infectadas por espécies de *Helicobacter* desenvolvem marcada gastrite, associada a proliferação de agregados linfoides, e lesões pré-neoplásicas como metaplasia intestinal e displasia gástrica. No conhecimento dos autores, este trata-se do primeiro estudo de gastrite e lesões pré-neoplásicas em chinchilas infectadas por *Helicobacter* spp. As lesões são similares às observadas em humanos acometidos por gastrite associada a infecção por *H. pylori*, e é portanto, provável que chinchilas possam ser utilizadas como um excelente modelo no estudo da gastrite e câncer gástrico.

O sequenciamento genético de *Helicobacter* presente na mucosa do estômago de uma chinchila acometida por adenocarcinoma gástrico revelou tratar-se de *H. pylori* (Lucena et al. 2012a). Nesta chinchila, foi observado extensas áreas de metaplasia intestinal da mucosa gástrica associado ao tumor. Metaplasia intestinal foi observada também em gerbils da Mongólia após algumas semanas da infecção experimental por *H. pylori* (Watanabe et al. 1998). Sabe-se que metaplasia intestinal do estômago aumenta o risco do desenvolvimento de câncer gástrico, e esse risco é proporcional à extensão da metaplasia (Stemmermann 1994). Nas chinchilas do presente estudo metaplasia intestinal foi observada com frequência, principalmente na região do antrum piloro. A lesão foi observada na mucosa, mas também nas glândulas invaginadas na submucosa, semelhante ao observado em gerbils infectados experimentalmente por *H. pylori* (Watanabe et al. 1998). Os autores do estudo com *H. pylori* em gerbils concluíram que metaplasia intestinal é uma lesão que precede o desenvolvimento do câncer gástrico nos animais infectados, essa observação poderá ser aplicada também às chinchilas.

A inflamação gástrica variou de moderada a acentuada, com pouca variação entre as regiões do estômago. Em nenhuma das chinchilas foi observado gastrite envolvendo apenas uma região do órgão, diferentemente, em quase todas as chinchilas a inflamação envolvia todo o estômago. Em humanos, na maioria das vezes a doença se apresenta mais frequentemente como uma gastrite predominantemente antral, com envolvimento ocasional da

cárdia. No entanto, em um subgrupo de pacientes, a gastrite pode progredir para o envolvimento do corpo e o fundo gástrico. Esta pangastrite está associada a atrofia multifocal da mucosa, secreção reduzida de ácido, metaplasia intestinal e risco aumentado de adenocarcinoma gástrico (Turner 2010). Na maioria dos modelos animais, naturais ou experimentais, a gastrite está limitada ao antrum, adenocarcinoma é pouco comum e geralmente é bem diferenciado, sem indução de metástases (Chen et al. 2007). O adenocarcinoma descrito em uma chinchila envolvia todas as regiões gástricas e induziu metástase transcelômica (Lucena et al. 2012a), adicionalmente as 10 chinchilas do presente estudo apresentavam pangastrite; essas observações corroboram ainda mais para a indicação de chinchilas como modelo de gastrite e câncer gástrico.

A reação positiva no teste rápido da urease indica a presença de bactérias do gênero *Helicobacter* e esse é um importante método de diagnóstico (> 90% de sensibilidade e 98% de especificidade) em biópsias gástricas (Midolo & Marshall 2000). O teste foi positivo em todas as chinchilas, e a presença da bactéria foi confirmada ainda pela coloração de WS e por IHQ.

A fonte de infecção por *Helicobacter* nas chinchilas do presente estudo é de origem desconhecida, no entanto, pode ter ocorrido pela transmissão de tratadores infectados pela bactéria, como é sugerido em outras espécies animais mantidas em cativeiro (Kusters et al., 2006) e não por infecção durante a vida livre.

Conclui-se que *Helicobacter* spp. (possivelmente *H. pylori*) está associada a casos naturais de gastrite e lesões gástricas pré-neoplásicas em chinchilas. Estudos complementares deverão ser realizados para se determinar a prevalência de gastrite em chinchilas e a relação entre a infecção por bactérias do gênero *Helicobacter* com o desenvolvimento de câncer gástrico nessa espécie. Possivelmente as chinchilas são um excelente modelo do estudo das lesões gástricas associadas à infecção por *Helicobacter*.

AGRADECIMENTOS.- Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

Baskerville A. & Newell D.G. 1988. Naturally occurring chronic gastritis and *C. pylori* infection in the Rhesus monkey: a potential model for gastritis in man. Gut 29:4465-4472.

- Bizzozero G. 1893. Ueber die schlauchförmigen Drüsen des Magendarmkanals und die Beziehungen ihres Epithels zu dem Oberflächenepithel der Schleimhaut. Arch. Mikr. Anat. 42:82-152.
- Chen D., Stenström B., Zhao C.M. & Wadström T. 2007. Does *Helicobacter pylori* infection per se cause gastric cancer or duodenal ulcer? Inadequate evidence in Mongolian gerbils and inbred mice. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 50:184-189.
- Dubois A., Fiala N., Heman-Ackah L.M., Drazek E.S., Tarnawski A., Fishbein W.N., Perez-Perez G.I. & Blaser M.J. 1994. Natural gastric infection with *Helicobacter pylori* in monkeys: a model for spiral bacteria infection in humans. Gastroenterol. 106:1405-1417.
- Eaton K.A., Dewhirst F.E., Radin M.J., Fox J.G., Paster B.J., Krakowka S. & Morgan D.R. 1993. *Helicobacter acinonyx* sp. nov., isolated from cheetahs with gastritis. Int. J. Syst. Bacteriol. 43:99-106.
- Erdman S.E., Correa P., Coleman L.A., Schrenzel M.D., Li X. & Fox J.G. 1997. *Helicobacter mustelae*-associated gastric MALT lymphoma in ferrets. Am. J. Pathol. 151:273-280.
- Esteves M.I., Schrenzel M.D., Marini R.P., Taylor N.S., Xu S., Hagen S., Feng Y., Shen Z. & Fox J.G. 2000. *Helicobacter pylori* gastritis in cats with long-term natural infection as a model of human disease. Am. J. Pathol. 156:709-721.
- Fox J.G., Correa P., Taylor N.S., Lee A., Otto G., Murphy J.C. & Rose R. 1990. *Helicobacter mustelae*-associated gastritis in ferrets: an animal model of *Helicobacter pylori* gastritis in humans. Gastroenterol. 99:352-361.
- Fox J.G., Dangler C.A., Sager W., Borkowski R. & Gliatto J.M. 1997. *Helicobacter mustelae*-associated gastric adenocarcinoma in ferrets (*Mustela putorius furo*). Vet. Pathol. 34:225-229.
- Handt L.K., Fox J.G., Yan L.L., Shen Z., Pouch W.J., Ngai D., Motzel S.L., Nolan T.E. & Klein H.J. 1997. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in a colony of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). J. Clin. Microbiol. 35:165-168.
- IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. 1994. Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. p.177-240. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer.
- IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. 2011. *Helicobacter pylori*. p. 385-436. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer.
- Kusters J.G., van Vliet A.H. & Kuipers E.J. 2006. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. Clin. Microb. Rev. 19:449-490.

- Lucena R.B., Giaretta P.R., Tessele B., Figuera R.A., Kommers G.D., Irigoyen L.F. & Barros C.S.L. 2012a. Doenças de chinchilas (*Chinchilla lanigera*). Pesq. Vet. Bras. No prelo.
- Lucena R.B., Rissi D.R., Queiroz D.M.M. & Barros C.S.L. 2012b. Infiltrative gastric adenocarcinoma in a chinchilla (*Chinchilla lanigera*) naturally infected by *Helicobacter pylori*. J. Vet. Diagn. Invest. No prelo.
- Lee A., Phillips M.W., O'Rourke J.L., Paster B.J., Dewhirst F.E., Fraser G.J., Fox J.G., Sly L.I., Romaniuk P.J., Trust T.J. & Kouprach S. 1992. *Helicobacter muridarum* sp. nov., a microaerophilic helical bacterium with a novel ultrastructure isolated from the intestinal mucosa of rodents. Int. J. Syst. Bacteriol. 42:27-36.
- Lee A. 2000. Animal models of gastroduodenal ulcer disease. Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol 14:75-96.
- Marshall B.J. & Warren J.R. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet 323:1311-1315.
- Midolo P. & Marshall B J. 2000. Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori*. Urease tests. Gastroenterol. Clin. North Am. 29:871-878.
- Munson L., Nesbit J.W., Meltzer D.G.A., Colly L.P., Bolton L. & Kriek N.P.J. 1999. Diseases of captive cheetahs (*Acinonyx jubatus jubatus*) in South Africa: a 20 year retrospective survey. J. Zoo Wildl. Med. 30:342-347.
- Nambiar P.R., Kirchain S. & Fox JG. 2005. Gastritis-associated adenocarcinoma and intestinal metaplasia in a Syrian hamster naturally infected with *Helicobacter* species. Vet. Pathol. 42:386-90.
- Nedrud J.G. 1999. Animal models for gastric *Helicobacter* immunology and vaccine studies. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 24:243-250.
- Peek RM Jr & Blaser MJ (2002). *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract adenocarcinomas. Nat. Rev. Cancer 2:28-37.
- Queiroz D.M.M., Contigli C., Coimbra R.S., Nogueira A.M.M.F., Mendes E.N., Rocha G.A., Moura S.B. 1992. Spiral bacterium associated with gastric, ileal and caecal mucosa of mice. Lab. Anim. 26:288-294.
- Reindel J.F., Fitzgerald A.L., Breider M.A., Gough A.W., Yan C., Mysore J.V. & Dubois A. 1999. An epizootic of lymphoplasmacytic gastritis attributed to *Helicobacter pylori* infection in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). Vet. Pathol. 36:1-13.

- Rogers A.B., Taylor N.S., Whary M.T., Stefanich E.D., Wang T.C. & Fox J.G. 2005. *Helicobacter pylori* but not high salt induces gastric intraepithelial neoplasia in B6129 mice. *Cancer Res.* 65:10709-10715.
- Stermmermann G.N. 1994. Intestinal Metaplasia of the stomach. A status report. *Cancer* 74:556-564.
- Turner J.R. 2010. O Trato gastrointestinal. p.771-839. In: Kumay V., Fausto N. & Aster J.C. (Eds), *Robbins & Cotran Patologia, Bases patológicas das doenças*. 8ªed. Saunders, Elsevier, Rio de Janeiro.
- Watanabe T., Tada M., Nagai H., Sasaki S. & Nakao M. 1998. *Helicobacter pylori* infection induces gastric cancer in Mongolian gerbils. *Gastroenterol.* 115:642-648.

Quadro 1. Características microscópicas de gastrite e lesões pré-neoplásicas em chinchilas naturalmente infectadas por bactérias compatíveis com *Helicobacter* spp. de acordo com grau de intensidade das lesões.

N ^{oa}	Gastrite	Úlceras	Atrofia	Hiperplasia	Metaplasia	Displasia	Bactérias
1	++	+	++	++	+	-	+++
2	+++	+	+++	+++	++	+	+++
3	+++	++	+++	+++	++	+	++
4	+++	+	++	++	+	-	++
5	++	-	++	+	-	-	+++
6	++	-	+	+	+	+	+++
7	++	+	++	+	-	-	+++
8	+++	+	+++	+++	++	+	++
9	+++	++	++	++	+++	+++	++
10	+++	+	+++	+++	+++	+	+

^anúmero da chinchila avaliada; + leve; ++ moderada; +++ acentuada; - ausente.

Fig. 1. Estômago da chinchila N° 2. A mucosa gástrica de todo o estômago está acentuadamente rugosa, espessada e congesta.



Fig. 2. Teste rápido da urease. No tubo à esquerda foi adicionado um fragmento da mucosa de uma chinchila infectada por *Helicobacter* spp.; a positividade do teste é caracterizada pela coloração rósea. À direita observa-se um tubo com teste negativo em uma chinchila controle; o reagente permaneceu amarelo após 24 horas.



Fig. 3. Gastrite crônica caracterizada por marcada e difusa infiltração de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria. A mucosa está acentuadamente espessada pela inflamação, edema e fibrose. Observa-se erosão do topo das vilosidades. HE, obj. 10x.

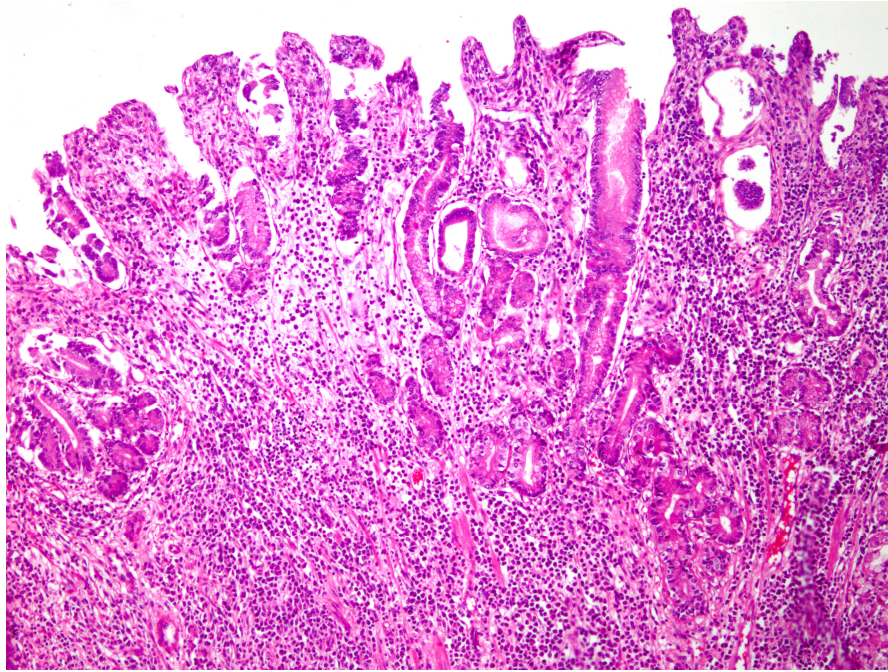


Fig. 4. Mucosa fúndica demonstrando gastrite linfoplasmocitária extensa e perda de glândulas. Nas criptas nota-se hiperplasia do epitélio foveolar. HE, obj. 20x.

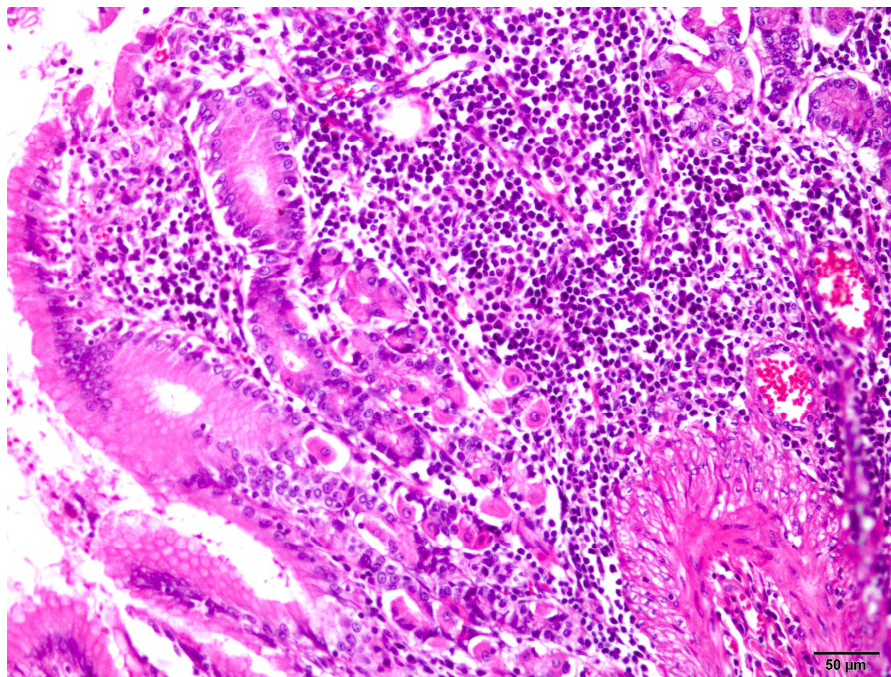


Fig. 5. Mucosa da região antral demonstrando acentuada inflamação linfoplasmocitária e metaplasia intestinal, caracterizada por abundantes células caliciformes coradas em azul. Azul Alcino, obj. 20x.

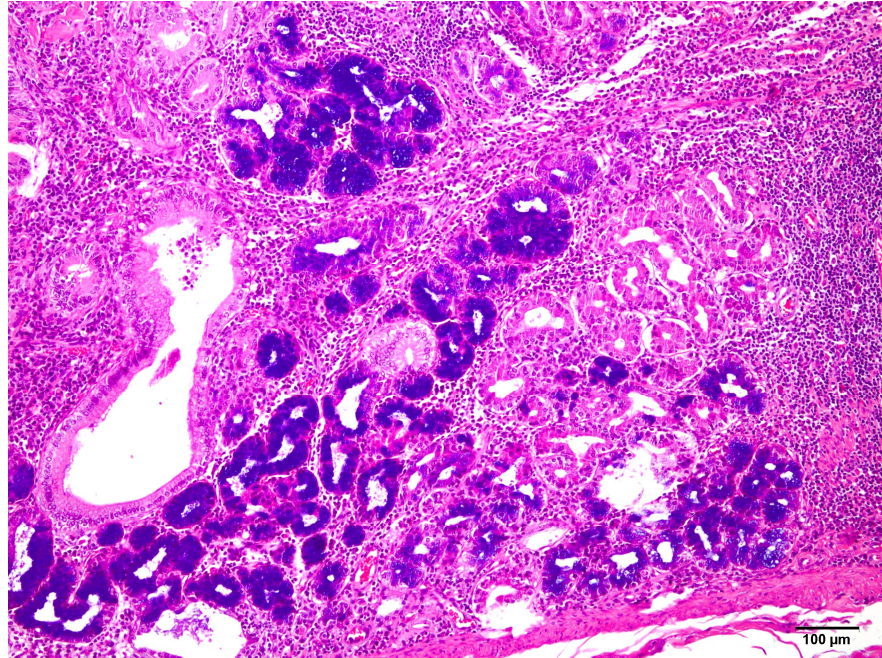


Fig. 6. Marcada displasia na região antral do estômago. Os núcleos das células glandulares estão moderadamente pleomórficos e basofílicos. As células apresentam arranjo pseudo-estratificado e estão interpostas por numerosos vacúolos mucinosos. HE, obj. 40x.

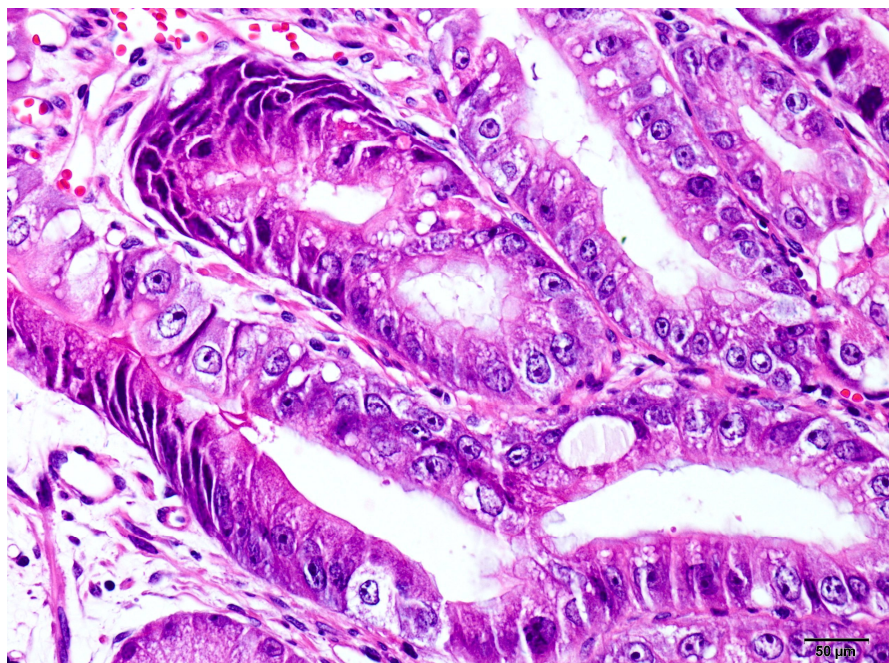


Fig. 7. Coloração com Warthin-starry. Observam-se organismos compatíveis com *Helicobacter* spp. na superfície da mucosa antral do estômago em uma chinchila. WS, obj. 20x.

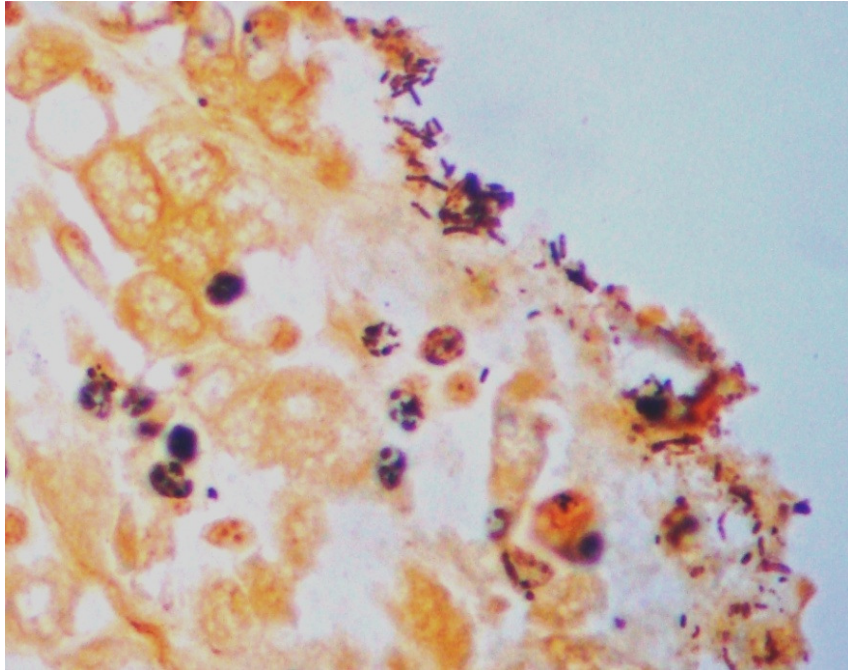


Fig. 8. Marcação imuno-histoquímica positiva para *Helicobacter* na superfície da mucosa antral do estômago em uma chinchila. Anticorpo anti-*Helicobacter pylori*, policlonal, método da estreptavidina-biotina-peroxidase, contra-coloração com hematoxilina de Harris, obj.40x.

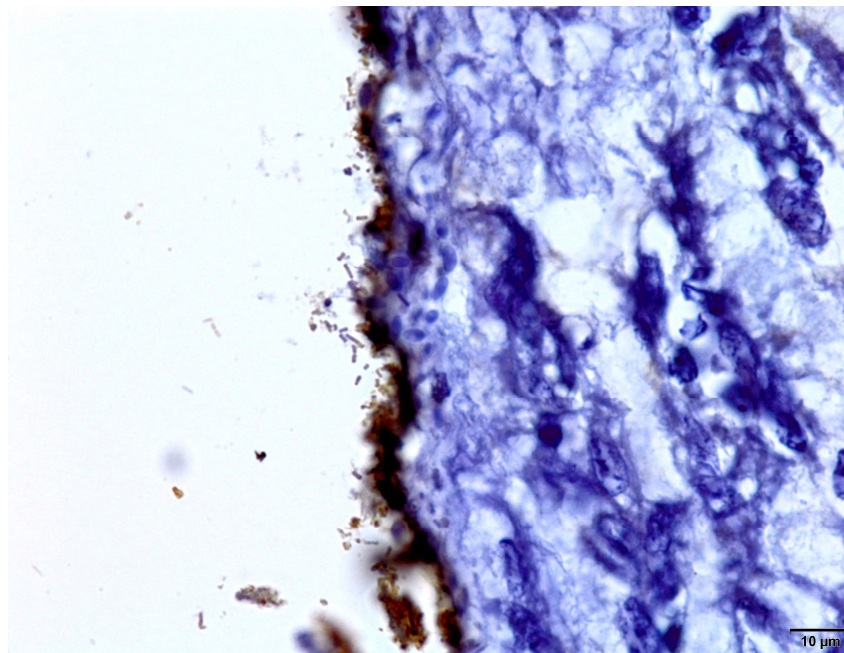


Fig. 9. Microscopia eletrônica do epitélio da fosseta gástrica do antro. Observa-se um organismo compatível com *Helicobacter* entre duas células da mucosa gástrica.

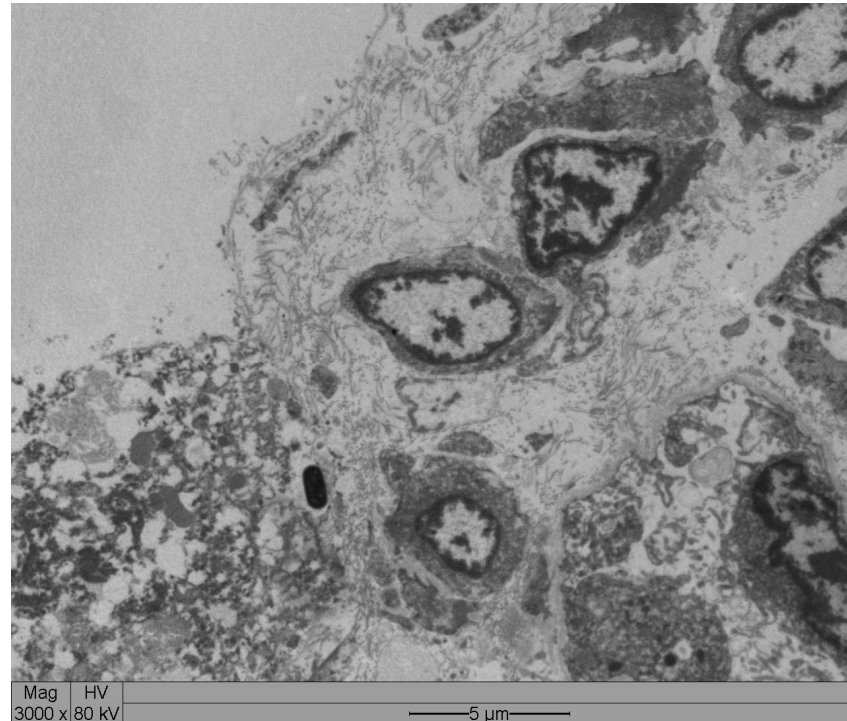


Fig. 10. Microscopia eletrônica da superfície epitelial da fosseta gástrica do antro. Observa-se um organismo compatível com *Helicobacter* no interior do citoplasma de uma célula epitelial.

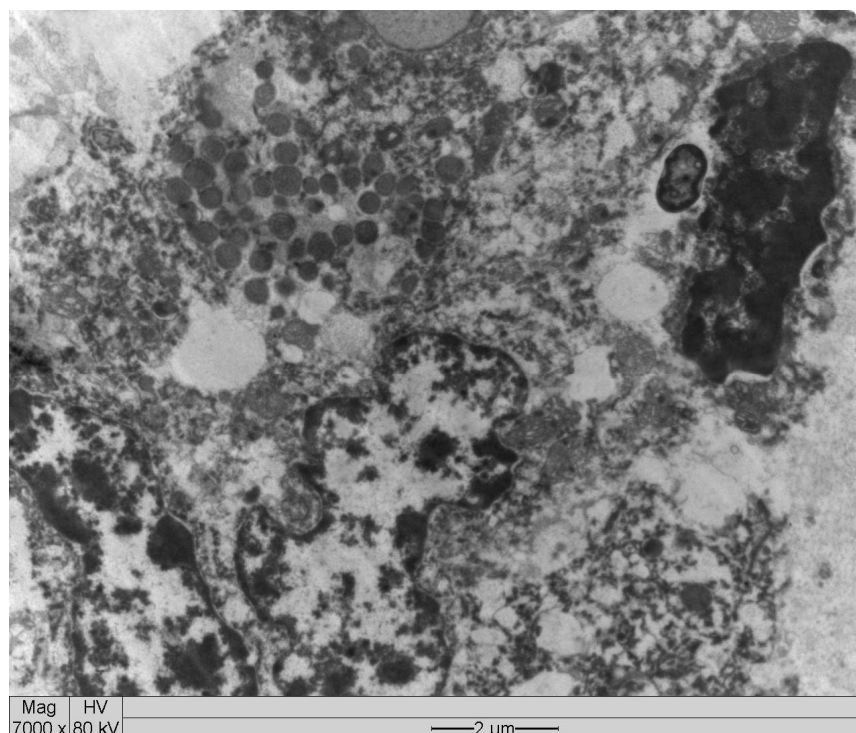
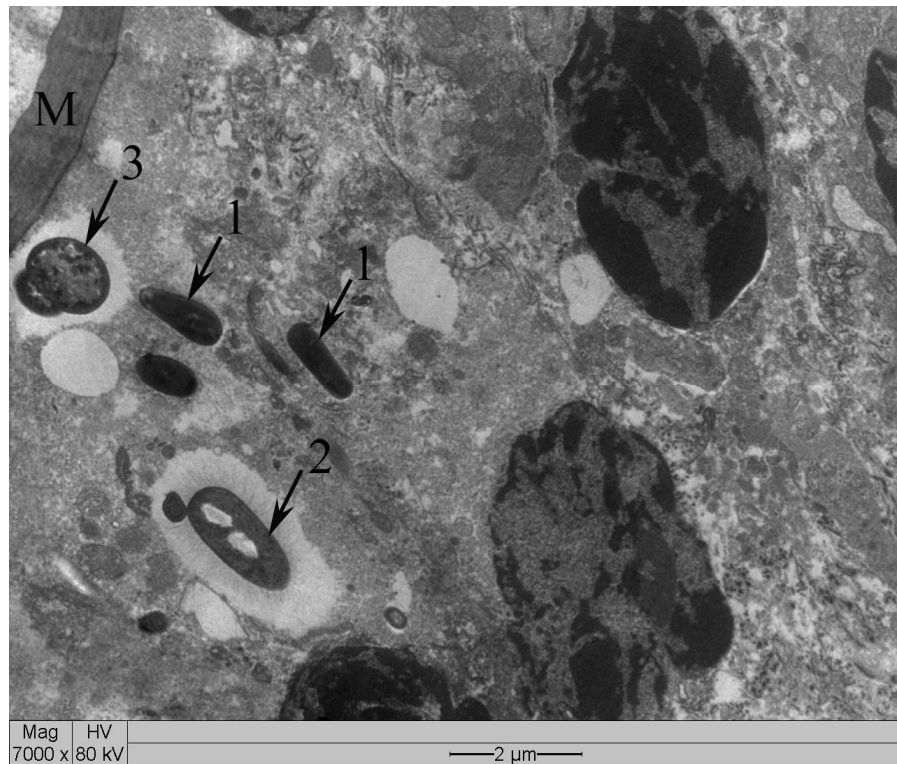


Fig. 11. Organismos compatíveis com *Helicobacter* spp. na superfície de células da mucosa gástrica. Podem ser observadas as formas bacilares (1) um exemplar exibindo pili de adesão (2), uma forma cocoide (3) e filamento de muco (M).



7 CAPÍTULO 6

Infiltrative gastric adenocarcinoma in a chinchilla (*Chinchilla lanigera*) naturally infected by *Helicobacter pylori*.

Ricardo B. Lucena, Daniel R. Rissi, Dulciene M. M. Queiroz, Claudio S. L. Barros

(Artigo submetido para publicação na revista **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**)

**Infiltrative gastric adenocarcinoma in a chinchilla
(Chinchilla lanigera) naturally infected by Helicobacter
pylori**

Journal:	<i>Journal of Veterinary Diagnostic Investigation</i>
Manuscript ID:	12-0011
Manuscript Type:	Brief communication
Date Submitted by the Author:	13-Jan-2012
Complete List of Authors:	Lucena, Ricardo; Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Patologia Rissi, Daniel; Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Patologia Queiroz, Dulciene Maria; Universidade Federal de Minas Gerais, Laboratory of Research in Bacteriology Barros, Claudio; Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Patologia;
Keywords:	gastric cancer, diseases of chinchilla; Helicobacter

1 **Infiltrative gastric adenocarcinoma in a chinchilla (*Chinchilla lanigera*) naturally**
2 **infected by *Helicobacter pylori*.**

3
4 Ricardo Barbosa Lucena, Daniel Ricardo Rissi, Dulciene Maria Magalhães Queiroz,
5 Claudio Severo Lombardo Barros¹

6
7 From the Department of Pathology, Laboratory of Veterinary Pathology,
8 Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil and Laboratory of
9 Research in Bacteriology, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas
10 Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil

11 ¹ Corresponding author: Claudio S.L. Barros, Departamento de Patologia,
12 Laboratório de Patologia Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Campus
13 Camobi 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil. E-mail: claudioslbarros@uol.com.br

1

2 **Abstract.** A case of infiltrative gastric adenocarcinoma in a 5-year-old female
3 chinchilla is described. The animal died spontaneously after a 5-day period of anorexia
4 and apathy. Gross examination revealed increased gastric volume. The gastric wall was
5 thickened and contained numerous firm, white nodules on the serosal surface. The
6 lumen was obliterated by a firm mass and large amount of white, mucous secretion.
7 Numerous white, irregular, plaques and nodules were observed on the mesentery,
8 abdominal surface of the diaphragm, kidneys, and uterine serosa (implantation
9 metastases). The liver was diffusely and moderately yellow. Histopathological
10 examination revealed an infiltrative gastric adenocarcinoma composed of neoplastic
11 cells organized in a gland-like pattern interspersed with connective tissue. Neoplastic
12 cells infiltrated the lamina propria, submucosa, and muscular layers, and were positive
13 for cytokeratin. Detection of *Helicobacter* spp. in the gastric mucosa failed using
14 Warthin-Starry silver stain or immunohistochemistry, but it was positive by a
15 *Helicobacter* specific nested PCR followed by sequencing that showed more than 99%
16 similarity to 16S rRNA gene of *Helicobacter pylori*. To the best of our knowledge, no
17 reports of gastric neoplasms in chinchillas have been published so far.

18

19 **Key words:** gastric cancer; diseases of chinchilla; *Helicobacter*.

20

21 Although cases of gastric cancer in humans have declined since the early 20th Century,
22 this is still a health concern in human medicine and accounts for the second most
23 common cause of cancer death worldwide.^{9,16} In veterinary medicine, gastric neoplasms
24 are reported as uncommon or rare and primarily affect dogs.⁷ Chinchillas (*Chinchilla*
25 *lanigera*) have been farmed for fur purposes for a long time and are currently under

1 increasing importance as a pet species.²⁰ Neoplasms have not been consistently
2 described in chinchillas.¹⁹ Few single descriptions include cases of neuroblastoma,
3 carcinoma, lipoma, hemangiosarcoma,³ lymphosarcoma,¹⁴ hepatic carcinoma,¹⁵ uterine
4 leiomyosarcoma, pulmonary lymphosarcoma, pulmonary adenocarcinoma,⁶ lumbar
5 osteosarcoma,¹⁹ and salivary gland carcinoma.²⁰ To the best of our knowledge, no
6 reports of gastric neoplasms in chinchillas have been published. Herein we describe an
7 infiltrative gastric adenocarcinoma in a 5-year-old female chinchilla. The animal died
8 after a 5-day period of apathy and anorexia. The carcass was in regular body condition.
9 Gross examination revealed a markedly thickened gastric wall. The gastric serosa was
10 irregular and covered by numerous, firm, white plaques and small nodules (Fig. 1). The
11 gastric lumen was almost completely obliterated by a firm, white, transmural mass.
12 Numerous ulcers with 1 to 10 mm in diameter were observed in the mucosal surface. A
13 copious amount of a white, mucous, milk-like substance was observed within the gastric
14 lumen. Multiple white, irregular, plaques were observed covering the mesentery,
15 abdominal surface of the diaphragm, renal capsule, and uterine serosa. The liver was
16 swollen and diffusely yellow. Samples of several tissues were immersed in 10% neutral-
17 buffered formalin and processed to histology. Paraffin-embedded, 3 μ m sections were
18 stained with hematoxylin and eosin. Sections from the stomach were also stained with
19 Alcian blue (AB), and Warthin-Starry silver stain. Histopathological examination of the
20 gastric mass revealed a poorly demarcated, nonencapsulated, highly infiltrative, and
21 transmural proliferation of neoplastic epithelial cells. Numerous gland-like nests lined
22 by 1-4 layers of neoplastic cells supported by prominent deposition of mature or
23 immature connective tissue (predominantly in the muscular layer) were constantly
24 observed. Neoplastic cells were cuboidal to columnar with moderate amount of
25 eosinophilic and finely fibrillar cytoplasm. Numerous cells exhibited large

1 intracytoplasmic vacuoles. Nuclei were round to oval and were composed of finely
2 stippled chromatin. Some glands were dilated and filled with faintly basophilic,
3 amorphous, AB-positive substance (mucus). This finding was consistent with intestinal
4 metaplasia. Other glands were dilated and filled with necrotic epithelial and/or
5 inflammatory cells. Areas with infiltration by neoplastic cells arranged in small groups
6 or isolated, with abundant, intensely eosinophilic cytoplasm and squamous metaplasia
7 with formation of keratin pearls were also seen. Overall, the neoplasm exhibited discrete
8 anisocaryosis and anisocytosis, which were more prominent in areas with squamous
9 metaplasia. Rare mitoses were seen. A moderate, surface-oriented lymphoplasmacytic
10 and neutrophilic inflammatory infiltrate was observed throughout the neoplasm.
11 Lymphoid aggregates in the lamina propria could be observed in some sections.
12 Numerous thrombi were seen in blood vessels. Multifocal areas of epithelial loss
13 (ulceration) and infiltration by large numbers of neutrophils were present in the mucosal
14 surface. Severe hepatocellular vacuolation was observed. Immunohistochemical
15 analysis of the neoplasm was performed using a streptavidin-biotin-peroxidase complex
16 method with primary antibodies for pancytokeratin^a (polyclonal, dilution 1:2000) and
17 vimentin^b (polyclonal, dilution 1:100). All neoplastic cells exhibited strong cytoplasmic
18 labeling for pancytokeratin (Fig. 2). A diagnostic of infiltrative gastric adenocarcinoma
19 was done based on the histopathology and immunohistochemistry. A search for
20 *Helicobacter* spp. in the gastric mucosa was performed using WR special stain,
21 immunohistochemistry based on a avidin-biotin-peroxidase complex method with
22 primary antibodies for *Helicobacter pylori*^c (polyclonal, dilution 1:1000), and a 16S
23 rRNA genus *Helicobacter* specific nested PCR followed by sequencing.¹⁸ DNA was
24 extracted from a gastric fragment with the QIAamp DNA Mini kit (Qiagen Inc., Hilden,
25 Germany). The outer primer pair (C70 and B37) was used to generate 16S rRNA

1 amplicons of approximately 1,500 bp. The nested inner primers (C97 and C05), which
2 are specific for the *Helicobacter* genus, amplified a fragment of 1,200 pb. After
3 purification with Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, Madison, WI,
4 USA), DNA sequencing was carried out with the Big Dye® Terminator v3.1 Cycle
5 Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), using an ABI PRISM
6 BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit and the sequencing primers
7 B34, B35, B36, C01, C31, and X91, in an ABI Prism™ 3130 automated sequencer
8 (Applied Biosystems) according to the manufacturer's instructions. Sequences of
9 nucleotides were obtained from both strands and analyzed for edition using the program
10 CAP3 Sequence Assembly Program (<http://pbil.univ-lyon1.fr/cap3.php>) and the
11 homology search program BLAST (blastn) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).
12 The alignment analysis of the sequences with the previously deposited sequences of the
13 *H. pylori* strain genome was done with the Multialin Interface Page Program.
14 The histological characteristics observed in the case herein presented (well-
15 differentiated gland-like structures composed of columnar intestinal-type epithelium and
16 chronic follicular gastritis) are consistent with those described in the intestinal-type
17 gastric adenocarcinoma in humans.¹⁰ This pattern is distinct from the diffuse-type
18 gastric adenocarcinomas, in which neoplastic cells do not form glandular structures and
19 are not associated with intestinal metaplasia and gastritis.^{10,17} In humans, intestinal-type
20 adenocarcinomas are more common and usually follow a multi step, progressive
21 process characterized by superficial gastritis, atrophic gastritis, intestinal metaplasia,
22 dysplasia, and cancer.² Studies have showed that human intestinal-type gastric
23 adenocarcinoma is more frequently associated with *H. pylori* infection,^{1,11} although this
24 might be only a reflection of the different methods of detection of the microorganism in
25 such tumors.¹²

1 Gastric adenocarcinomas have been associated with *Helicobacter* spp. infection in
2 ferrets⁴ and a Syrian hamster.¹³ Additionally, a case of gastrointestinal adenocarcinoma
3 was reported in a cougar infected by *Helicobacter*-like organisms and other
4 spirochetes.²² Experimental infection by *H. pylori* has shown to induce gastric
5 adenocarcinoma in Mongolian gerbils²² and C57BL/6 mice.⁵ We evaluated *Helicobacter*
6 sp. infection in this chinchilla by histochemistry and immunohistochemistry. Since the
7 degree of infection might vary according to the number of areas examined in the
8 stomach,⁸ we also submitted a sample to a nested PCR assay. The sequencing of more
9 than 98% of the 1200 bp amplicon showed more than 99% similarity to 16S rRNA gene
10 of *Helicobacter pylori* (GenBank accession number- BankIt1474861 1199-10-LPB
11 JN595861).

12 The role of *Helicobacter* spp. in the development of gastric cancer is still an unsolved
13 issue,¹² but studies have shown overwhelming evidences that favor a link between
14 *Helicobacter* infection and cancer.⁹ *Helicobacter* sp. infection has been detected in 40%
15 of the stomachs of the approximately 250 necropsied chinchillas routinely necropsied at
16 our lab in the last two years; the diagnosis being based both upon the urease rapid test
17 and upon immunohistochemistry. Several of such infected chinchillas display varying
18 degrees of gastritis, lymphoid hyperplasia, intestinal metaplasia and/or dysplasia (our
19 own unpublished data). The absence of the agent in the immunohistochemistry analysis
20 in this case possibly indicates that despite of its potential participation in the
21 carcinogenesis, the bacteria was no longer colonizing the mucosa at the time of
22 diagnosis, similar to what is described in human cases of *H. pylori* induced gastric
23 carcinomas.¹⁷

24 We herein reported an infiltrative gastric adenocarcinoma in a chinchilla which
25 shared some characteristics with the intestinal-type gastric adenocarcinomas in humans.

1 Although neoplasms have been rarely described in chinchillas, the frequency of
2 neoplasia in this species will probably increase in the future due to its recent popularity
3 as pets, to its long lifespan, and to the development of medical veterinary services for
4 geriatric rodents.²⁰

5 **Sources and manufacturers**

6 a, b. Dako, Carpinteria, California, USA.

7 c. Dako, Glostrup, Denmark.

8 **Declaration of conflicting interests**

9
10 The authors declared that they had no conflicts of interest with respect to their
11 authorship or the publication of this article.

12 **Funding**

13 This work was financially supported by the Brazilian agency National Council of
14 Scientific and Technologic Development (CNPq), grant no. 473493/2010-1 and through
15 a fellowship from the Brazilian Coordination for the Improvement of Post Secondary
16 Education (CAPES) within the National Post-Doctoral Program (PNPD).

17

18 **References**

- 19 1. Buruk F, Berberoglu U, Pak I, et al.: 1993, Gastric cancer and *Helicobacter pylori*
20 infection. *Br J Surg* 80:378-379.
- 21 2. Correa P, Houghton J: 2007, Carcinogenesis of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol*
22 133:659–672.
- 23 3. Donnelly TM: 2004, Disease problems of chinchillas. *In*: Quesenberry KE, Carpenter
24 JW, ed. *Ferrets, rabbits and rodents: clinical medicine and surgery*, pp. 255-266.
25 Saunders, St. Louis, MO.

- 1 4. Fox JG, Dangler CA, Sager W, et al.: 1997, *Helicobacter mustelae*-associated gastric
2 adenocarcinoma in ferrets (*Mustela putorius furo*). Vet Pathol 34:225-229.
- 3 5. Fox JG, Sheppard BJ, Dangler CA, et al.: 2002, Germ-line p53-targeted disruption
4 inhibits *Helicobacter*-induced premalignant lesions and invasive gastric carcinoma
5 through down-regulation of Th1 proinflammatory responses. Cancer Res 62:696-
6 702.
- 7 6. Greenacre CB: 2004, Spontaneous tumors of small mammals. Vet Clin North Am
8 Exot Anim Pract 7:627-651.
- 9 7. Head KW, Else RW, Dubielzig RR: 2004, Tumors of the alimentary tract. In: Tumors
10 in domestic animals, ed. Meuten DJ, 4th ed., p. 401-482. Iowa University Press,
11 Ames, IA.
- 12 8. Hermanns W, Kregel K, Breuer W, et al.: 1995, *Helicobacter*-like organisms:
13 histopathological examination of gastric biopsies from dogs and cats. J Comp Pathol
14 112:307-318.
- 15 9. Herrera V, Parsonnet J: 2009, *Helicobacter pylori* and gastric adenocarcinoma. Clin
16 Micro Inf 15:971-976.
- 17 10. Lauren P: 1965, The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and
18 so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification.
19 Acta Pathol Microbiol Scand 64:31-49.
- 20 11. Loffeld RJLF, Willems I, Flendrig JA, et al.: 1990, *Helicobacter pylori* and gastric
21 carcinoma. Histopathol 17:537-541.
- 22 12. Martin-de-Argila C, Boixeda D, Redondo C, et al.: 1997, Relation between
23 Histologic Subtypes and Location of Gastric Cancer and *Helicobacter pylori*. Scand
24 J Gastroenterol 32:303-307.

- 1 13. Nambiar PR, Kirchain S, Fox JG: 2005, Gastritis-associated adenocarcinoma and
2 intestinal metaplasia in a Syrian hamster naturally infected with *Helicobacter*
3 species. *Vet Pathol* 42:386-390.
- 4 14. Newberne PM, Seibold HR: 1953, Malignant lymphoma in a chinchilla. *Vet Med*
5 48:428-429.
- 6 15. Nobel TA, Neumann F: 1963, Carcinoma of the liver in a nutria (*Myocastor coypus*)
7 and a chinchilla (*Chinchilla laniger*). *Refu Vet* 20:161-162.
- 8 16. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al.: 2005, Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer*
9 *J Clin* 55:74-108.
- 10 17. Peek RM, Blaser MJ: 2002, *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract
11 adenocarcinomas. *Nat Rev Cancer* 2:28-37.
- 12 18. Queiroz DMM, Santos A, Oliveira AG, Rocha G A, et al. Isolation of a
13 *Helicobacter* strain from the human liver. *Gastroenterology* 2001;121:1023-1024.
14 *Erratum* in *Gastroenterology* 2002;122:250.
- 15 19. Simova-Curd S, Nitzl D, Pospischil A, et al: 2008, Lumbar osteosarcoma in a
16 chinchilla (*Chinchilla laniger*). *J Small Anim Pract* 49:483-485.
- 17 20. Smith JL, Campbell-Ward M, Else RW, et al.: 2010, Undifferentiated carcinoma of
18 the salivary gland in a chinchilla (*Chinchilla lanigera*). *J Vet Diagn Invest* 22:152-
19 155.
- 20 21. Watanabe W, Tada M, Nagai H, et al.: 1998, *Helicobacter pylori* induces gastric
21 cancer in Mongolian gerbils. *Gastroenterol* 115:642-648.
- 22 22. Yamazaki Y, Aono I, Ohya T, et al.: 2002, Gastroduodenal adenocarcinomas and
23 rectal adenoma in a cougar (*Felis concolor*) infected with *Helicobacter*-like
24 organisms and spirochetes. *J Vet Med Sci* 64:149-153.

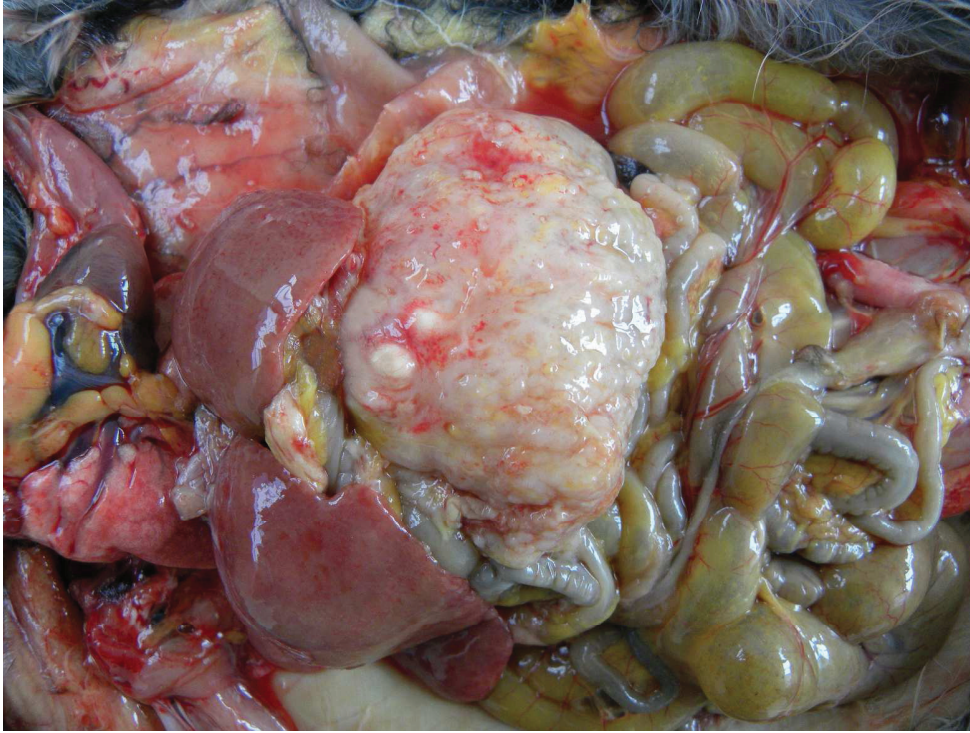


Figure 1. Gastric adenocarcinoma in a chinchilla. There is marked thickening of the gastric serosa which display numerous varying sizes nodules. The liver is moderately enlarged and pale due to hepatic lipodosis.
338x254mm (300 x 300 DPI)

Review

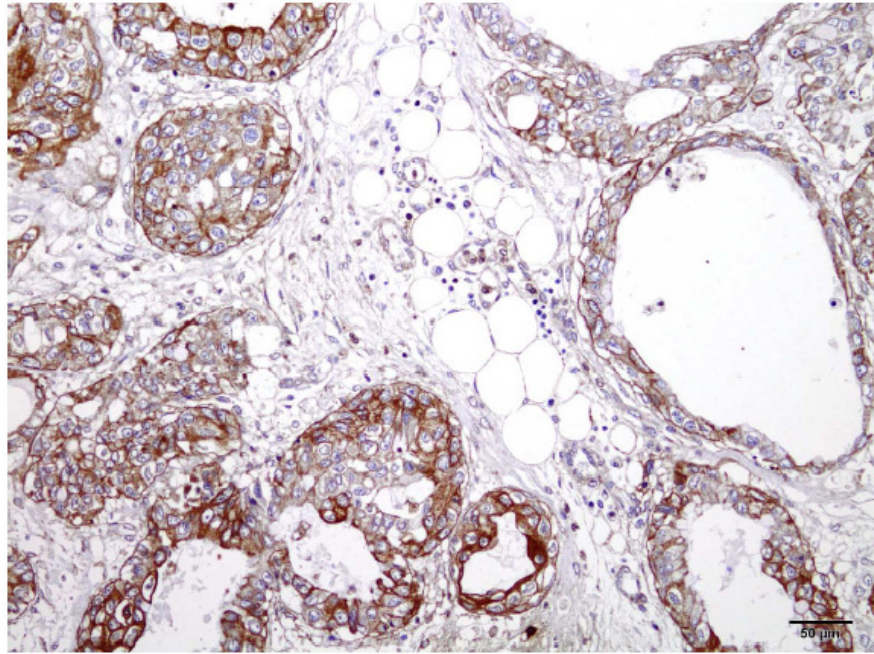


Figure 2. Gastric adenocarcinoma in a chinchilla. Positive staining mos neoplastic epithelial cells with antikeratin antibody. Streptavidin-biotin-peroxidase method. Counterstained with Harris hematoxylin. Bar 50 μm.

903x677mm (72 X 72 DPI)

8 CAPÍTULO 7

Conjuntivite bacteriana secundária à doença dentária em chinchilas (*Chinchilla lanigera*)

Ricardo B. Lucena, Paula R. Giaretta, Bianca Tessele, Agueda Castagna de Vargas, Claudio Severo Lombardo Barros

(Artigo pronto para ser submetido à revista **Ciência Rural**)

8 CAPÍTULO 7

Conjuntivite bacteriana secundária à doença dentária em chinchilas (*Chinchilla lanigera*)

Ricardo B. Lucena, Paula R. Giaretta, Bianca Tessele, Agueda Castagna de Vargas, Claudio Severo Lombardo Barros

(Artigo pronto para ser submetido para publicação na revista **Ciência Rural**)

1 **Conjuntivite bacteriana secundária à doença dentária em chinchilas (*Chinchilla***
2 ***lanigera*)**

3 **Bacterial conjunctivitis secondary to dental disease in chinchillas (*Chinchilla lanigera*)**

4 **Ricardo Barbosa Lucena^I; Paula Roberta Giaretta¹; Bianca Tessele^I; Agueda Castagna**
5 **de Vargas^{II}; Claudio Severo Lombardo Barros^{I*}**

7 **- NOTA -**

8 **RESUMO**

10 São relatados três casos de conjuntivite bacteriana associada à grave doença dentária
11 em chinchilas. Todas as chinchilas afetadas tinham histórico de emagrecimento,
12 hipersalivação e epífora, que progrediu para exsudação ocular purulenta. Durante a necropsia
13 foi constatado marcado alongamento da coroa clínica dos incisivos e molares, e crescimento
14 do ápice dentário, causando deformação óssea e compressão do canal lacrimal.
15 Histologicamente, observou-se infiltrado de neutrófilos na conjuntiva e pálpebras. Cultivo
16 microbiológico do exsudato ocular revelou crescimento de *Staphylococcus aureus*. Uma
17 compressão do canal lacrimal pelo crescimento dentário excessivo impediu a drenagem das
18 lágrimas, resultando em epífora. Esse é um importante fator predisponente para infecção
19 bacteriana ocular em chinchilas.

20 **Palavras-chave:** má oclusão, dente, chinchila, obstrução nasolacrimal, patologia.

^I Laboratório de Patologia Veterinária, Departamento de Patologia. Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Avenida Roraima, 1000, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: claudioslbarros@uol.com.br * Autor para correspondência

^{II} Laboratório de Bacteriologia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva. Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Avenida Roraima, 1000, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

1

2 **ABSTRACT**

3 Three cases of bacterial conjunctivitis associated with severe dental disease in
4 chinchillas are described. All affected chinchillas had a history of weight loss, ptyalism, and
5 epiphora which progressed to suppurative ocular exsudation. At necropsy incisor and molar
6 teeth revealed marked elongation of the clinical crown and overgrowth of the dental apexes
7 resulting in deformation of the tear ducts. Histologically, there was neutrophilic in the
8 conjunctiva and eyelid skin. Microbiological culture carried out in samples from the ocular
9 exsudate yielded *Staphylococcus aureus*. Compression of the lacrimal duct by dental
10 overgrowth compromised tear draining and resulting in epiphora. This is a major predisposing
11 factor inducing bacterial ocular infection in chinchillas.

12

13 **Key words:** malocclusion, tooth, chinchilla, nasolacrimal duct obstruction, pathology.

14

15

16 Má oclusão dentária é descrita como um dos principais problemas de saúde em
17 roedores domésticos (CAPELLO, 2008). Este problema é grave especialmente em chinchilas,
18 em que resulta num complexo de sinais clínicos tanto primários relacionados à função
19 dentária, quanto secundários, por interferir com outros órgãos e sistemas (CROSSLEY,
20 2001). Chinchilas acometidas por má oclusão dentária podem desenvolver timpanismo,
21 constipação, anorexia e inanição, hipersalivação, perda dos pelos da região perioral,
22 deformação do maxilar e, obstrução do canal lacrimal que resulta em epífora, abscedação
23 retrobulbar e exoftalmia (DONNELLY, 2004; CROSSLEY, 2001).

24

25 Diferentes estudos têm demonstrado lesões secundárias à doença dentária em
chinchilas (DERBAUDRENGHIEN et al., 2011, CROSSLEY, 2001). No entanto, não são

1 encontrados relatos de casos associados à conjuntivite purulenta com isolamento bacteriano.
2 O presente trabalho tem o objetivo de descrever a ocorrência de conjuntivite bacteriana
3 secundária à má oclusão dentária em três chinchilas.

4 Foram identificadas três chinchilas com conjuntivite associada à má oclusão dentária
5 num estudo envolvendo 252 necropsias de chinchilas realizadas no Laboratório de Patologia
6 Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (LPV-UFSM) entre os anos de 2000-
7 2011. As chinchilas 1 (fêmea de 5 anos) e 2 (fêmea de 8 anos) pertenciam à propriedade A,
8 localizada em Santa Maria. A chinchila 3 (macho de 2 anos) pertencia à propriedade B,
9 localizada em Nova Palma. As chinchilas foram remetidas em diferentes datas (maio, julho e
10 agosto de 2010).

11 Todas as chinchilas tinham histórico de diminuição da ingestão de ração,
12 emagrecimento progressivo, hipersalivação, epífora, com posterior exsudação ocular
13 purulenta, sensibilidade à luz e formação de crostas periorculares. Adicionalmente, a chinchila
14 3 demonstrou aumento de volume abdominal, com a observação de massas firmes à palpação
15 (constipação). A evolução desde os primeiros sinais clínicos até a morte variou de 3 semanas
16 a 2 meses. Todas as chinchilas eram alimentadas com ração comercial peletizada. Foi
17 realizado exame radiográfico na chinchila 2. Na radiografia foi observada acentuada
18 irregularidade oclusal, com formação de espículas dentárias mesial e distal, e marcado
19 alongamento dos dentes incisivos.

20 Durante a necropsia foi constatado caquexia em todas as chinchilas. Havia alopecia na
21 pele periorcular e perioral. Observavam-se crostas aderidas às pálpebras e grande quantidade
22 de exsudato ocular mucopurulento (bilateral em duas chinchilas e apenas unilateral na terceira
23 chinchila). A conjuntiva estava marcadamente vermelha e recoberta por exsudato seroso e
24 mucopurulento.

1 Os dentes incisivos de todas as chinchilas estavam marcadamente alongados. O
2 crescimento excessivo dos dentes resultou em alteração do perfil da cabeça. A profundidade
3 da mandíbula estava aumentada nas três chinchilas, devido ao crescimento de osso na crista
4 alveolar e distorção do córtex ventrolateral secundário ao crescimento apical. A pré-maxila e
5 a parte rostral da maxila estavam significativamente mais curtas que o normal. Os ápices dos
6 dentes incisivos superiores penetraram a maxila, enquanto as coroas clínicas apresentavam
7 crescimento para dentro da boca. A invasão da bula alveolar pelo ápice dos dentes molares
8 resultou em obstrução do canal nasolacrimal em todas as chinchilas. Ulceração bilateral da
9 mucosa oral devido ao trauma causado por espículas dentárias foi um achado comum.

10 Fragmentos de pele (pálpebra), encéfalo, pulmão, coração, rins, fígado, estômago,
11 intestinos, baço, linfonodos, pâncreas, adrenais e os olhos foram fixados em formol
12 tamponado a 10%, embebidos em parafina, seccionados a 3µm e corados com hematoxilina e
13 eosina (HE). Secreção ocular e fragmentos das pálpebras e conjuntivas foram remetidos para
14 cultura bacteriológica.

15 Histologicamente, nas pálpebras e conjuntiva, observou-se moderado infiltrado
16 inflamatório constituído principalmente por neutrófilos, íntegros e degenerados, e poucos
17 linfócitos, plasmócitos e macrófagos. Nos demais órgãos avaliados não foram observadas
18 alterações microscópicas. A cultura microbiológica da secreção ocular das três chinchilas
19 resultou em crescimento de *Staphylococcus aureus*.

20 As mortes das chinchilas do presente relato decorreram da falha na ingestão de
21 alimentos, complicado pela infecção ocular secundária ao problema dentário. Doença dentária
22 é uma importante causa de morte em chinchilas, devido às complicações diretas causadas
23 pela incapacidade de ingestão dos alimentos ou por complicações secundárias (CAPELLO,
24 2008; CROSSLEY, 2001). Nas Chinchilas acometidas por má oclusão a mastigação se torna
25 muito dolorosa ou impossível, anorexia aparece progressivamente, com posterior perda de

1 peso observada em 79% dos animais (DONNELLY, 2004). Uma vez que as chinchilas
2 reduzem a ingestão de fibras, ou pior, deixam de comer, o sistema digestório não consegue
3 funcionar adequadamente (DONNELLY, 2004). Excrementos fecais geralmente tornam-se
4 menores e secos, conseqüentemente, timpanismo ou constipação pode ocorrer, como
5 observado em uma das chinchilas. Desconforto oral ou dor resultam em movimentos restritos
6 da mandíbula, que por sua vez, culmina em salivação excessiva (CROSSLEY et al., 1997).
7 Alongamento da coroa de reserva dos maxilares especificamente pode causar deformação, e
8 até mesmo obstrução da canal lacrimal ósseo (CROSSLEY & ROXBURGH, 1999). As
9 lágrimas não são evacuadas, o que resulta em epífora e alteração dos pelos periorbitários
10 (CROSSLEY, 2001). Além disso, pode-se desenvolver doença ocular secundária como
11 observado nas chinchilas deste estudo, que desenvolveram conjuntivite purulenta devido
12 contaminação bacteriana secundária.

13 Em outras espécies animais, como cães e gatos, manifestações oculares de doença
14 dentária incluem sinais orbitários, periorbitários, conjuntivais, nasolacrimais, neuro-
15 oftalmológicos, e até mesmo sinais uveais (RAMSEY et al., 1996). Em coelhos, o bloqueio
16 do canal lacrimal é uma das consequências mais comuns da doença dentária, está alteração é
17 denominada dacriocistite (COOPER, 2011). Um estudo de 56 chinchilas acometidas por
18 doença dentária no Reino Unido, revelou ocorrência de corrimento ocular em 11 destas
19 (20%), uma consequência do comprometimento do canal lacrimal (CROSSLEY, 2001). As
20 chinchilas do presente relato fazem parte de um estudo retrospectivo e prospectivo de
21 necropsia de 252 chinchilas entre 2000 e 2011 (dados não publicados). Foi constatado que
22 durante esse período, 18 chinchilas morreram em decorrência de doença dentária (7%), dentre
23 essas, três desenvolveram conjuntivite bacteriana por *Staphylococcus aureus* (16% das
24 chinchilas com doença dentária e 1% de todas as chinchilas necropsiadas).

1 A observação de conjuntivite bacteriana secundária a doença dentária em chinchilas
2 parece ser relativamente frequente. Estudos com maior número de chinchilas acometidas por
3 doença dentária deverão ser realizados para se determinar a prevalência de conjuntivite
4 associada a má oclusão dentária nesta espécie.

5

6 REFERÊNCIAS

- 7 CAPELLO, V. Diagnosis and Treatment of Dental Disease in Pet Rodents. **Journal of Exotic**
8 **Pet Medicine.** v.17, n.2, p.114-123, 2008. Disponível em: <
9 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1557506308000256>. > Acesso em: 10 jan.
10 2012. doi: 10.1053/j.jepm.2008.03.010
- 11 COOPER, S. Dacryocystitis in Rabbits. **Companion Animal**, v.16, n.2, p.19-21, 2011.
12 Disponível em: < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.2044-3862.2010.00015.x/pdf>.
13 > Acesso em: 10 jan. 2012. doi: 10.1111/j.2044-3862.2010.00015.x
- 14 CROSSLEY, D.A.; ROXBURGH, G. The site of obstruction of the lacrimal drainage system
15 in chinchillas (*Chinchilla lanigera*) with “wet eye”. In: **Proceedings of the British Small**
16 **Animal Veterinary Association Congress**, 1999, Birmingham, West Midlands (UK).
17 **Anais...** Birmingham : BSAVA, 1999, p.21-22.
- 18 CROSSLEY, D.A. Caries and odontoclastic resorptive lesions in a chinchilla (*Chinchilla*
19 *lanigera*). **The Veterinary Record.** v.14, n.13, p.337-339, 1997. Disponível em: <
20 <http://veterinaryrecord.bmj.com/content/141/13/337.full.pdf>. > Acesso em: 15 dez. 2011.
- 21 DERBAUDRENGHIEN, A. et al. Dental Pathology in chinchillas. **Vlaams**
22 **Diergeneeskundig Tijdschrift.** v.79, n.5, p.345-358. Disponível em: <
23 <http://vdt.ugent.be/showabstract.php?id=651>. > Acesso em: 15 dez. 2011.

1 DONNELLY, T.M. Disease problems of chinchillas. In: QUESENBERRY, K.E. &
2 CARPENTER, J.W. **Ferrets, rabbits and rodents: clinical medicine and surgery**, St.
3 Louis: Saunders, 2004, p.255-266.
4 RAMSEY, D.T. et al. Ophthalmic manifestations and complications of dental disease in dogs
5 and cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**. v.32, n. 215–224. 1996.
6



7
8
9 Figura 1 – Doença dentária e conjuntivite bacteriana secundária. A. Marcado alongamento
10 dos dentes incisivos da chinchila 2. Note que as coroas clínicas alongadas impedem o
11 fechamento da boca. B. Conjuntivite mucopurulenta decorrente de infecção bacteriana
12 (chinchila 1). Nas pálpebras há grande quantidade de crostas.

9 DISCUSSÃO

Estudos sobre doenças e causas de morte em diferentes espécies animais são utilizados em todo o mundo (CHURCH; RADOSTITS, 1981; BONNETT et al., 2005; FIGHERA, 2008b; MORREL et al., 2008; LUCENA, 2009; PIEREZAN, 2009b; RISSI, 2010b). Estudos retrospectivos, por sua vez, são importantes em Medicina Veterinária e particularmente em Patologia Veterinária, pois a partir destes é possível agrupar dados sobre as doenças numa determinada espécie, estudar a prevalência de cada doença e aprimorar os diagnósticos com o uso de novas técnicas de diagnósticos não disponíveis no passado. O conhecimento das doenças de chinchilas, por sua vez, é de fundamental importância, já que a literatura em patologia de chinchilas é consideravelmente escassa.

Os três principais estudos de doenças de chinchilas datam da década de 1950, dois deles realizados no Estado da Califórnia, nos Estados Unidos (BRENON, 1953; BRENON, 1955), e um em Suffolk, na Inglaterra (BOWDEN, 1959). Nos três estudos prevaleceram as doenças inflamatórias, principalmente as de origem bacteriana, como enterites e pneumonias, seguido por impactação gastrointestinal decorrente de dietas pobres em fibras. No presente estudo foram compilados os dados de necropsia de chinchilas entre 1997-2011, e as doenças inflamatórias também tiveram grande representatividade (52 de 202 casos). Dentre as lesões inflamatórias, as de origem infecciosa foram as mais prevalentes, principalmente as causadas por bactérias. Grande número de chinchilas tinham gastrite moderada a acentuada como principal lesão (LUCENA et al., 2012a). Em muitos desses casos foi possível observar bactérias espiraladas na mucosa gástrica, que marcaram positivamente na coloração de Warthin-Starry e imuno-histoquímica com anticorpo anti-*Helicobacter pylori*. Algumas chinchilas, além de gastrite linfocelular acentuada, desenvolveram lesões pré-neoplásicas como metaplasia intestinal e displasia gástrica. Em uma chinchila acometida por adenocarcinoma gástrico, exame de PCR e sequenciamento do gene 16S rRNA de amostra obtida da mucosa do estômago revelou a presença de *Helicobacter* com 99% de compatibilidade com *Helicobacter pylori* (LUCENA et al., 2012b). Até então considerada uma espécie pouco acometida por tumores (DONNELLY, 2003), o presente estudo demonstra que as chinchilas parecem ser um excelente e promissor modelo para o estudo da gastrite e câncer gástrico.

A forma septicêmica da listeriose foi diagnosticada em cinco chinchilas, provenientes de três surtos, com morbidade que variou de 6-16% e letalidade de 100%. As chinchilas

parecem ser uma das espécies animais mais sensíveis à infecção por *Listeria monocytogenes*, quando comparadas a outras espécies (FINLEY; LONG 1977). A forma encefálica de listeriose tem sido relatada (BOWDEN, 1959), mas a maioria dos surtos descreve a doença na forma de septicemia, com predominante envolvimento hepático (FINLEY; LONG 1977; WILKERSON et al., 1997; SABOČANEC et al., 2000; KIRINUS et al., 2010). Outras chinchilas apresentaram infecção bacteriana secundária, principalmente na forma de septicemia. Infecções oportunistas causadas pela flora bacteriana normal têm sido observadas causando morte de chinchilas, seja por infecção localizada de um órgão ou como septicemia. Exemplos de bactérias oportunistas são *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *Pseudomonas* sp. ou *Escherichia coli*. Os animais afetados geralmente estão imunocomprometidos pela idade, estado nutricional, ou estresse da criação (altas temperaturas, troca de ração etc) (DONNELLY, 2003). Em surtos de chinchilas acometidas por infecção bacteriana sistêmica deve-se procurar solucionar erros de manejo, controlar a temperatura na faixa de conforto térmico no interior do criatório, ou sanar qualquer outro fator que induza estresse nas chinchilas.

Surto de infecção por *Clostridium perfringens* tipo B acometeu cinco chinchilas em um lote de 395. As lesões consistiam de extensa enterite necrosante associada a numerosos agregados bacterianos. A genotipificação de *C. perfringens* isolado, realizada por reação em cadeia de polimerase *multiplex* (mPCR), revelou *C. perfringens* tipo B pela detecção das toxinas alfa, beta e épsilon. Os achados sugerem *C. perfringens* tipo B como importante causador de morte súbita ou aguda em chinchilas (LUCENA et al., 2011).

Dentre os distúrbios do trato gastrointestinal de chinchilas, casos de constipação são os mais prevalentes (DONNELLY, 2003). Obstrução intestinal tem sido descrito em chinchilas mantidas à base de dietas ricas em proteínas e energia, associado à reduzida ingestão de fibras (COUSENS, 1963). Semelhante ao observado no presente estudo, em que os casos de constipação foram observados em chinchilas alimentadas basicamente com frutas e verduras, e baixo teor de fibras. As fezes estavam diminuídas de tamanho, ressecadas e acumuladas principalmente na porção final do cólon e reto.

Intoxicação por salinomicina foi a doença isolada mais prevalente no presente estudo. No entanto, a grande representação dessa doença deve-se ao grande número de necropsias realizadas em importantes surtos de intoxicação por este antibiótico ionóforo. Foi comprovado que chinchilas são sensíveis a doses relativamente baixas de salinomicina (37 ppm), e desenvolvem grave lesão nos músculos esqueléticos (LUCENA et al. 2012c).

Degeneração gordurosa do fígado predominou entre todas as lesões descritas nos laudos de necropsia. Lipidose hepática não deve ser associada a uma doença específica de chinchilas, pois a lesão é observada em chinchilas acometidas por qualquer problema de saúde que induza inanição, ou até mesmo nas chinchilas saudáveis mantidas em jejum pré-abate. Lipidose hepática havia sido associada com casos de morte aguda em chinchilas que receberam ração contendo 208 ppm de aflatoxinas (GONZÁLEZ, 2008). Porém, em estudo experimental as chinchilas demonstraram ser resistentes a aflatoxinas na dose de 200 ppm por até oito semanas de ingestão (CEPEDA et al., 2011).

Doença dentária é descrita como importante causa de morte em chinchilas (DONNELLY, 2003; CROSSLEY, 2001). Essa observação foi comprovada no presente estudo, em que má oclusão dentária foi responsável por 9% de todos os diagnósticos. As chinchilas desenvolveram graves problemas secundários, como caquexia e algumas apresentaram conjuntivite bacteriana devido a obstrução do canal lacrimal. A falta de atrito dentário é o principal fator implicado no alongamento exagerado dos dentes de roedores mantidos em cativeiro (WEINREB, 1967). Em chinchilas, acredita-se que altos níveis de cortisol no soro sanguíneo também pode contribuir para o crescimento dentário excessivo (CROSSLEY, 2001).

Chinchilas mantidas em ambiente com altas temperaturas, principalmente nos meses de verão, desenvolveram quadro de hipertermia. Foram acometidas principalmente chinchilas jovens e em muitos casos havia histórico de falha no resfriamento dos galpões. A zona de conforto está entre 18,3°C e 26,7°C; quando a temperatura ambiente ultrapassa muito o limiar superior os animais entram em decúbito e apresentam respiração acelerada; mucosas vermelhas que passam à cianóticas; hipersalivação viscosa e, às vezes, diarreia com sangue. A temperatura retal usualmente ultrapassa os 39,4°C (DONNELLY, 2003).

Mortes relacionadas a agentes físicos foram mais prevalentes em animais recém-nascidos que sofreram mutilação por suas mães após o nascimento. Casos de automutilação foram vistos em chinchilas medicadas com 0,15 ml de enrofloxacin por via intramuscular. Reações adversas ao uso das quinolonas têm sido descritas em diferentes espécies e estão relacionadas principalmente aos efeitos neurotóxicos da droga (LIPSKY & BAKER, 1999, STAHLMANN & LODE, 1999; BERTONE et. al., 2000). É possível que o uso de altas doses de enrofloxacin tenha induzido automutilação nas chinchilas, já que apenas os animais do criatório que receberam a injeção apresentaram o problema. Portanto, a droga deverá ser utilizada com cautela na espécie, principalmente pela via intramuscular.

10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante os 15 anos avaliados foram computadas 202 necropsias de chinchilas que morreram naturalmente ou foram submetidas à eutanásia por estarem acometidas por alguma doença. Observou-se um maior número de necropsias de chinchilas nos últimos cinco anos. As doenças mais comuns de chinchilas incluíram doenças dentárias, gastrite, na grande maioria dos casos ocasionada por infecção por bactérias do gênero *Helicobacter*, e outras infecções bacterianas localizadas ou septicêmicas. Lipidose hepática foi uma lesão frequentemente observada na necropsia de chinchilas e sua ocorrência não está associada diretamente a nenhuma entidade específica, possivelmente está relacionada a condições que induzam a parada brusca na ingestão de ração. A espécie é sensível a doses relativamente baixas de antibióticos ionóforos, manifestada por grave necrose muscular. Outros distúrbios comuns incluíram hipertermia devido a falhas no arejamento do ambiente e lesões de origem traumática, principalmente em filhotes.

Este trabalho traz uma contribuição para a sociedade veterinária. Permite que clínicos e patologistas tenham acesso aos principais dados epidemiológicos e clínico-patológicos das principais doenças que afetam chinchilas na área de influência do LPV-UFSM e, também, contribui com a literatura nacional e internacional em doenças de chinchilas. A partir desse estudo foram descritas novas lesões e manifestações de doenças na espécie *Chinchilla lanigera*, a exemplo dos casos de lipidose hepática que se trata de uma síndrome e não uma doença específica, intoxicação por salinomicina e gastrite associada a infecção natural por *Helicobacter* spp. Trabalhos posteriores sobre gastrite e infecção por *Helicobacter* sp. em chinchilas deverão ser realizados. Esses estudos poderão indicar que as chinchilas podem ser utilizadas como um adequado modelo experimental para doença gástrica, semelhante aos camundongos e gerbils.

11 REFERÊNCIAS

Asociación Argentina de Criadores de Chinchillas (AACC). Chinchilla: Una pyme de exportación que avanza con paso firme. 2011. <http://www.chinchilla.com.ar/eldorado/17007.htm>. Acesso em: 04 de agosto de 2011.

Associação Brasileira dos Criadores de Chinchila Lanigera (ACHILA). 2001. Brasil exemplo para seguir. Em: <http://www.achila.com.br/brasil.htm>. Acesso em: 04 de agosto de 2011.

BAKALETZ, L.O. Chinchilla as a robust, reproducible and polymicrobial model of otitis media and its prevention. **Experts Reviews Vaccines**, v. 8, p. 1063–1082, 2009.

BERESTOV, V.; KOZHEVNIKOVA, L. Biology of Farmed Fur Bearing Animals. In: BRANDT, A. (Org.). **Haematology and clinical chemistry of fur animals: A current treatise**, Scientifur, Tjele. 1989, 159 p.

BERTONE, A.L. et al. Effect of long-term administration of an injectable enrofloxacin solution on physical and musculoskeletal variables in adult horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 217, n. 10, p. 1514-1521, 2000.

BICKEL, E. **Chinchilla Handbook**. TFH Publications Inc., New Jersey, USA. 1987, 224 p.

BIDLINGMAIER, T.C. Notes on Genus Chinchilla. **Journal Mammology**, v. 18, p. 159-163, 1937.

BONNETT, B.N. et al. A Mortality in over 350,000 insured Swedish dogs from 1995-2000: I. Breed-, gender-, age- and cause-specific rates. **Acta Veterinária Scandinavica**, v. 46, n. 3, p. 105-120, 2005.

BOONE, A.R. Three American chinchilla farms produce most costly fur. **Popular Science Monthly**, Dezembro, 1933.

BOWDEN, R.S.T. Diseases of chinchillas. **Veterinary Record**, v. 71, n. 45, p. 1033-1035, 1959.

BOWEN, E.G.; JENKINS, R.W. Chinchilla history, husbandry and marketing. **Shoots Chinchilla Ranch**, 1969.

BRENON, H.C. Postmortem examinations of chinchillas. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 123, p. 310, 1953.

BRENON, H.C. Postmortem examinations of chinchillas. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 126, p. 225-226, 1955.

BROWNING, G.G.; GRANICH, M.S. Surgical anatomy of the temporal bone in the chinchilla. **Annals of Otology, Rhinology, and Laryngology**, v. 87, p. 875-882, 1978.

- CÁCERES, C.W.; BOZINOVIC, F. Fibre use and digestion in the herbivorous rodent *Octodon Degus*: an analysis using chemical reactor theory. **Revista Chilena de Historia Natural**, v. 67, n. 3, p. 321-327, 1994
- CAPELLO, V. Diagnosis and Treatment of Dental Disease in Pet Rodents. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 17, n. 2, p. 114–123, 2008.
- CEPEDA, A.S. et al. Aflatoxicosis en chinchillas (*Chinchilla lanigera*). *Revista MVZ Córdoba*. v. 16, n. 1, p. 2356-2363, 2011.
- CHEN-PAN, C.; FUJIWARA, K. Electron microscopy of absorptive enterocytes in the large intestine of the chinchilla (*Chinchilla laniger*). **Japanese Journal of Veterinary Science**, v. 51, n. 5, p. 1079-1082, 1989.
- CHURCH, T. L.; RADOSTITS, O.M. A Retrospective Survey of Diseases of Feedlot Cattle in Alberta. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 22, n. 2, p. 27-30, 1981.
- CORTÉS, A. et al. Energy metabolism and thermoregulation in *Chinchilla brevicaudata*. **Journal of Thermal Biology**, v. 28, n. (6-7), 489–495, 2003.
- COUSENS, P.J. The chinchilla in veterinary practice. **Journal Small Animal Practice**, v. 4, n. 3, p. 199-205, 1963.
- CROSSLEY, D.A. Dental disease in chinchillas in the UK. **Journal Small Animal Practice**, v. 42, n. 1, p. 12-19, 2001.
- DANIEL, S.J.; MUNGUIA, R. Ototoxicity of Topical Ciprofloxacin/Dexamethasone otic Suspension in a Chinchilla Animal Model. **Otolaryngology - Head and Neck Surgery**, v. 139, p. 840-845, 2008.
- DONNELLY, T.M. Disease Problems of Chinchillas. In: Quesenberry, K.E.; Carpenter, J.W. (Org.) **Ferrets, Rabbits, and Rodents: Clinical Medicine and Surgery**. 2.ed. Saunders Elsevier, St. Louis. 2003. Cap. 25, p. 254-265.
- EBINO, K.Y. Studies on coprophagy in experimental animals. **Experimental Animals**, v. 42, n. 1, p. 1-9, 1993.
- FIGHERA, R.A. et al. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965-2004). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 223-230, 2008a.
- FIGHERA, R.A. **Causas de morte e razões para eutanásia de cães**. 2008b. 171f. Tese de doutorado, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.
- FINLEY, G.G.; LONG, J.R. An epizootic of listeriosis in chinchillas. **Canadian Veterinary Journal**, v. 18, n. 6, p. 164-167, 1977.
- GIEBINK, G.S. 1999. Otitis media: The chinchilla model. **Microbial drug resistance**, v. 5, n. 1, p. 57-72.

- GONZÁLEZ, P.M.L. et al. An outbreak of acute aflatoxicosis on chinchilla (*Chinchilla lanigera*) farm in Argentina. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 20, n. 6, p. 853-6, 2008.
- GORHAM, J.R.; FARRELL, K. Diseases and parasites of chinchillas. In: **Proceedings of 92nd Annual Meeting of the American Veterinary Medical Association**, Minneapolis, 1955, p. 228-234.
- GREENACRE, C.B. Spontaneous tumors of small mammals. **Veterinary Clinics of Northen America: Small Animal Practice**, v.7, n. 3, p. 627-651, 2004.
- HARRISON, R.V. 1998. An Animal Model of Auditory Neuropathy. *Ear and hearing*, v. 19, n. 5, p. 355-361.
- HOEFER, H.L. Chinchillas. **Veterinary Clinics of Northen America: Small Animal Practice**, v. 24, n. 1, p. 103-111, 1994.
- IRIATE J.A.; JASIC F.M. The fur trade in Chile: an overview of seventy five years export data 1910-1984. **Biological Conservation**, v. 38, n. 3, p. 243-253, 1986.
- JIMINEZ, J.E. **Bases biológicas para la conservacion y el manejo de la chinchilla chilena (Chinchilla lanigera) silvestre. Informe final, marzo 1987-febrero 1990.** Corporacion Nacional Forestal, Illapel, IV Region, Chile. 1990.
- JIMINEZ, J.E. Overuse and endangerment of wildlife: the case of the Chilean mammals. **Medio Ambiente**, v. 12, p. 102-110, 1994.
- JIMINEZ, J.E. The extirpation and current status of wild chinchillas *Chinchilla lanigera* and *C. brevicaudata*. **Biological Conservation**, v. 77, n. 1, p. 1-6, 1996.
- KEAGY, H.F. Toxoplasma in the chinchilla. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 94, n. 1, p.15, 1949.
- KENNEDY, A.H. **Chinchilla diseases and ailments.** Clay publishing, Bewdley, Ontario. 1952. 260 p.
- KIRINUS, J.K. et al. Surto de listeriose sistêmica em chinchillas. **Ciência Rural**, v. 40, n. 3, p. 686-689, 2010.
- KLINE, A. **Domestication of Chinchilla.** Empress Chinchilla, 1977.
- KUGI, G. et al. *Taenia crassiceps* larvae in a chinchilla (*Chinchilla brevicaudata*). **Journal of the Veterinary Medicine**, v. 52, p. 449-452, 1999.
- LIPSKY, B.A.; BAKER C.A. Fluoroquinolone toxicity profiles: a review focusing on newer agents. **Clinical infectious diseases**, 28, n. 2, 352-364, 1999.
- LUCENA, R.B. **Doenças de bovinos no Sul da Brasil: 6.706 casos.** 2009. 78f. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

LUCENA, R.B. et al. Doenças de bovinos no Sul do Brasil: 6.706 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n.5, p. 428-434, 2010.

LUCENA, R.B. et al. Necrotizing enteritis associated with *Clostridium perfringens* Type B in chinchillas (*Chinchilla lanigera*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 12, p. 1071-1074, 2011.

LUCENA, R.B. et al. Doenças de chinchilas (*Chinchilla lanigera*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 2012a. No prelo.

LUCENA, R.B. et al. Infiltrative gastric adenocarcinoma in a chinchilla (*Chinchilla lanigerai*) naturally infected by *Helicobacter pylori*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, 2012b. No prelo.

LUCENA, R.B. et al. Surtos de intoxicação por salinomocina em chinchilas (*Chinchilla lanigera*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 43-48, 2012c.

MARAVILLA, P. et al. Chinchilla laniger can be used as an experimental model for Taenia solium taeniasis. Parasitol. Internat. **Parasitology international**, v. 60, n. 4, p. 364-70, 2011.

MEINGASSNER, J.G.; BURTSCHER, H. Double infection of the brain with *Frenkelia* species and *Toxoplasma gondii* in *Chinchilla laniger*. **Veterinary Pathology**, v. 14, n. 2, p. 146-153, 1977

MILLER, S.D. et al. Endangered mammals of chile: Status and conservation. **Biological Conservation**, v. 25, n. 4, p. 335-352, 1983.

MOHLIS, T. Informacion preliminar sobre la conservacion y manejo de La chinchilla silvestre en Chile. Boletin Tecnico n.º 3 Corporacion National Forestal, Santiago. 1983.

MORRELL, E.L. et al. Retrospective study of bovine neonatal mortality: cases reported from INTA Balcarce, Argentina. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 40, n. 2, p. 151-157, 2008.

NEWBERNE, P.M.; SEIBOLD, H.R. Malignant lymphoma in a chinchilla. **Veterinary Medicine**. v. 48, p. 428-429, 1953.

NOBEL, T.A.; NEUMANN, F. Carcinoma of the liver in a nutria (*Myocaster coypus*) and a chinchilla (*Chinchilla laniger*). **Refuah veterinarith**, v. 20, p. 161-162, 1963.

NUNLEY, J.A. et al. A new design for an implantable hearing aid. **ISA Transactions**, v. 15, p. 242-245, 1976.

PIEREZAN, F. et al. Achados de necropsia relacionados com a morte de 335 eqüinos: 1968-2007. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 275-280, 2009a.

PIEREZAN, F. **Prevalência das doenças de eqüinos no Rio Grande do Sul**. 2009b. 162f. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

- RIEDSTRA, T.A. Back to the source II. **Canada Chinchilla**, v. 39, n. 2, p. 1-3, 1991.
- RISSI, D.R. et al. Doenças de ovinos da região Central do Rio Grande do Sul: 361 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n.1, p. 21-28, 2010a.
- RISSI, D.R. **Doenças de ovinos no Sul do Brasil**. 2010b. 177f. Tese de doutorado, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.
- RODRIGUEZ, J. La chinchilla una difícil sobrevivencia. **Naturia Raleza**, v. 1, n. 4, p. 12-15, 1983.
- RUDOLPH, W. Licancabur: mountain of the Atacamenos. **Geographical Review**, v. 45, p. 151-71, 1955.
- SABOČANEC, R., et al. Incidence of listeriosis in farm chinchillas (*Chinchilla laniger*) in Croatia. *Vet. Arch.* v. 70, n. 3, p. 159-167, 2000.
- SANFORD, S.E. Cerebrospinal nematodiasis caused by *Baylisascaris procyonis* in chinchillas. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 3, n. 1, p. 77-79. 1991.
- SAUNDERS, R. Veterinary care of chinchillas. **In Practice**. v. 31, n. 6, p. 282-291, 2009.
- SERRA, M.T. Composición botánica y estacional de la alimentación de Chinchilla lanigera en condiciones naturales. **Ciencias Forestales**, v. 1, n. 4, p. 11-18, 1978.
- SIMOVA-CURD, S. et al. Lumbar osteosarcoma in a chinchilla (*Chinchilla laniger*). v. 49, n. 9, p. 483-485, 2008
- SMITH, J.L. et al. Undifferentiated Carcinoma of the Salivary Gland in a Chinchilla (*Chinchilla Lanigera*). **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 22, n. 1, p. 152-155, 2010.
- STAHLMANN, R.; LODE; H. Toxicity of quinolones. *Drugs* v.58, suplemento 2, p. 37-42, 1999.
- STRAKE, J.G. et al. Chinchillas. In: Laber-Laird, Swindle and Flecknell, editors. **Handbook of Rodent and Rabbit Medicine**. Pergamon, Elsevier Science, Oxford, 1996. Cap. 5, p. 151-182.
- VELOSO, C.; BOZINOVIC, F. Dietary and digestive constraints on basal energy metabolism in a small herbivorous rodent. **Ecology**, v. 74, n. 7, p. 2003-2010, 1993.
- WALKER, E.P. **Mammals of the World**, 3.ed. John Hopkins University Press, Baltimore, 1975. v. 2, 1500 p.
- WEBB, R.A. Chinchillas. In: **BSAVA Manual of Exotic Pets**. British Small Animal Veterinary Association, Cheltenham, 1991. p. 19-23.

WEINREB M.M. et al. Role of attrition in the physiology of the rat incisor. I. The relative value of different components of attrition and their effect upon eruption. **Journal of Dental Research**, v. 46, n.6, p. 527-531, 1967.

WILKERSON, M.J et al. An outbreak of listeriosis in a breeding colony of chinchillas. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 9, n. 3, p. 320-323, 1997.

WOHLSEIN P. et al. Spontaneous human herpes virus type 1 infection in a chinchilla (*Chinchilla lanigera f. dom.*). *Acta Neuropathologica*, v. 104, n. 6, p. 674–678, 2002.

YAMINI B, Raju NR: Gastroenteritis associated with a *Cryptosporidium* sp. in a chinchilla. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 189, n. 9, p. 1158-1159, 1986.

