



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MARIANA HIDEMI TANNO

**BACTERIOSCOPIA FECAL COM COLORAÇÃO DE GRAM
COMO FERRAMENTA COMPLEMENTAR NO DIAGNÓSTICO
CLÍNICO DE COELHO DOMÉSTICO (*ORYCTOLAGUS
CUNICULUS*)**



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MARIANA HIDEMI TANNO

**BACTERIOSCOPIA FECAL COM COLORAÇÃO DE GRAM
COMO FERRAMENTA COMPLEMENTAR NO DIAGNÓSTICO
CLÍNICO DE COELHO DOMÉSTICO (*ORYCTOLAGUS
CUNICULUS*)**

MARIANA HIDEMI TANNO

**BACTERIOSCOPIA FECAL COM COLORAÇÃO DE GRAM
COMO FERRAMENTA COMPLEMENTAR NO DIAGNÓSTICO
CLÍNICO DE COELHO DOMÉSTICO (*ORYCTOLAGUS
CUNICULUS*)**

Trabalho de Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias do Departamento de Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Luís Martins

Londrina
2025

Tanno, Mariana.

BACTERIOSCOPIA FECAL COM COLORAÇÃO DE GRAM COMO FERRAMENTA COMPLEMENTAR NO DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE COELHO DOMÉSTICO (ORYCTOLAGUS CUNICULUS) / Mariana Tanno. - Londrina, 2025.
57 f.

Orientador: Leandro Luís Martins.

Trabalho de Conclusão Final (Mestrado Profissional em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2025.

Inclui bibliografia.

1. Disbiose - Tese. 2. Colônia bacteriana - Tese. 3. Pets não convencionais - Tese. 4. Gram de fezes - Tese. I. Martins, Leandro Luís . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 619

MARIANA HIDEMI TANNO

**BACTERIOSCOPIA FECAL COM COLORAÇÃO DE GRAM
COMO FERRAMENTA COMPLEMENTAR NO DIAGNÓSTICO
CLÍNICO DE COELHO DOMÉSTICO (*ORYCTOLAGUS
CUNICULUS*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias do Departamento de Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Leandro Luís Martins
Universidade Estadual de Londrina

Prof^a. Dra. Daniela Bortoli Becegatto
Universidade Estadual de Londrina

Prof^a. Dra. Mirian Siliane Batista de Souza
Universidade Estadual de Londrina

Londrina, 29 de julho de 2025.

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho a Deus, Orixás, Santos, Anjos e a todas as formas de divindade que me acompanha.

Aos meus pais Célia e Gilberto, que são meus maiores mentores terrenos. Que me ensinam a amar a vida e ao próximo, meus valores e que nunca saíram do meu lado e sempre estiveram me apoiando em meus sonhos.

Aos meus irmãos e cunhadas, Hugo, Vitor, Heloíse e Wendy, que são meus irmãos que amo tanto. Que me presentearam com Jorge, Frederico, Lupita, Mandy, Moti, Pedro e Felipe, que irradiam meu dia de felicidade.

Aos meu amigo e orientador Leandro, que felizmente a vida nos uniu e pude ter um “pai acadêmico” ao mesmo tempo que compartilho de uma amizade sincera e muito importante para mim.

Ao professor Ulisses e toda a equipe do laboratório de microbiologia da UEL por terem me acolhido e se prontificado em nos ajudar com essa pesquisa e por terem dividido vários conhecimentos.

A professora Karina e toda a equipe do laboratório de patologia clínica da UEL por terem todo o trabalho de rodar um exame de sangue nada convencional da rotina clínica.

A professora Daniela, que além de ter sido uma excelente professora durante a minha graduação, hoje está presente na minha banca de mestrado. Sempre muito competente e animada.

Ao professor Rafael, por ter contribuído para uma boa qualificação.

A professora Mirian, por ter aceitado o convite de boa vontade.

Aos técnicos do departamento de Anatomia da UEL e as funcionárias da limpeza, que me ajudaram a organizar os dias de colheita.

Aos meus amigos, colegas de profissão, estagiários e “Amazoners” que me estimularam a adentrar no mestrado, que me ajudaram a encontrar os coelhos, que confiam no meu trabalho e que são os ouvidos quando preciso desabafar, sem vocês, também não teria conseguido.

Aos queridos tutores que nos confiaram seus bens mais preciosos

para que este projeto desse tudo certo.

Aos meus pacientes, que me ensinam todos os dias, que me dão forças para sempre buscar o melhor.

A todos que de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

TANNO, Mariana Hidemi. **Bacterioscopia fecal com coloração de gram como ferramenta complementar no diagnóstico clínico de coelho doméstico (*Oryctolagus cuniculus*)**. 2025. 60 f. Dissertação (Mestrado em Clínicas Veterinárias) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2025.

RESUMO

O coelho doméstico é cada vez mais presente na rotina da clínica de pets não convencionais. É muito comum o animal chegar ao atendimento por erro de manejo, principalmente alimentar, que manifesta problemas relacionados ao trato gastrointestinal, como a estase gastrointestinal, cecoprofagia anormal, disbiose, entre outros. Por ser uma presa, é um animal que comumente mascara os sinais clínicos, fazendo com que cheguem ao atendimento muitas vezes quando a doença já está avançada. Este estudo teve como objetivo avaliar a utilidade da bacterioscopia de fezes com coloração de Gram como ferramenta auxiliar na rotina clínica de coelhos domésticos, correlacionando seus achados com exames hematológicos, bioquímicos e semeaduras em placas com meios de Mueller-Hinton (MH) e MacConkey (MC). Foram avaliados 31 coelhos, de ambos os sexos, com idades entre dois meses e três anos, dos quais foram colhidas amostras de sangue e fezes. Na análise microscópica, com as lâminas coradas foi realizado contagem manual de morfotipos bacterianos, separando em sete categorias: cocos Gram positivos e negativos, bacilos Gram positivos e negativos, bacilos pleomórficos, bacilos longos e leveduras. Estimou-se o número de bactérias por campo, a partir de cinco campos aleatórios por amostra, possibilitando uma avaliação mais objetiva da morfologia e predominância bacteriana. Foi observado maior intensidade de bacilos Gram negativos e a mínima presença de leveduras nas lâminas. Os resultados evidenciaram correlação com os exames laboratoriais realizados. Mesmo na ausência de sinais clínicos, alterações hematológicas e bioquímicas, foram encontradas. Houve maior crescimento em placas com meio MH em comparação com o meio MC. A partir do presente estudo conclui-se que, isoladamente, a bacterioscopia fecal não se mostrou suficiente para o diagnóstico de disbiose, mas sua associação com exames hematológicos e bioquímicos pode contribuir para uma avaliação clínica mais precisa, reforçando a importância de exames laboratoriais como ferramentas de triagem em coelhos assintomáticos.

Palavras-chave: Colônias bacterianas. Microbiota intestinal. Disbiose. Gram de fezes. Lagomorfos.

TANNO, Mariana Hidemi. ***Fecal bacterioscopy with Gram staining as a complementary tool in the clinical diagnosis of domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*)***. 2025. 60 f. Dissertation (Master's Degree in Veterinary Clinical Sciences) – State University of Londrina, Londrina, 2025.

ABSTRACT

The domestic rabbit is increasingly present in the routine of non-conventional pet clinics. It is very common for the animal to arrive for consultation due to management errors, mainly dietary, which manifest as problems related to the gastrointestinal tract, such as gastrointestinal stasis, abnormal cecotrophy, dysbiosis, among others. As a prey species, it is an animal that commonly masks clinical signs, often arriving for care when the disease is already advanced. This study aimed to evaluate the usefulness of fecal bacterioscopy with Gram staining as an auxiliary tool in the clinical routine of domestic rabbits, correlating its findings with hematological, biochemical, and culture tests on plates with Mueller-Hinton (MH) and MacConkey (MC) media. Thirty-one rabbits of both sexes, aged between two months and three years, were evaluated, from which blood and fecal samples were collected. In the microscopic analysis, stained slides were used to manually count bacterial morphotypes, separated into seven categories: Gram-positive and Gram-negative cocci, Gram-positive and Gram-negative bacilli, pleomorphic bacilli, long bacilli, and yeasts. The number of bacteria per field was estimated from five random fields per sample, allowing for a more objective assessment of morphology and bacterial predominance. A higher intensity of Gram-negative bacilli and minimal presence of yeasts were observed on the slides. The results showed correlation with the laboratory tests performed. Even in the absence of clinical signs, hematological and biochemical alterations were found. Greater growth was observed in plates with MH medium compared to MC medium. From the present study, it is concluded that, in isolation, fecal bacterioscopy was not sufficient for the diagnosis of dysbiosis, but its association with hematological and biochemical tests may contribute to a more accurate clinical evaluation, reinforcing the importance of laboratory tests as screening tools in asymptomatic rabbits.

Key-words: Bacterial colonies. Intestinal microbiota. Dysbiosis. Fecal Gram stain. Lagomorphs.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fotografia de coelho doméstico (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) da raça mini lop, Londrina -PR	15
Figura 2 - Desenho esquemático do sistema digestório (esôfago, estômago, bile, duodeno, jejuno, pâncreas, intestino grosso, válvula ileocecal, apêndice cecal, ceco, cólon, reto, ânus) de coelhos.	17
Figura 3 - Fluxograma da técnica de coloração de Gram, adaptado da UFG, bacteriologia básica, 2025.....	23
Figura 4 - Imagem de fezes pesadas por uma balança de precisão e acondicionadas em tubos estéreis de fundo cônico (seta). UEL, Londrina, PR (2024).....	28
Figura 5 - Fotografia de lâmina confeccionada e corada na diluição 2, no aumento de 100x, apresentando grande quantidade de bacilos Gram negativos. UEL- Londrina, PR (2024).....	30
Figura 6 - Fotografia de placas de petri descartáveis já semeadas. Em meio Ágar Mueller-Hinton (MH) (figura A) e na figura B, no meio Ágar MacConkey (MC). UEL- Londrina, PR (2024).	31
Figura 7 - Fotografia de microtubos coletores, os de tampa amarela (com gel separador e ativador de coágulo) e os de tampa roxa (com EDTA). UEL- Londrina, PR (2024).....	32

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Número de colônias distintas encontrado nos meios de cultura Mueller Hinton a partir das fezes de coelhos. UEL- Londrina- PR (2025).....	36
Gráfico 2 - Número de colônias distintas encontrado nos meios de cultura MacConkey a partir das fezes de coelhos. UEL- Londrina- PR (2025).	37
Gráfico 3 - Boxplot dos valores de leucócitos totais (/mm ³) de coelhos domésticos (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).....	40
Gráfico 4 - Boxplot dos valores de neutrófilos segmentados (/mm ³) de coelhos domésticos (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).....	40
Gráfico 5 - Boxplot dos valores de linfócitos (/mm ³) de coelhos domésticos (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).....	41
Gráfico 6 - Boxplot dos valores de eosinófilos segmentados (/mm ³) de coelhos domésticos (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).....	42
Gráfico 7 - Boxplot dos valores de monócitos (/mm ³) de coelhos domésticos (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).....	42
Gráfico 8 - Boxplot dos valores de fosfatase alcalina (FA) (UI/L) de coelhos domésticos (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).....	45
Gráfico 9 - Boxplot dos valores de alanina aminotransferase (ALT) (UI/L) de coelhos domésticos (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).....	46
Gráfico 10 - Boxplot dos valores de albumina (g/dl) de coelhos domésticos (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).....	46
Gráfico 11 - Boxplot dos valores de ureia (mg/dl) de coelhos domésticos (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).....	47
Gráfico 12 - Boxplot dos valores de creatitina (mg/dl) de coelhos domésticos (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Filo bacteriano predominante em coelhos (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) segundo diferentes autores.....	19
Tabela 2 - Tipo de alimentação dos animais segundo seus tutores, indicando número de indivíduos e sua porcentagem. Londrina- PR (2025).	27
Tabela 3 – Média (frequência absoluta), frequência relativa e desvio padrão da bacterioscopia com coloração de Gram, de 28 amostras de coelhos sem fezes diarreicas. UEL- Londrina- PR (2025)..	34
Tabela 4 - Média (frequência absoluta), frequência relativa e desvio padrão da bacterioscopia com coloração de Gram, de 3 amostras de coelhos com fezes diarreicas UEL- Londrina- PR (2025)..	35
Tabela 5 - Média e desvio padrão obtidos no leucograma de 31 coelhos de estimação. UEL- Londrina- PR (2025).....	39
Tabela 6 - Média e desvio padrão dos bioquímicos de coelhos de estimação. UEL- Londrina- PR (2025).....	44
Tabela 7 - Resultados do Teste de Shapiro - Wilk. UEL- Londrina- PR (2025).	49
Tabela 8 - Teste de Kruskal-Wallis para comparação entre alimentação e contagens bacterianas. UEL- Londrina- PR (2025).	50
Tabela 9 - Teste de Kruskal-Wallis para comparação entre alimentação e variáveis do leucograma e bioquímicos. UEL- Londrina- PR (2025).	50
Tabela 10 - Teste de correlação de Spearman para comparação entre leveduras e variáveis bioquímicas. UEL- Londrina- PR (2025).....	51
Tabela 11 - Teste de correlação de Spearman para comparação entre leveduras e variáveis de leucograma. UEL- Londrina- PR (2025).	51
Tabela 12 - Características dos Clusters identificados e suas interpretações. UEL- Londrina- PR (2025).....	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AST	Aspartato aminotransferase
ALT	Alanina Aminotransferase
CK	Creatina Quinase
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetracético
FA	Fosfatase Alcalina
G/DL	Gramas por decilitro
INPM	Instituto Nacional de Pesos e Medidas
LDH	Lactato desidrogenase
MC	Ágar MacConkey
MG/DL	Miligramas por decilitro
MH	Ágar Mueller-Hinton
MM ³	Milímetro cúbico
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PH	Potencial Hidrogeniônico
qPCR	PCR quantitativa em Tempo Real
UI/L	Unidades Internacionais por litro
µL	Microlitro
UEL	Universidade Estadual de Londrina
UFG	Universidade Federal de Goiás

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2. 1	COELHO DOMÉSTICO.....	15
2. 1. 1	Manejo alimentar.....	16
2. 2	Sistema digestório.....	16
2. 2. 1	O papel da microbiota intestinal na saúde do hospedeiro.....	18
2. 2. 2	Colonização do trato digestório do coelho	18
2. 3	Causas de disbiose	20
2. 4	Bacterioscopia de fezes com coloração de gram.....	21
2. 4. 1	Aplicação de bacterioscopia de fezes com coloração de gram.....	23
2. 5	Hematologia e bioquímica.....	24
3	OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICOS	26
4	MATERIAL E MÉTODOS	27
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5. 1	Avaliação do exame de coloração de Gram das fezes.....	34
5. 2	Avaliação da contagem bacteriana nas placas.....	36
5. 3	Avaliação dos perfis hematológicos e bioquímicos.....	38
5. 4	Análise estatística.....	48
6	CONCLUSÃO.....	53
7	BIBLIOGRAFIA.....	54

1 INTRODUÇÃO

Os coelhos são mamíferos quadrúpedes da ordem dos lagomorfos pertencente à família dos leporídeos, em geral dos gêneros *Oryctolagus* e *Sylvilagus*. São animais de crescente procura como animal doméstico, pelo seu comportamento dócil e, conseqüentemente, a busca por atendimentos especializados tem se intensificado (Rodrigues et al., 2022). De caráter evolutivo, para não demonstrar aos predadores, é instintivo que os sinais clínicos da maioria das doenças sejam tardios, dificultando os diagnósticos precoces e comprometendo os prognósticos (Hill, 2009).

A microbiota do trato gastrointestinal de coelhos é complexa e exerce funções essenciais na digestão, na absorção de nutrientes, na proteção contra patógenos e microrganismos ambientais, além de influenciar o bem-estar, a função neurológica e a imunidade do hospedeiro. Esse sistema também está diretamente relacionado a diversos processos fisiológicos, nutricionais, comportamentais e de resposta ao estresse (Wlazlo et al, 2021).

De acordo com Jenkins (2009), os coelhos possuem essa microbiota complexa, principalmente no ceco, onde ocorre a fermentação e a quebra das fibras vegetais presentes na alimentação, e diferente da maioria dos outros mamíferos, dependem desse microbiota para digestão eficiente da celulose. Dito disso, essa espécie pode ser comprometida por diversos distúrbios digestivos, como por exemplo, hipomotilidade cecocólica, disbiose e diarreia.

O exame de bacterioscopia por coloração de gram, é comumente utilizado e relatado na medicina humana para diagnóstico rápido de diarreia por *Campylobacter*, como descrito por Kano (2021). Esse tipo de abordagem, também tem potencial de aplicação em demais espécies, como os coelhos.

Este trabalho tem por objetivo dar importância do exame de bacterioscopia de fezes com coloração de gram na rotina clínica de coelhos domésticos, com sinais clínicos digestivos e ou na ausência deles. Pressupõe-se que esse exame pode ser uma ferramenta útil para a detecção precoce de alterações compatíveis com disbiose, especialmente quando relacionado a achados laboratoriais e cultura fecal.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O COELHO DOMÉSTICO

Os coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), lebres (*Lepus sp*), tapitis (*Sylvilagus brasiliensis*), e lebres assobiadoras (*Ochotona sp*) pertencem a família Leporidae, da ordem Lagomorpha. Diferente dos roedores, possuem dois pares de incisivos superiores. Com ancestrais do oeste da Europa e nordeste da África, o coelho doméstico (*Oryctolagus cuniculus*), conta com mais de 50 raças (Pessoa, 2014).

Esta espécie tem uma expectativa de vida média entre 6 a 8 anos. Os coelhos possuem diversas raças, sendo classificadas quanto ao peso. Um adulto pesando até 1,5kg, é considerado uma raça anã, até 3kg raça pequena, entre 3kg e 5kg raça média e acima de 5kg, raça gigante. Os mini coelhos são os mais populares como pets, e se enquadram nas raças anã e pequena como por exemplo, os mini Lion, mini Rex, mini Lop (na figura 1), Netherland (Machado, 2022). A procura por essa espécie tem aumentado por serem silenciosos, pequenos, graciosos e de baixo custo de manutenção (Heker, 2015).

Figura 1 - Imagem de coelho doméstico (*Oryctolagus cuniculus*) da raça mini lop, 2025.



Fonte: Arquivo pessoal, imagem permitida pelo tutor.

2.1.1 Manejo alimentar

A casuística de coelhos domésticos que não possuem uma alimentação adequada é demasiada na rotina clínica. A alimentação comumente relatada, é composta por excesso de carboidrato e baixa quantidade de fibras (Sorensini, 2020).

A alimentação ideal do coelho pet, segundo Machado (2022), é composta por ração própria para a espécie, vegetais, feno de boa qualidade e água fresca à vontade. A ingestão de matéria seca deve ser entre 3 e 8% do peso corporal, variando conforme o indivíduo, o ambiente e seu tipo de dieta. Uma dieta adequada deverá conter tanto volume como fibras digeríveis e não digeríveis para um bom funcionamento do trato gastrointestinal (Fediaf, 2024).

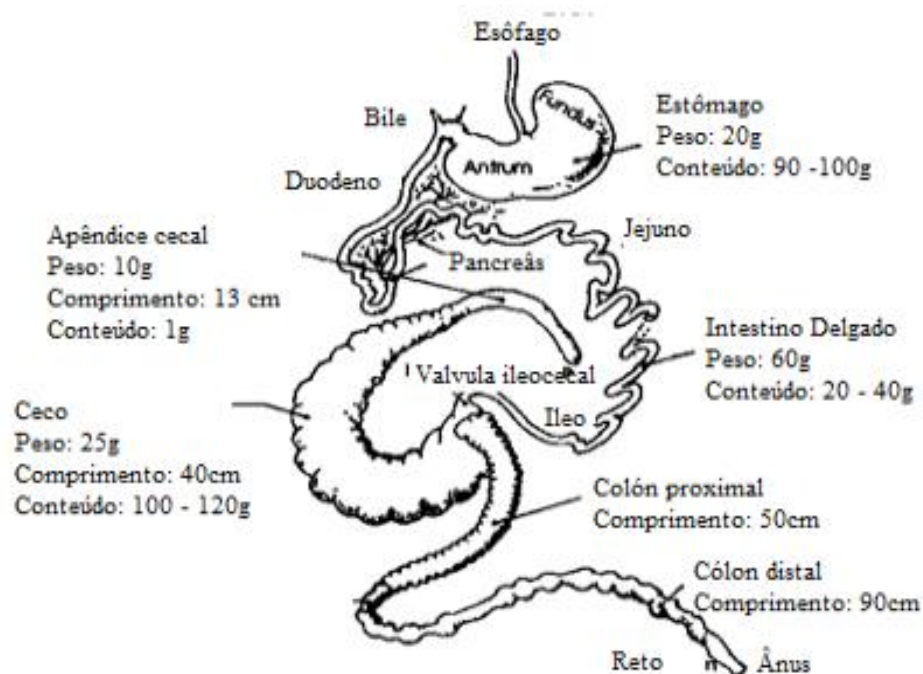
Avaliando o manejo alimentar provido por tutores, Monteiro e Gomes (2023) realizaram uma pesquisa com 400 responsáveis de coelhos pet. Cerca de 81,5% afirmaram oferecer feno ou capim ad libitum, 47,6% fornecem entre 50 a 100 gramas de ração diariamente e 8,9% deixam disponível o tempo todo, 37,3% oferecem de 50 a 100 gramas de verduras diariamente e 23% fornecem menos de 50 gramas. Oitenta e um por cento dos responsáveis fornecem menos de 50 gramas por dia de legumes e 91,8% fornecem menos de 50 gramas de frutas por dia. Além disso, 7,8% dos tutores fornecem petiscos industrializados próprios ou não para a espécie, e 11,2% petiscos naturais próprios ou não para coelhos. No mesmo estudo, mais da metade dos entrevistados afirmaram que seu animal possuía algum diagnóstico, flatulência (44,5%), estase gastrointestinal (29,2%), pododermatite (15,5%), hipercrecimento dentário (12,9%), sarna (5,3%), entre outros.

2. 2 Sistema digestório

Segundo Oliveira (2021) os coelhos são herbívoros monogástricos e seu trato gastrointestinal é ajustado para receber grandes quantidades de alimentos fibrosos.

O sistema digestório (Figura 2) é composto pela cavidade oral, esôfago, estômago unicavitário, intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo), intestino grosso (ceco, cólon e reto) e glândulas anexas (glândulas salivares, pâncreas e fígado) (Oliveira, 2021).

Figura 2 - Desenho esquemático do sistema digestório (esôfago, estômago, bile, duodeno, jejuno, pâncreas, intestino grosso, válvula ileocecal, apêndice cecal, ceco, cólon, reto, ânus) de coelhos.



Fonte: adaptado de The rabbit - Husbandry, health and production. Lebas, F; et al. p 31 (1997)

O estômago apresenta dois divertículos característicos: a cárdia e o piloro. A cárdia, na entrada do estômago, é bem desenvolvida, o que impede o animal de vomitar e o piloro, na saída para os intestinos, é bem proeminente. O estômago nunca é encontrado vazio, sugerindo que a mecânica da chegada do alimento é quem pressiona o conteúdo para o duodeno, o que reforça a importância do animal sempre ter alimento disponível para garantir um bom funcionamento do trato gastrointestinal (Ferreira, et al 2006; Da Silva, 2012). Responsável pela maior parte de absorção de nutrientes, o intestino delgado possui uma parede fina e altamente vascularizada (Oliveira, 2021).

A fisiologia digestiva do intestino grosso (ceco, cólon e reto) em coelhos se difere de outras espécies, incluindo as herbívoras. É neste segmento que ocorre a maior parte da digestão de fibras pela fermentação cecal, a seleção e excreção da fibra e a cecotrofia. O ceco é bastante volumoso, tendo capacidade para conter 10 vezes mais conteúdo do que o estômago. Além disso, possui uma câmara

fermentativa onde as partículas finas do alimento por meio da fermentação microbiana, PH, temperatura adequada e uma anaerobiose se transformam em cecotrofos. Enquanto as partículas grossas dos alimentos, prosseguem ao cólon e reto, formando as fezes duras (Oliveira, 2021).

A cecotrofia, ou seja, a ingestão do cecotrofo é um comportamento fundamental do coelho, pois além de ser um alimento altamente nutritivo, faz parte de sua exigência nutricional diária (Paula, 2017). A quantidade produzida de cecotrófos e sua composição, é diretamente associada pela dieta do animal. Seu consumo, é influenciado pela energia e proteína da dieta, quando mais baixa energeticamente, maior o consumo de cecotrófos (Gouveia, 2019).

2.2.1 O papel da microbiota intestinal na saúde do hospedeiro

A microbiota intestinal é um conjunto de microorganismos que habitam naturalmente o intestino. Fatores como parto, idade, amamentação, uso de antibióticos e principalmente alimentação, podem alterar essa microbiota (Heringer, 2023).

Zheng (2020), discorre sobre como o sistema imunológico precisa estar em simbiose com o trato gastrointestinal em mamíferos. Este sistema, produz anticorpos específicos para as bactérias benéficas dessa região, impedindo disbiose. No entanto, podem ocorrer desequilíbrios devido a doenças em animais geneticamente suscetíveis ou até por uma microbiota mal estabelecida devido ao desmame precoce.

2.2.2 Colonização do trato digestório do coelho

De acordo com uma pesquisa realizada em 2020 por Cotozzolo e colaboradores, detectaram-se 12 filos bacterianos no trato gastrointestinal de coelhos, sendo *Firmucutes* o filo mais abundante e mais eficaz na degradação de celulose, *Bacteroidetes* ocupando o segundo lugar e sendo responsável por estimular o desenvolvimento de tecido imune associado ao intestino. Quando esses dois filos estão em proporções inadequadas, pode indicar disbiose em coelhos, assim como em humanos e cavalos. Além desses filos, foi identificado os *Verrucomicrobia*, *Patescibacteria*, *Euryarchaeota*, *Actinobacteria*, *Cianobactéria*, *Proteobactérias*,

Tenericutes, *Epsilonbacteraeota*, *Lentosferas* e Sinergistas. É importante destacar que pode haver diferenças na composição e quantificação da microbiota ao longo do trato digestório, decorrentes de manejo ambiental, dieta, genética, raças, drogas e em animais doentes ou imunossuprimidos.

Conforme estudos realizados por Galilea (2018), o filo mais presente foi *Firmicutes* representando mais de 76% nas fezes e ceco, *Tenericutes* 8,17% nas fezes e 7,48% no ceco, e *Bacteroidetes* com cerca de 7% em ambos. As classes predominantes em ambos foram *Clostridia* (76,14%), *Mollicutes* (7,54%) e *Bacteroidia* (7,41%). Indicando que a composição geral da microbiota intestinal de coelhos, é bem próxima entre o ceco e as fezes.

Pesquisa desenvolvida por Eshar (2014), também, mostrou *Firmicutes* como o filo mais dominante na microbiota fecal, seguido por *Verrucomicrobia* e outros representando menos de 1% da colonização, como o filo *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chlamydiae*, *Cyanobacteria*, *Deinococcus – Thermus*, *Fibrobacteres*, *Fusobacteriota*, *Lentisphaerae*, *Plantomycetota*, *Espiroquetas*, *Sinergistetes*, *Tenericutes*. Dentro do *Firmicutes*, *Clostridia* foi a classe mais predominante.

Os estudos descritos acima tiveram a microbiota fecal e cecal de coelhos exploradas pela técnica de análise molecular, como representadas na tabela 1.

Tabela 1 - Filo bacteriano predominante em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) segundo diferentes autores.

Autor (Ano)	Filo	Porcentagem média (%) *
Eshar (2014)	<i>Firmicutes</i>	66,6%
Eshar (2014)	<i>Verrucomicrobia</i>	4,4%
Galilea (2018)	<i>Firmicutes</i>	76,42%
Galilea (2018)	<i>Tenericutes</i>	7,83%
Galilea (2018)	<i>Bacteroidetes</i>	7,42%
Cotozzolo (2020)	<i>Firmicutes</i>	45,9%
Cotozzolo (2020)	<i>Bacteroidetes</i>	38,9%
Cotozzolo (2020)	<i>Euryarchaeota</i>	30,05%

* Valores correspondem a média entre os limites mínimo e máximo descrito nos estudos.

2.3 Causas de disbiose

A diarreia é um sinal clínico comum, e pode ter diversas causas, incluindo disbiose bacteriana em que há um desequilíbrio da microbiota intestinal, além de infecções parasitárias e virais, doenças sistêmicas, neoplasias, distúrbios metabólicos e nutricionais e até mesmo o uso de determinados medicamentos (Vetstream, 2023). Além disso, um coelho que se alimenta de baixa quantidade de fibra indigestível, ou seja, celulose e lignina, e altos teores de amido e açúcares, também estão diretamente relacionadas a ocorrência de diarreia (Fediaf, 2024). Considerando sua relevância clínica, compreender as principais causas de disbiose que podem levar a esse quadro é fundamental.

A disbiose é um desequilíbrio de bactérias protetoras e agressoras do trato gastrointestinal. Doenças hepáticas, distúrbios neurológicos e de comportamento, artrite, imunidade, doenças cardiovasculares e câncer em cólon retal, já foram descritas em humanos como doenças associadas a este desequilíbrio (Pantoja, 2019). Em coelhos, além dessas possíveis repercussões, outros fatores específicos podem desencadear disbiose, sendo os principais descritos a seguir:

Hipomotilidade cecocólica:

Coelhos que consomem quantidade insuficiente de fibra não digeríveis, podem sofrer com hipomotilidade cecocólica, provocando alterações fisiológicas no intestino e, conseqüentemente, tendo alterações na microflora presente. O excesso de carboidratos, também, pode propiciar um ambiente proliferativo para patógenos, como por exemplo *Escherichia coli* e *Clostridium* (Jenkins, 2004).

Enterotoxemia:

Causado pela exposição de *Clostridium spiroforme*, é comum em filhotes recém desmamados (3-6 semanas de idade), pois os mesmos, possuem uma flora gastrointestinal de microflora subdesenvolvida, o PH gástrico mais alto, entre 5 – 6,5, enquanto nos adultos é entre 1 – 2, o que permite a proliferação deste patógeno (Silva, 2016; Cotozzolo, 2020; Oglesbee e Lord, 2020).

Disbiose secundária a antibioticoterapia:

A administração de antibióticos em coelhos, requer cautela, principalmente por

via oral, pois podem suprimir a flora gastrointestinal e causar enterite. Dentre eles, pode-se citar a Clindamicina, lincomicina, ampicilina, amoxicilina, amoxicilina com clavulanato, cefalosporinas, penicilinas e eritromicina (Carpenter, 2023).

Colite secundária a antibioticoterapia:

Colite é a inflamação do cólon, parte do intestino grosso que abriga uma microbiota benéfica essencial para a homeostase intestinal (Collier, 2025). Em equinos, alguns antimicrobianos podem causar efeitos adversos ao alterar a composição da microflora intestinal, resultando em disbiose. Essa alteração favorece a proliferação de bactérias oportunistas e enteropatógenos comensais, levando à diarreia e colite (Barr et al., 2013). De maneira similar, Carpenter (2023) relata que coelhos tratados com penicilinas, sulfametoxazol-trimetoprima, tetraciclina e gentamicina apresentaram colite, evidenciando que a interferência na microbiota intestinal é um fator central no desenvolvimento da doença.

Estase gastrointestinal:

É uma das doenças mais comuns em coelhos, geralmente causada por um manejo errôneo, principalmente relacionado a dieta pobre em fibras não digeríveis. A estase gastrointestinal se trata de uma síndrome de motilidade reduzida ou ausente, e quando há hipomotilidade cecocólica, a microflora se altera e, conseqüentemente, o PH cecal também, em condições fisiológicas apresenta valor aproximado de 6,5. Essa alteração no ambiente cecal favorece a proliferação de microorganismos patogênicos, como *Clostridium* e *Escherichia coli*, resultando em um quadro de disbiose (Cotozzolo, 2020; Oglesbee, 2020).

2.2 BACTERIOSCOPIA DE FEZES COM COLORAÇÃO DE GRAM

De acordo com Moreira et al. (2015), a bacterioscopia é um exame laboratorial capaz de identificar uma bactéria causadora de um processo infeccioso por meio de um diagnóstico presuntivo, sendo a cultura necessária para um diagnóstico confirmatório. Este método possibilita a análise da forma, organização e agrupamento das bactérias encontradas, como também podem ser encontrados leucócitos, cistos de protozoários, larvas de helmintos, entre outros.

Tal exame, pode ser realizado tanto fresco quanto corado (para visualização

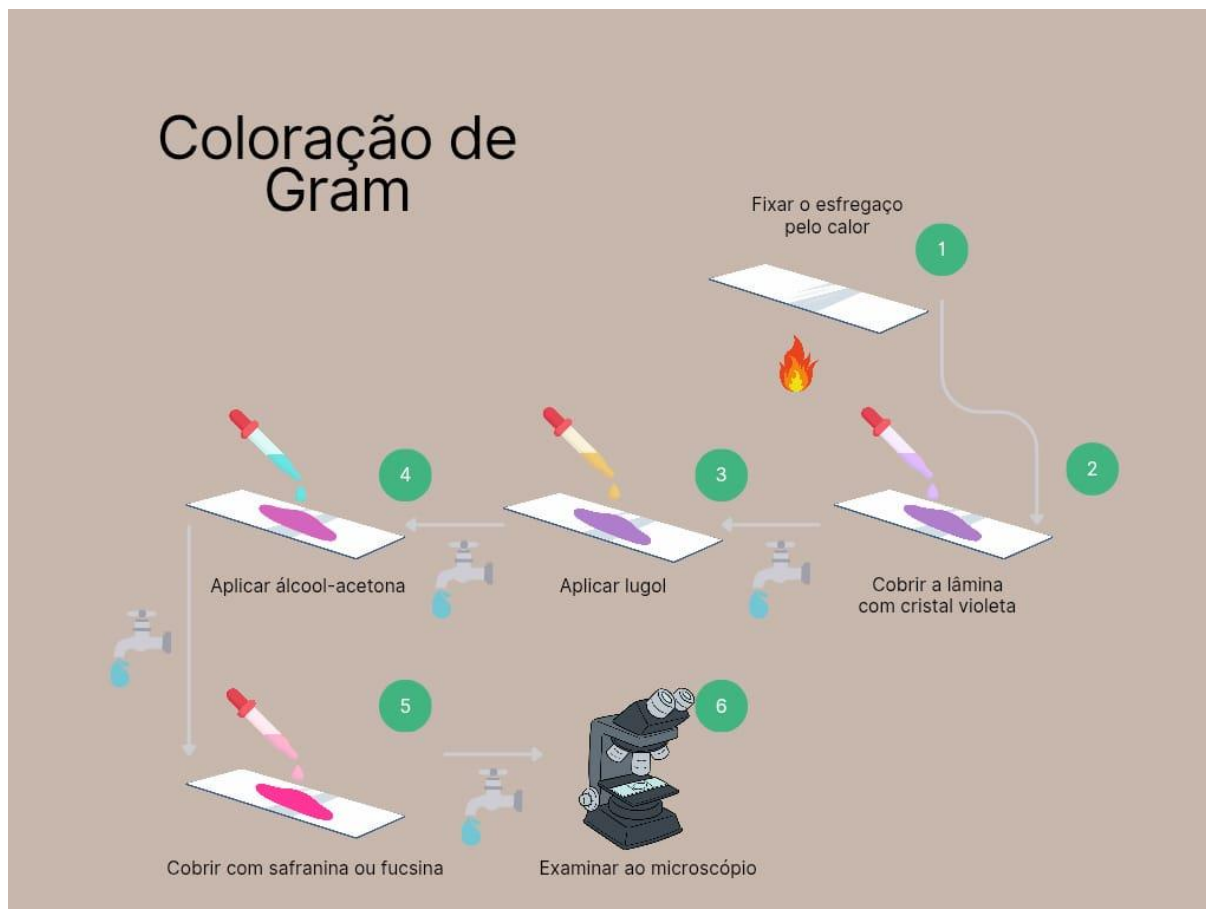
de microorganismos vivos e mortos, respectivamente). Quando realizado a bacterioscopia de fezes corado pelo método de Gram, deve se ter em mente que a microbiota presente no intestino é diversa e numerosa, por isso, é observado se as bactérias estão em equilíbrio ou se há algum processo infeccioso acontecendo (Moreira et al., 2015).

O exame de coloração de gram é simples, barato e rápido, comparado a outros métodos diagnósticos, podendo ser realizado em até 5 minutos. Traz informações importantes como diagnóstico presuntivo, triagem, gravidade do caso, detecta microorganismos raros, incomuns e até presumíveis, auxiliando a escolha da terapia medicamentosa inicial até o resultado de outros exames e/ou fornecendo dados em que a escolha do antibiótico poderá ser mais cautelosa, evitando o uso dos de amplo espectro ou até mesmo determinar um tratamento de urgência (Moreira, et al. 2015; Boyanova, 2017).

Além de ser aplicado na medicina humana, é descrito em coelhos e ruminantes. Em um estudo realizado em coelhos por Saleem (2022), o exame de bacterioscopia fecal com coloração de Gram, foi essencial para separar e identificar algumas espécies de bactérias, para então prosseguir com os testes bioquímicos e cultivos bacterianos com muito mais assertividade.

Para realizar este exame, representado na figura 3, um esfregaço do material já seco e homogêneo sob a lâmina de vidro é tratado com um corante primário (Cristal violeta) por 1 minuto, em seguida escorrer a solução com um filete de água corrente, cobrir com solução de lugol por 1 minuto, retirar o excesso e escorrer também com um filete de água corrente, descorar com álcool-acetona, escorrer um filete de água corrente e por fim, cobrir a lâmina com fucsina (diluído na proporção de 1:10), deixar por 30 segundos, lavar com um filete de água corrente. Após todas essas etapas, o material deve ser secado naturalmente e observado a lâmina em um microscópio no aumento de 1000x (Costa; Esteves; Nogueira, 2024).

Figura 3 - Fluxograma da técnica de coloração de Gram, adaptado da UFG, bacteriologia básica, 2025.



Fonte: adaptado da UFG, bacteriologia básica.

2.2.1 Aplicações da bacterioscopia de fezes com coloração de Gram

Em 2014, Evans et al, realizaram uma pesquisa em 21 Papagaio de Hispaniola (*Amazona ventralis*) e adultos. Foi observado na coloração de Gram maior quantidade de bactéria do que na cultura fecal; pelo fato de serem anaeróbicas, podem exigir uma técnica de cultura especial, um meio específico ou até mesmo ser influenciado pela quantidade e qualidade da amostra, já que para isolar as bactérias por meio de cultura é necessário um mínimo de 10^3 ou 10^4 organismos e na coloração de gram apenas 1 ou 2. Os autores afirmaram que a coloração de Gram é mais rápida do que a cultura quando se trata de uso de teste de triagem para avaliação da saúde do animal. Além da representação de maior abrangência de flora gastrointestinal do indivíduo.

Fontaine et al. (2015), publicaram o primeiro relatório comparando a precisão

dos métodos de cultura, coloração de gram e PCR na detecção de bactérias providas de amostras de fezes de camundongos livres de germes. Nesse artigo observou-se que em relação à sensibilidade, na cultura apresentou maior porcentagem, seguida pela Coloração de Gram e por fim, o qPCR. Na especificidade o qPCR obteve melhor desempenho, seguido pela coloração de gram e por último a cultura. E quanto a precisão do teste, a coloração de GRAM e o qPCR obtiveram resultados semelhantes, enquanto a cultura apresentou a menor porcentagem.

As aplicações do esfregaço de fezes corados por Gram é descrita em diversas espécies como ferramenta diagnóstica de infecções. Em 2001, Marks relatou seu uso em cães e gatos como meios diagnóstico de *Campylobacter jejuni*, agente causador de diarreia. Em 2021, Kano descreve de forma parecida a técnica em pacientes humanos, permitindo diagnóstico presuntivo de *Campylobacter*. Já em 2022, Vieira relatou dois casos de megabacteriose em calopsitas, utilizando a mesma técnica.

2.3 HEMATOLOGIA E BIOQUÍMICA

Em decorrência do comportamento em mascarar doenças para evitar a predação, tutores de coelhos podem acreditar que o animal está seguro mesmo quando podem ter uma doença grave acometendo o seu animal. A análise hematológica e bioquímica, pode mostrar o verdadeiro estado fisiológico em que o paciente se encontra, auxiliando um diagnóstico mesmo na ausência de sinais clínicos (Mitchell, 2010).

Já é descrito em humanos, que o hemograma pode mostrar informações sobre se há ou não distúrbios sanguíneos, sendo possível monitorar os níveis de glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas, e se há alguma anormalidade nas células sanguíneas, como anemia, infecções, distúrbios de coagulação e até alguns tipos de câncer (Popov, 2024).

Além disso, nessa espécie é importante saber que a idade, sexo, raça e ciclo circadiano, podem alterar os parâmetros hematológicos e bioquímicos. Por exemplo, a contagem de leucócitos e de linfócitos oscilam durante o dia, sendo mais baixos no fim da tarde e à noite, diferente dos heterófilos, eosinófilos, ureia e colesterol que aumentam neste período. Os indivíduos com menos de 12 semanas de idade, podem apresentar contagens mais baixas de glóbulos vermelhos e de leucócitos (Melilo, 2007).

O estresse prolongado também pode induzir a heterofilia, linfopenia e leucocitose. E a contenção física em um animal arredo, pode elevar o lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase (AST) e a creatina quinase (CK) (Melilo, 2007).

3 OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICO

3.1 Objetivo geral:

Identificar a eficácia da bacterioscopia fecal com coloração de Gram na identificação de disbiose em coelhos domésticos assintomáticos, associando os achados ao hemograma, perfil bioquímico e cultura bacteriana fecal.

3.2 Objetivos específicos:

- Avaliar anormalidades na microbiota intestinal por meio da bacterioscopia com coloração de gram.
- Apresentar os resultados da bacterioscopia com coloração de gram.
- Incluir a coloração de Gram na rotina de check-up do coelho doméstico.
- Criar valor de referência dos resultados da bacterioscopia de fezes com coloração de gram em coelhos pet.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Aprovação do comitê de ética

O trabalho realizado está de acordo com os princípios éticos da experimentação animal adotados e assim, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Londrina, Londrina/PR (Protocolo nº001.2024).

Animais

Para realização desse trabalho foram colhidas fezes e sangue de 31 coelhos domésticos hígidos, sendo 7 coelhos de raça pequena, 24 de raças anã, na faixa etária de 2 meses a 3 anos de idade, sendo 20 fêmeas e 11 machos. Durante a anamnese realizada junto aos tutores, foram obtidas informações referentes a alimentação oferecida (tabela 2), idade, sexo, possíveis sinais clínicos, alterações de comportamento e da consistência das fezes.

Os animais foram submetidos a avaliação física, que constava: aferição da temperatura corpórea, auscultação pulmonar, cardíaca e do trato gastrointestinal, além de palpação corporal. Nenhum dos animais apresentou alteração nesta avaliação.

Tabela 2 - Tipo de alimentação dos animais segundo seus tutores, indicando número de indivíduos e sua porcentagem. Londrina- PR (2025).

Alimentação	Animais	Porcentagem %
Alimentação com feno, folhas verdes escuras e ração própria para espécie	22	70,97%
Alimentação sem feno, com folhas verdes escuras e ração própria para espécie	8	25,81%
Alimentação sem feno, sem folhas verdes escuras, somente com ração e leguminosas	1	3,22%

Preparação das amostras de fezes

Após a avaliação física do animal e a higienização do ambiente com cloreto de benzalcônio (Herbalvet®), aguardou-se a defecação espontânea e as amostras ainda frescas foram colhidas e armazenadas em coletores universais esterilizados. Chegando ao laboratório, 1 grama de fezes foi pesada por uma balança de precisão e acondicionadas em tubos estéreis de fundo cônico, conforme apresentado na figura 4. Foi adicionado 9ml de solução salina estéril sob o material que foi homogeneizado num agitador de tubos (diluição 1). Feito isso, distribuiu-se 900µL de solução salina estéril em 4 micro tubos eppendorf estéreis. Foi retirado 100µL da diluição 1 e injetado no 1º micro tubo (diluição 2), após homogeneizado, retirou-se 100µL da diluição 2 e injetou no 2º micro tubo (diluição 3), e seguiu-se os mesmos passos até todos os microtubos estarem com a mesma quantidade definida e conter material até a diluição 5.

Figura 4 - Imagem de fezes pesadas por uma balança de precisão e acondicionadas em tubos estéreis de fundo cônico (seta). UEL, Londrina, PR (2024).



Fonte: Arquivo pessoal.

Coloração de gram

Para a confecção das lâminas, foram utilizadas lâminas de vidro, para microscopia (Precision®), identificadas com número da amostra e sua diluição, totalizando 4 lâminas para cada animal (diluição de 2 a 5). Com a lâmina limpa e seca, foi destilado de maneira estéril com o auxílio de uma micro pipeta, 30µL das diluições

homogeneizadas dos microtubos. Como mencionado por Tripathi (2025), a técnica de coloração de Gram foi introduzida em 1882, e seguindo a mesma, o material foi seco e fixado sobre o calor de uma chama, e posteriormente corado. Deixando as lâminas com a solução de cristal de violeta por 1 minuto, depois limpa com um filete de água corrente, cobriu-se com a solução de lugol por 1 minuto, depois foi passado novamente na água corrente, descoliu-se com álcool-acetona e logo em seguida na água corrente, por fim foi coberta com fucsina por 30 segundos e finalizamos passando água corrente. A técnica citada foi demonstrada na figura 3.

Após a confecção das lâminas, o material secou naturalmente para a visualização no microscópio. No microscópio, utilizou-se o óleo de imersão para otimizar as imagens microscópicas.

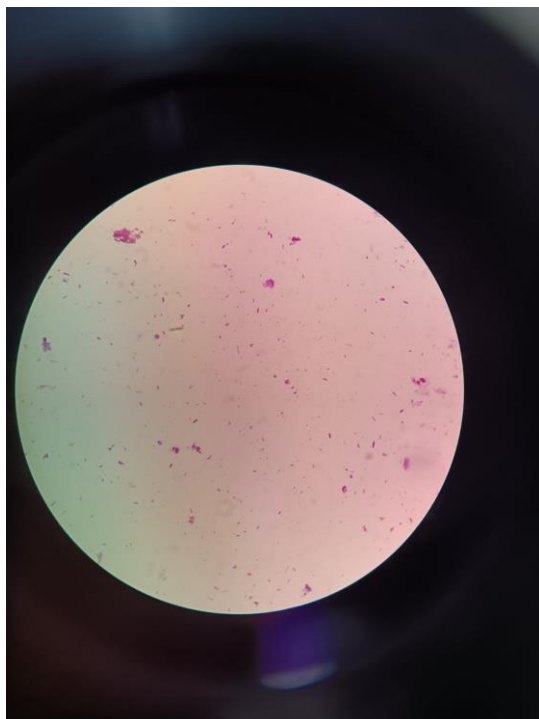
Estimativa bacteriana e análise morfológica

Após a produção das lâminas de material fecal, optou-se por realizar a análise na diluição 2, uma vez que apresentou boa definição morfológica e coloração, como apresentada na figura 5.

Por meio do uso do microscópio, no aumento de 100x, foi realizada a contagem manual dos morfotipos bacterianos e setorizado em sete grupos, sendo eles: cocos Gram-positivo e negativo, bacilos Gram-positivo e negativo, bacilos pleomorficos, bacilos longos e leveduras. A quantidade de cada morfotipo foi registrada manualmente.

Seguindo a técnica de Harrison (2006), foi estimado o número total de bactérias por campo, padronizando uma quantidade de células bacterianas. Em seguida, aleatoriamente, foram selecionados e relatados 5 campos, detalhando o número de Gram positivas e negativas e sua morfologia. Posteriormente, foi calculada a média para estudo estatístico.

Figura 5 - Fotografia de lâmina confeccionada e corada na diluição 2, no aumento de 100x, apresentando grande quantidade de bacilos Gram negativos. UEL- Londrina, PR (2024).

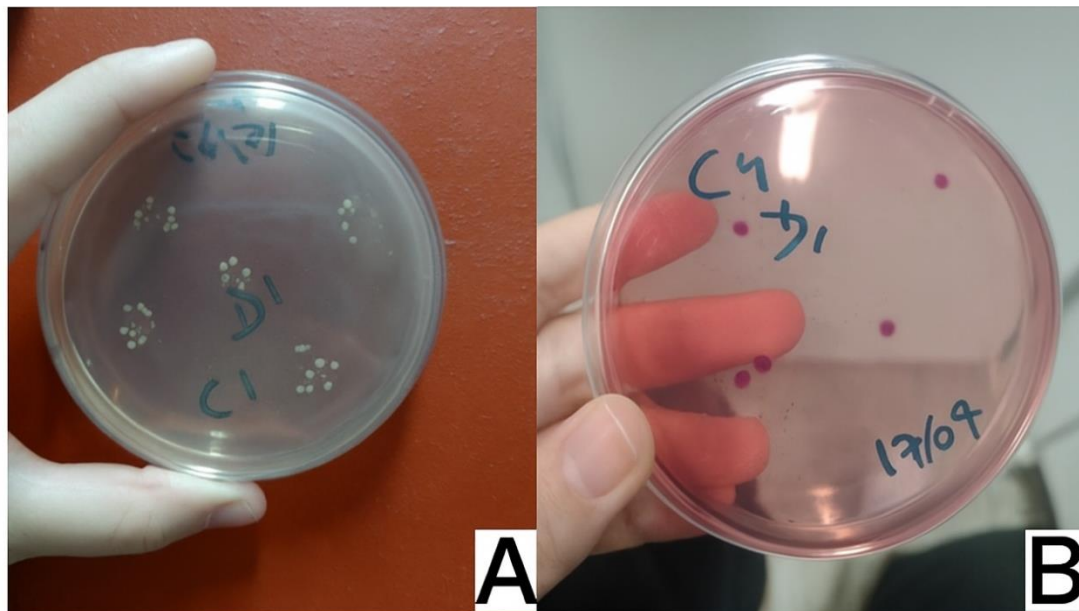


Fonte: Arquivo pessoal.

Contagem de colônias nas placas

Com o uso das mesmas diluições realizadas para a confecção das lâminas, foi realizado a semeadura em duas placas de petri descartáveis contendo meio Ágar Mueller-Hinton (MH) e meio Ágar MacConkey (MC) desde a diluição 1 até a 4, notou-se que houve o crescimento de algumas bactérias, com mais de um tipo de colônia ou nenhuma, como ilustrado na figura 6.

Figura 6 - Fotografia de placas de petri descartáveis já semeadas. Em meio Ágar Mueller-Hinton (MH) (figura A) e na figura B, no meio Ágar MacConkey (MC). UEL-Londrina, PR (2024).



Fonte: Arquivo pessoal.

Colheita de sangue dos animais

Foi realizada a colheita de sangue dos animais, por meio da veia safena lateral ou por meio da veia cefálica. O local escolhido foi limpo com álcool líquido 70° INPM, e foi puncionado com agulha hipodérmica 13x0,45mm e colhido cerca de 1ml de sangue de cada animal com uma seringa de 1ml. O sangue foi distribuído, conforme a figura 7, nos microtubos coletores de tampa roxa, que contém o EDTA (anticoagulante) e o de tampa amarela, que contém o gel separador e ativador de coágulo.

Para os perfis sanguíneos, foram analisados o Eritograma, Leucograma e bioquímicos como alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), albumina, ureia e creatinina.

Figura 7 - Fotografia de microtubos coletores, os de tampa amarela (com gel separador e ativador de coágulo) e os de tampa roxa (com EDTA). UEL- Londrina, PR (2024).



Fonte: Arquivo pessoal.

Comparação de resultados

Comparou-se os resultados da coloração de Gram e os da de semeadura bacteriana, para avaliar a concordância entre a quantidade de achados de bactérias Gram negativas em ambos os exames.

Foi realizado a colheita de sangue e fezes dos mesmos animais para comparar o perfil sanguíneo dos indivíduos com e sem disbiose. Após a colheita, o material foi destinado ao Laboratório de Microbiologia e Análises clínicas da Universidade Estadual de Londrina (UEL).

Análise estatística

Ao analisar a média e desvio padrão do leucograma de 31 animais e os bioquímicos de 30, foi elaborado um boxplot dos valores dos glóbulos brancos e dos bioquímicos, a fim de observar a concentração de valores da mediana, amplitude dos dados e possíveis valores discrepantes (outliers) que podem expressar tanto variação individual, como algum processo patológico.

Para avaliação das possíveis associações entre microbiota fecal, parâmetros laboratoriais e fatores dietéticos, foi realizada uma análise estatística utilizando o software R (v4.3.x), com a aplicação de testes de normalidade, testes não paramétricos (Kruskal-Wallis), correlações (Spearman) e análise de agrupamento

(Cluster).

O teste de Shapiro-Wilk, foi aplicado para todas as 19 variáveis contínuas (Colônia MH, colônia MC, cocos Gram-positivos, cocos Gram-negativos, bacilos Gram-positivos, bacilos Gram-negativos, bacilos negativos longos, bacilos pleomórficos, levedura, leucócitos totais, neutrófilos segmentados, linfócitos, eosinófilos segmentados, monócitos, fosfatase alcalina (FA), alanina aminotransferase (ALT), albumina, ureia, creatinina) com o objetivo de determinar a distribuição dos dados e orientar a escolha dos testes subsequentes.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO DO EXAME DE COLORAÇÃO DE GRAM DAS FEZES

Após a colheita das fezes, pesagem no laboratório e diluição 1 das mesmas, foi realizada a análise na diluição 2 dos esfregaços fecais, contabilizado e setorizado os morfotipos em sete grupos, sendo eles: cocos Gram-positivos, com uma média de 7,55%, cocos Gram-negativos, com uma média de 9,06%, bacilos Gram-positivo com a média de 1,30%, bacilos Gram-negativos com 82,11%, bacilos pleomorfos com 1,28%, bacilos longos com 5,87% e leveduras com uma média de 0,35%.

As médias, desvio padrão e porcentagem relativa da bacterioscopia com coloração de Gram de fezes diarreicas ou não, estão detalhados na tabela 3 e 4.

Tabela 3 – Média (frequência absoluta), frequência relativa e desvio padrão da bacterioscopia com coloração de Gram, de 28 amostras de coelhos sem fezes diarreicas. UEL- Londrina- PR (2025).

Categoria	Média (frequência absoluta)	Frequência relativa	Desvio padrão ($\pm$)
Bacilos Gram negativos	475,82	81,85%	$\pm 275,35$
Cocos Gram negativos	9,78	10,01%	$\pm 26,00$
Cocos Gram positivos	40,53	7,43%	$\pm 37,67$
Bacilos longos	36,28	5,93%	$\pm 29,48$
Bacilos Gram positivos	6,07	1,37%	$\pm 15,20$
Bactérias pleomórficas	6,75	1,37%	$\pm 7,85$
Leveduras	1,32	0,38%	$\pm 1,81$

Tabela 4 – Média (frequência absoluta), frequência relativa e desvio padrão da bacterioscopia com coloração de Gram, de 3 amostras de coelhos com fezes diarreicas UEL- Londrina- PR (2025).

Categoria	Média (frequência absoluta)	Frequência relativa	Desvio padrão ($\pm$)
Bacilos Gram negativos	683,33	84,41%	$\pm 175,48$
Cocos Gram negativos	1,67	0,21%	$\pm 0,94$
Cocos Gram positivos	74	8,86%	$\pm 62,57$
Bacilos longos	37	5,38%	$\pm 16,75$
Bacilos Gram positivos	6,33	0,72%	$\pm 3,68$
Bactérias pleomórficas	4	0,53%	$\pm 0,82$
Leveduras	0,33	0,06%	$\pm 0,47$

Ao comparar a porcentagem relativa dos morfotipos bacterianos entre os coelhos com fezes normais e diarreicas, observa-se que os bacilos Gram-negativos permaneceram predominantes em ambos os grupos, com aumento discreto nos animais diarreicos. Contudo, a proporção de cocos Gram-positivos, cocos Gram-negativos, bacilos Gram-positivos e leveduras diminuiu, sugerindo uma possível perda de diversidade bacteriana em animais com distúrbios entéricos, indicando um desequilíbrio da microbiota intestinal.

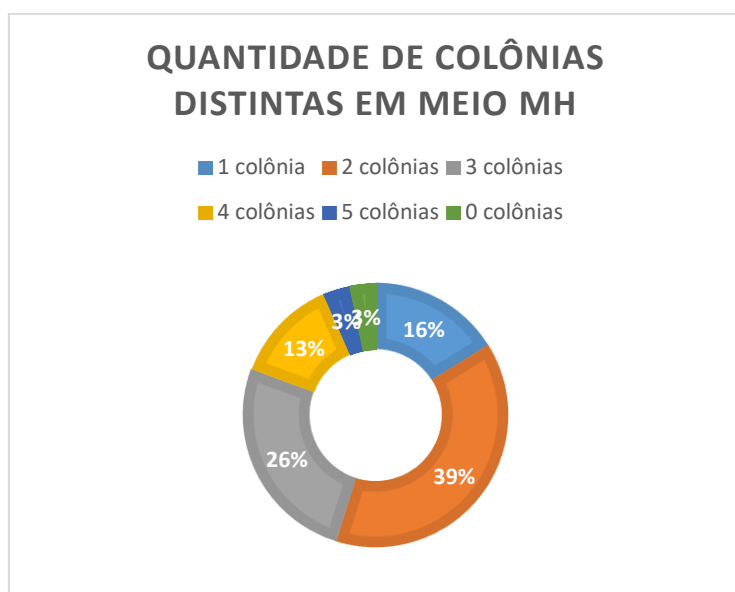
Apesar do predomínio morfológico de bacilos Gram-negativos neste trabalho, os estudos realizados por Galilea (2018) e Cotozzolo (2021), o filo mais encontrado nas fezes de coelhos foram os do filo *Firmicutes*, que possuem em sua grande maioria a parede celular Gram positiva. Porém, Vesth (2013) afirma que o gênero *Veillonella*, da classe dos *Negativicutes*, possuem coloração negativa, são anaeróbios estritos e é um dos organismos mais abundantes da microflora oral e intestinal de animais, e de humanos. Sendo assim, a grande quantidade de bacilos Gram-negativos neste estudo pode estar relacionada ao gênero *Veillonella*, representando em termos morfológico, um falso bacilo Gram-negativo.

5.2 AVALIAÇÃO DA CONTAGEM BACTERIANA NAS PLACAS

A análise microbiológica por cultivo em meios sólidos, demonstrou diferenças quanto ao crescimento bacteriano entre os meios utilizados.

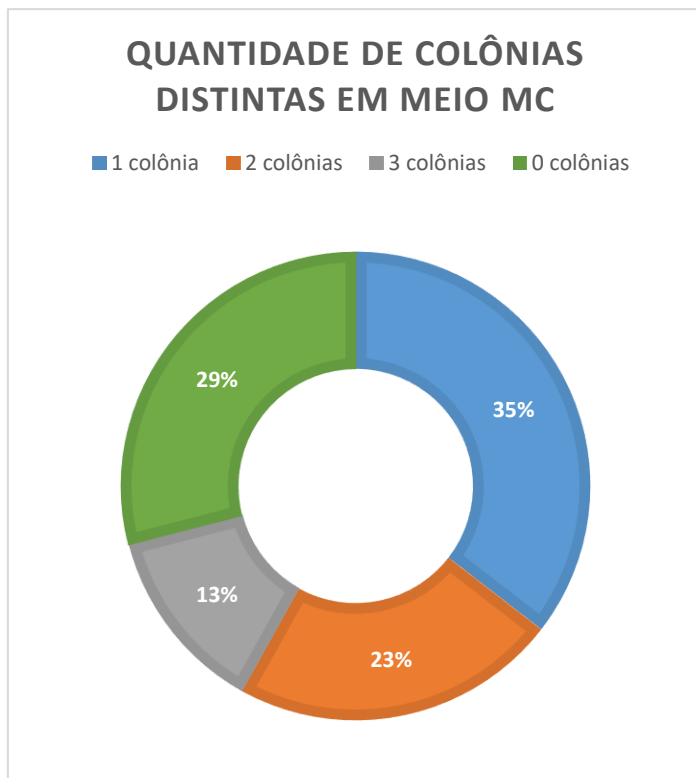
Das 31 amostras avaliadas, observou-se crescimento bacteriano em 30 placas de MH (96,77%), detalhadas no gráfico 1, e 20 placas de MC (64,52%), detalhados no gráfico 2. Notando de 1 a 5 colônias distintas por amostra em MH e 1 a 3 por amostra em MC. A média de colônias distintas foi de 2,39 e de 1,19, respectivamente.

Gráfico 1 - Número de colônias distintas encontrado nos meios de cultura Mueller Hinton a partir das fezes de coelhos. UEL- Londrina- PR (2025).



Fonte: arquivo pessoal.

Gráfico 2 - Número de colônias distintas encontrado nos meios de cultura MacConkey a partir das fezes de coelhos. UEL- Londrina- PR (2025).



Fonte: arquivo pessoal.

Analizou-se que, no meio MH, 12 placas cresceram 2 colônias distintas, representando 39% da totalidade das placas. E o meio MC, 11 placas tiveram crescimento de uma só colônia, representando 35% da totalidade.

A diferença, pode ser justificada pelos meios utilizados, o MH não é um meio seletivo, podendo ter o crescimento tanto de bactérias Gram-positivas como Gram-negativas (Nunes, 2015), já o meio de MC, é descrito por Quinn (2007) por ser um meio seletivo de crescimento de enterobactérias e outras bactérias Gram-negativas, e sua menor crescência comparado ao MH, condizendo com os trabalhos produzidos por Galilea (2018) e Cotozzolo (2021) que afirmaram que o reino *Firmicutes* tenha uma parede celular Gram-positiva.

De acordo com a predominância dos coelhos possuírem a microbiota intestinal composta por bactérias do reino *Firmicutes*, a menor quantidade de colônias encontradas em meio MacConkey, pode ser o reflexo da composição da parede celular deste microorganismo (Galilea, 2018; Cotozzolo, 2021).

A presença de até cinco colônias por placa, sem alterações significativas das fezes diarreicas, demonstra a diversidade microbiana fecal, mesmo em animais sem

sinais clínicos e aparentemente saudáveis.

5.3 AVALIAÇÃO DOS PERFIS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS

Para avaliar o estado clínico geral dos animais, foi realizado exame hematológico (eritrograma e leucograma) em todos os coelhos e o bioquímico em 30 dos 31 animais, pois não houve quantidade suficiente de amostra de todos indivíduos. Os dados do leucograma, estão apresentados na tabela 5 e os dos bioquímicos, na tabela 6.

Dentre os resultados hematológicos, a neutropenia foi observada em 18 dos 31 animais (58,06%), podendo ser relacionado com uma imunossupressão por infecção bacteriana, inflamações e doenças autoimunes (Lopes, 2007; Silva, 2017). Em relação à monocitopenia vinculada a 22 coelhos (70,97%) não existe valor clínico importante, podendo, de acordo com Silva (2017), chegar até o valor de 0 e não haver significância clínica nos animais.

A Leucopenia (29,03%) e a linfopenia (3,22%) sugerem uma imunossupressão, podendo ter relação ou não com infecções virais, administração de corticosteroides, drogas imunossupressoras, processos infecciosos grave ou até mesmo devido aos corticosteróides endógenos e exógenos, levando ao leucograma de estresse (Silva, 2017).

A eosinofilia (3,22%), é descrita por Sant'ana (2023) como uma resposta inespecífica, podendo ser de origem parasitária, hipersensibilidade, inflamação de superfícies epiteliais ricas em mastócitos (por exemplo, trato gastrintestinal, pele, pulmão, útero), ou seja, sugestivo também de gastrenterites.

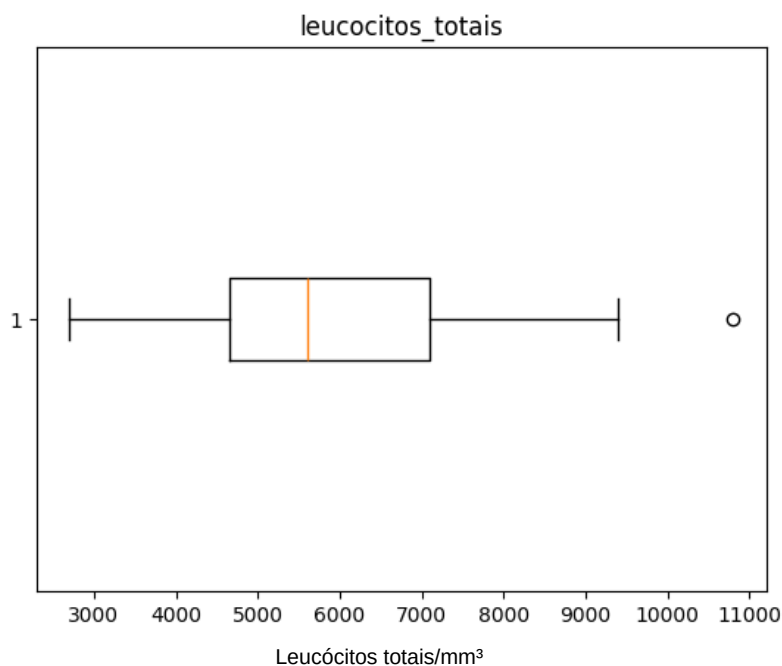
Tabela 5 - Média e desvio padrão obtidos no leucograma de 31 coelhos de estimação. UEL- Londrina- PR (2025).

Parâmetros (n=31)	Média	Desvio padrão amostral ($\pm$)	Valor de referência (Carpenter, 2023)
Leucócitos totais	6.020,96	$\pm 1.800,36$	5.000 a 12.000 / mm ³
Neutrófilos	2.070,32	$\pm 1.475,43$	1.750 a 6.600 / mm ³
segmentados			1.250 a 7.200 / mm ³
Linfócitos	3.712,90	$\pm 1.545,09$	
Eosinófilos	197,46	$\pm 197,59$	0 a 6.000 / mm ³
segmentados			100 a 1.200 / mm ³
Monócitos	61,24	$\pm 82,21$	

Com base nos dados do leucograma dos 31 animais, a representação gráfica por meio de boxplots (Gráficos 3 a 7) permite visualizar a distribuição dos glóbulos brancos, evidenciando a posição da mediana, a amplitude entre os valores (quartis) e a presença de possíveis outliers, que podem refletir tanto variações individuais quanto alterações compatíveis com processos patológicos.

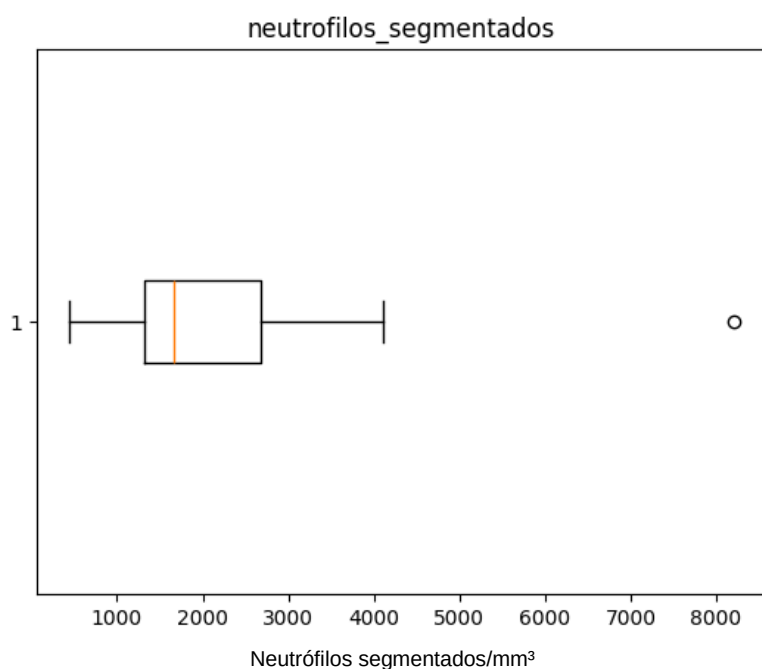
A partir do gráfico 3, houve somente um *outlier*, no valor de 10800 leucócitos totais. Os demais animais, estiveram com os valores entre o primeiro quartil (4650) e o terceiro quartil (7100).

Gráfico 3 - Boxplot dos valores de leucócitos totais (/mm³) de coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).



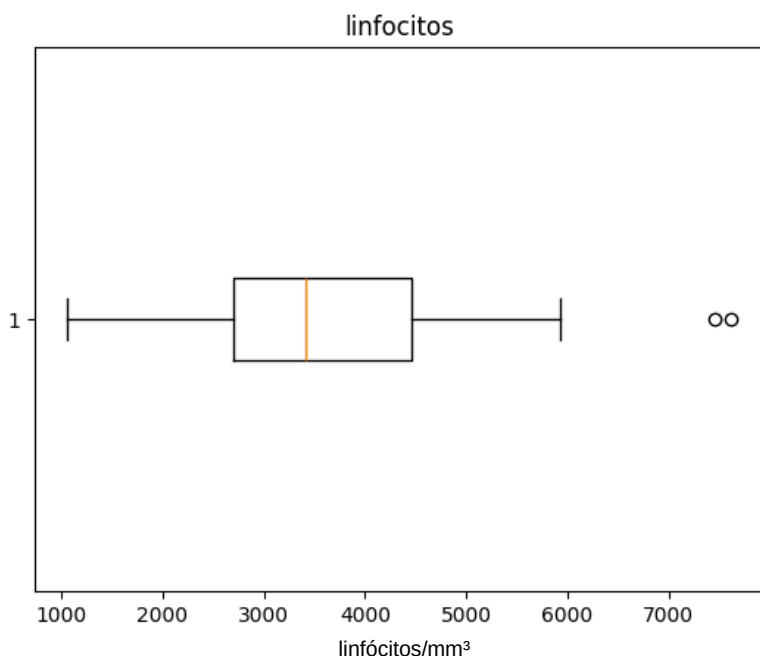
O gráfico 4, mostra somente um outlier, no valor de 8208 neutrófilos segmentados. Enquanto o primeiro quartil possui um valor de 1313.50 e o terceiro quartil 2677.5.

Gráfico 4 - Boxplot dos valores de neutrófilos segmentados (/mm³) de coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).



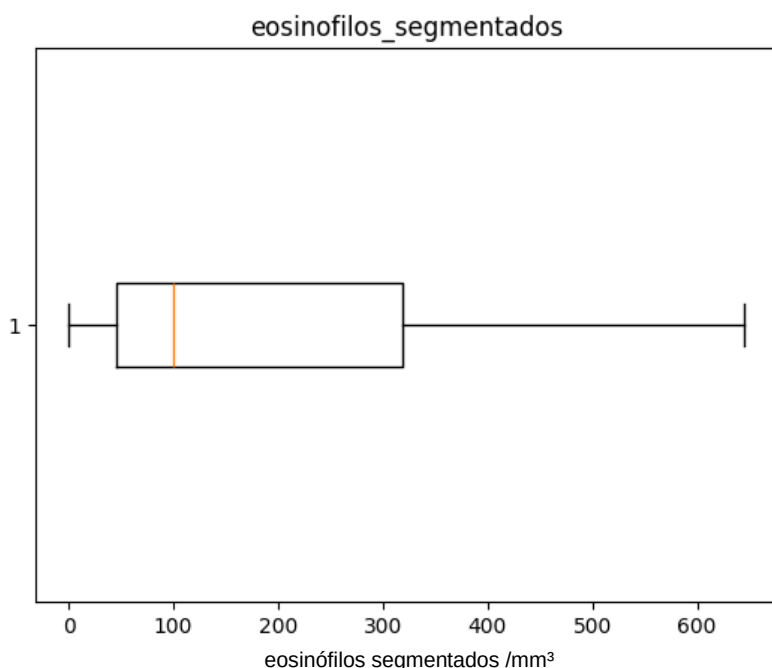
O gráfico 5, mostra dois outliers, nos valores de 7452 e 7614 linfócitos. O primeiro quartil possui um valor de 2703.50 e o terceiro quartil 4458.

Gráfico 5 - Boxplot dos valores de linfócitos (/mm³) de coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).



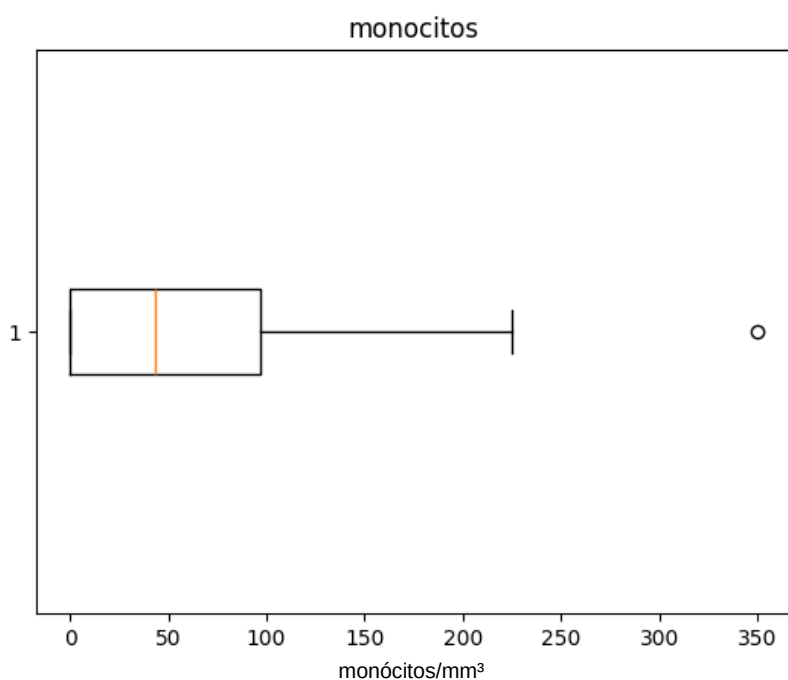
O gráfico 6 não possui outlier. O primeiro quartil possui um valor de 45 e o terceiro quartil 319.

Gráfico 6 - Boxplot dos valores de eosinófilos segmentados (/mm³) de coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).



O gráfico 7, mostra um outlier no valor de 350 monócitos. O primeiro quartil possui um valor de 0 e o terceiro quartil 97.

Gráfico 7 - Boxplot dos valores de monócitos (/mm³) de coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).



Dentre os achados bioquímicos, apresentados na tabela 6, se destaca a hiperalbuminemia em 29 dos 30 coelhos (96,66%), sugerido, por Thrall (2015), desidratação leve a moderada (pelo estresse ou ingestão hídrica irregular). Elevação da fosfatase alcalina (FA) em 12 de 30 animais (40%) e da alanina aminotransferase (ALT) em 10 de 30 indivíduos (33,33%), podendo estar relacionada a problemas hepáticos, resposta a alteração metabólica ou até mesmo o fator da idade em animais jovens (Thrall, 2015). De acordo com Sant'ana (2023), a elevação da ALT, também pode ser encontrado em animais assintomáticos e hígidos.

A hiperuremia identificada em 5 coelhos (16,67%), pode ocorrer devido a diversos fatores, entre eles a dieta, estado nutricional, função hepática, atividade urease da microbiota fecal e até estado de hidratação do animal (Melilo, 2007). O aumento da creatinina encontrada em dois indivíduos (6,66%), pode indicar desidratação ou acometimento renal, por isso, é sempre importante estar correlacionando com outros parâmetros bioquímicos e demais exames complementares (Sant'ana, 2023).

O aumento dos níveis de albumina, ureia e creatinina, observada em alguns indivíduos, podem estar relacionadas não apenas a processos fisiopatológicos, mas também a fatores externos ao exame. Parte dos animais eram jovens e, encontravam-se em ambiente distinto de sua rotina, em dias de temperatura elevada. Favorecendo o estresse e uma leve desidratação no tempo de espera até a colheita.

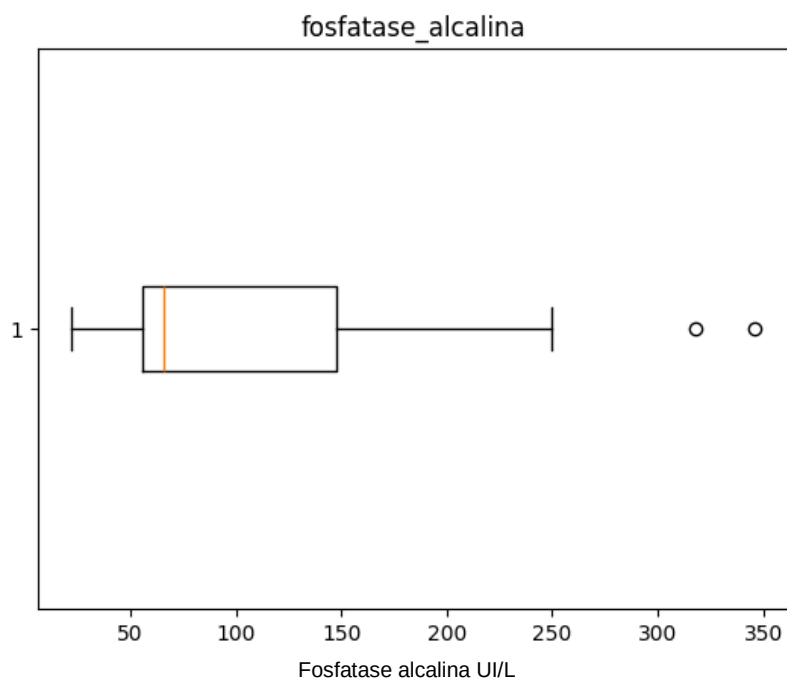
Tabela 6 - Média e desvio padrão dos bioquímicos de coelhos de estimação. UEL-Londrina- PR (2025).

Parâmetros (n=30)	Média	Desvio padrão amostral ($\pm$)	Valor de referência (Carpenter, 2023)
Fosfatase Alcalina (FA)	108,8	$\pm 87,5$	4,0 a 70,0 UI/L
Alanina aminotransferase (ALT)	72,97	$\pm 38,37$	14 a 80 UI/L
Albumina	4,97	$\pm 0,79$	2,3 a 3,0 g/dl
Ureia	41,57	$\pm 10,50$	15 a 50 g/dl
Creatinina	1,13	$\pm 0,82$	0,5 a 2,6 g/dl

Os boxplots referentes aos parâmetros bioquímicos dos 30 coelhos avaliados (Gráficos 8 a 12) demonstraram a distribuição dos dados em torno da mediana, destacando a amplitude dos valores observados (quartis) e a presença de possíveis outliers. Essas variações podem refletir tanto características individuais dos animais quanto alterações fisiológicas ou patológicas.

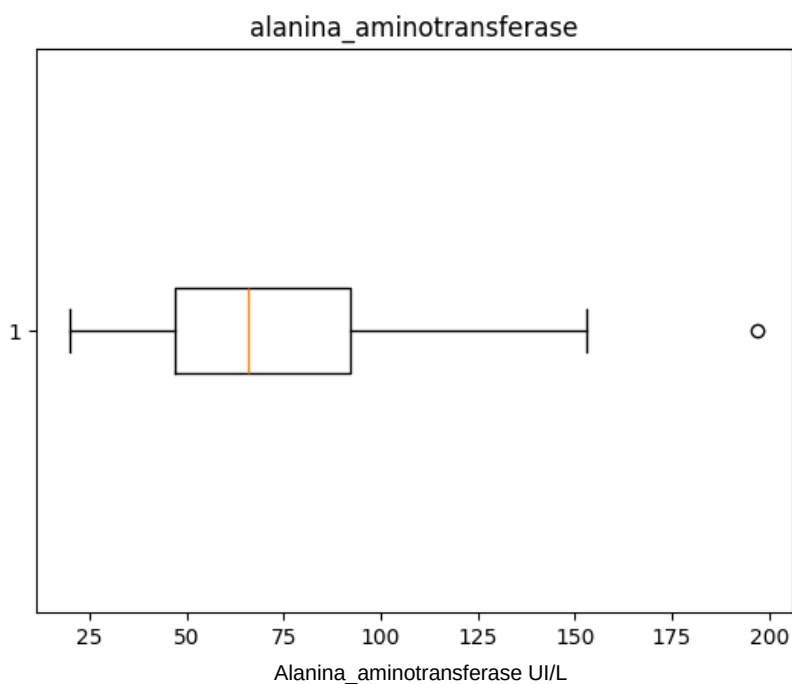
Com dois outliers nos valores de 318 e 346, o gráfico 8 possui o primeiro quartil no valor de 56 e o terceiro quartil 147.5.

Gráfico 8 - Boxplot dos valores de fosfatase alcalina (FA) (UI/L) de coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).



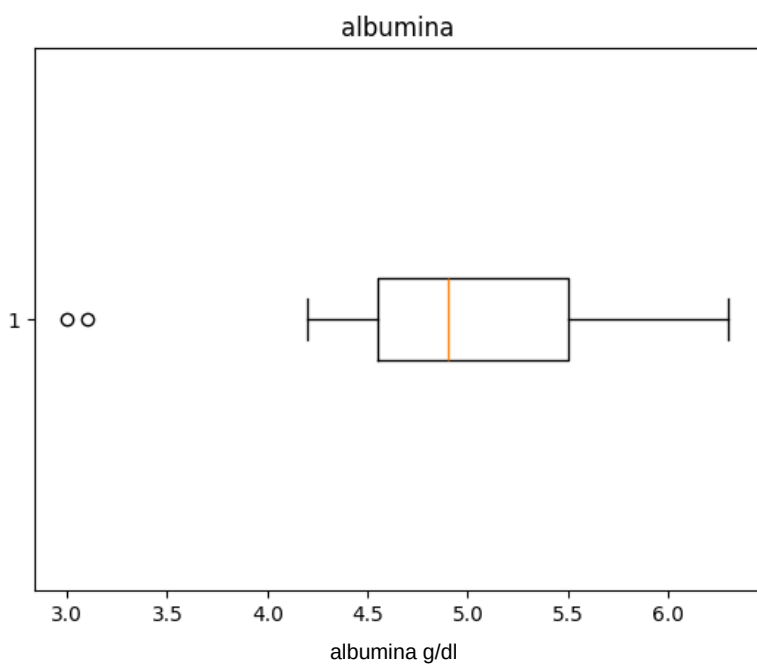
O outlier no valor de 197, o gráfico 9 possui o primeiro quartil no valor de 47 e o terceiro quartil 92.

Gráfico 9 - Boxplot dos valores de alanina aminotransferase (ALT) (UI/L) de coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).



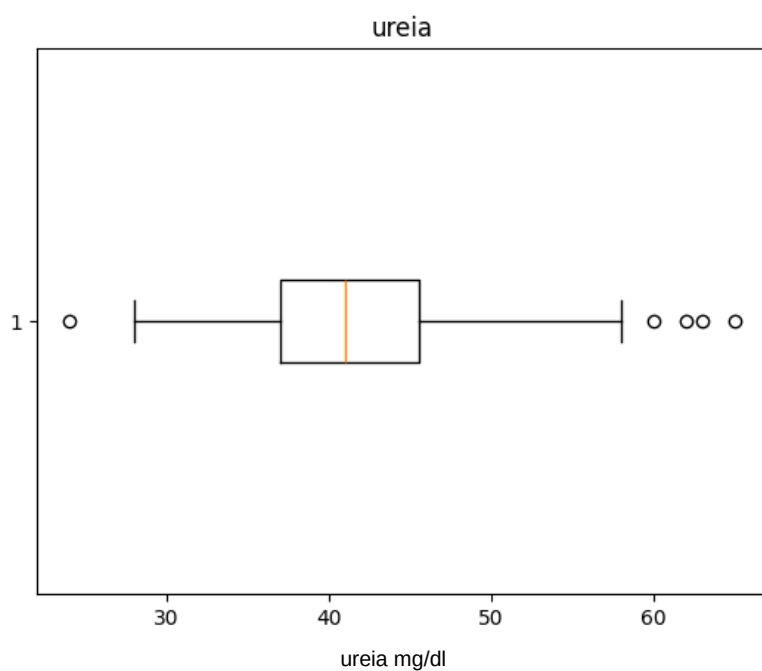
No gráfico 10, o dois outliers nos valores de 3.1 e 3 ficam abaixo do primeiro quartil de valor 4.55, enquanto o terceiro quartil é 5.5.

Gráfico 10 - Boxplot dos valores de albumina (g/dl) de coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).



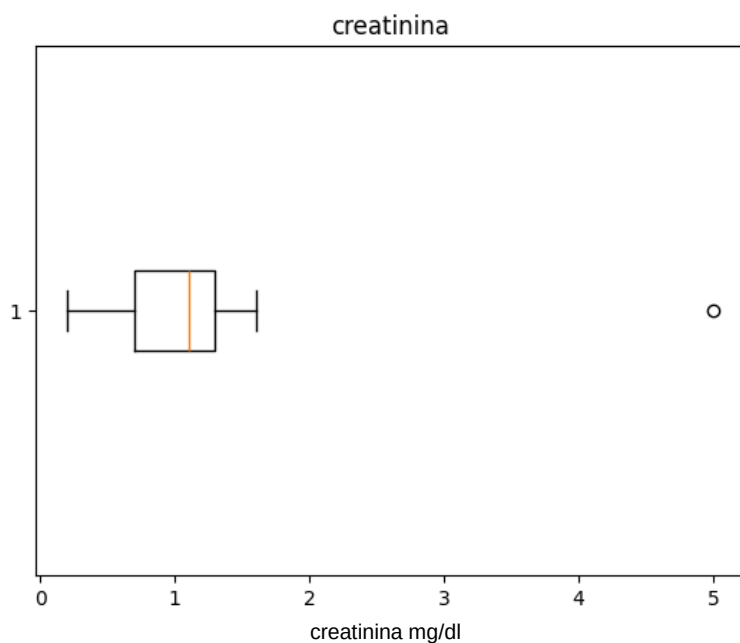
No gráfico 11, há cinco outliers nos valores 24, 60, 62, 63 e 65. O primeiro, fica abaixo do primeiro quartil de valor 37, enquanto os demais ficam além do terceiro quartil de 45.5.

Gráfico 11 - Boxplot dos valores de ureia (mg/dl) de coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).



No gráfico 12, há um outlier no valor de 5. Com o primeiro quartil no valor 0,70 e o terceiro quartil de 1.3.

Gráfico 12 - Boxplot dos valores de creatitina (mg/dl) de coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) assintomáticos. UEL- Londrina- PR (2025).



5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados pelo teste de normalidade de Shapiro – Wilk, cujo qual, observa-se, na tabela 7, que apenas 21,1% das variáveis (4/19) apresentaram distribuição normal, indicando a necessidade de testes não-paramétricos para as próximas análises.

Para realizar a comparação entre grupos de alimentação, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis para comparar com contagens microbianas (tabela 8) e variáveis de leucograma e bioquímicos (tabela 9).

Tabela 7- Resultados do Teste de Shapiro - Wilk. UEL- Londrina- PR (2025).

Variável	Estatística W	p-valor	Distribuição Normal
Bacilos Gram-negativos	0,947	0,131	Sim
Leucocitos totais	0,962	0,335	Sim
Linfocitos	0,943	0,099	Sim
Albumina	0,948	0,149	Sim
Colonia MH	0,932	0,049	Não
Colonia MC	0,864	0,001	Não
Cocos Gram-positivos	0,763	<0,001	Não
Cocos Gram-negativos	0,322	<0,001	Não
Bacilos Gram-positivos	0,458	<0,001	Não
Bacilos longos	0,908	0,011	Não
Bacilos pleomórficos	0,699	<0,001	Não
Levedura	0,722	<0,001	Não
Neutrofilos segmentados	0,764	<0,001	Não
Eosinofilos segmentados	0,854	<0,001	Não
Monócitos	0,739	<0,001	Não
Fosfatase alcalina	0,807	<0,001	Não
Alanine aminotransferase	0,902	0,009	Não
Ureia	0,920	0,027	Não
Creatinine	0,621	<0,001	Não

Na tabela 8, houve significância entre a alimentação do animal, para os Cocos Gram-negativos e para os Bacilos pleomórficos. Além disso, nota-se que o p-valor da levedura é de 1,000, não se tornando significativo o tipo de alimento e sua correlação com a levedura encontrada nas fezes.

Tabela 8 - Teste de Kruskal-Wallis para comparação entre alimentação e contagens bacterianas. UEL- Londrina- PR (2025).

Variável	Qui-quadrado	p-valor	Significância
Cocos Gram-negativos	5,65	0,017	Sim*
Bacilos pleomorficos	4,13	0,042	Sim*
Colônia MC	3,47	0,063	Não
Colônia MH	1,50	0,220	Não
Bacilos longos	1,05	0,306	Não
Bacilos Gram- positivos	0,37	0,542	Não
Bacilos Gram-negativos	0,19	0,660	Não
Cocos Gram-positivos	0,01	0,931	Não
Leveduras	0,00	1,000	Não

*p < 0,05

Na tabela 9, não houve nenhuma significância entre a alimentação do animal e as variáveis do leucograma e bioquímicos.

Tabela 9 - Teste de Kruskal-Wallis para comparação entre alimentação e variáveis do leucograma e bioquímicos. UEL- Londrina- PR (2025).

Variável	Qui-quadrado	p-valor	Significância
Albumina	2,18	0,140	Não
Monocitos	2,11	0,146	Não
creatinina	1,80	0,180	Não
Leucocitos totais	1,88	0,170	Não
Linfocitos	1,28	0,258	Não
Alanine aminotransferase	1,04	0,308	Não
Ureia	0,32	0,571	Não
Fosfatase alcalina	0,27	0,603	Não
Eosinofilos segmentados	0,05	0,827	Não
Neutrofilos segmentados	0,00	0,965	Não

Como o teste de Kruskal-Wallis (Tabela 8) indicou nenhuma relação entre o tipo de alimentação e a presença de leveduras nas fezes ($p = 1,000$), procedeu-se à aplicação do teste de correlação de Spearman para investigar possíveis relações entre as leveduras e as variáveis bioquímicas (Tabela 10) e hematológicas (Tabela 11).

Tabela 10 - Teste de correlação de Spearman para comparação entre leveduras e variáveis bioquímicas. UEL- Londrina- PR (2025).

Variável	Coeficiente ρ	p-valor	Significância
Ureia	-0,633	<0,001	Sim***
Albumina	-0,237	0,207	Não
Alanine aminotransferase	-0,225	0,231	Não
Fosfatase alcalina	0,163	0,391	Não
Creatinine	0,054	0,775	Não

*** $p < 0,001$

Tabela 11 - Teste de correlação de Spearman para comparação entre leveduras e variáveis de leucograma. UEL- Londrina- PR (2025).

Variável	Coeficiente ρ	p-valor	Significância
Linfocitos	0,349	0,054	Tendência
Neutrofilos segmentados	-0,331	0,069	Tendência
Eosinofilos segmentados	-0,267	0,147	Não
Leucocitos totais	0,035	0,853	Não
Monocitos	-0,009	0,962	Não

Além disso, foi realizado a análise de correlação de Spearman entre leveduras e quantidade de bacilos Gram-negativos. Demonstrando uma correlação negativa fraca ($p = -0,229$) e sem significância estatística ($p = 0,215$). Indicando que mesmo que haja uma tendencia na diminuição da quantidade de bacilos Gram-negativos nas amostras com maior presença de leveduras, a relação não pôde ser confirmada estatisticamente.

A análise de cluster é uma técnica estatística utilizada para agrupar indivíduos com características semelhantes, de forma que os animais de um mesmo grupo apresentem maior homogeneidade entre si, buscando padrões ocultos nos dados. No presente estudo, a clusterização foi aplicada para verificar se havia agrupamentos naturais entre os coelhos com base em variáveis microbiológicas, hematológicas, bioquímicas, alimentares e de idade, auxiliando na interpretação dos achados e na compreensão de perfis distintos de saúde ou predisposição a disbiose. Como resultado, foram identificados dois grupos principais: o Cluster 1, com 14 animais (46,7%), e o Cluster 2, com 16 animais (53,3%), cujas diferenças estão apresentadas na Tabela 12.

Tabela 12 - Características dos Clusters identificados e suas interpretações. UEL-Londrina- PR (2025).

Característica	Cluster 1	Cluster 2	Interpretação
Tamanho (n)	14	16	-
Leveduras (média)	1,71	0,88	Cluster 1: ↑ leveduras
Gram-negativos (média)	614	408	Cluster 1: ↑ gram-negativos
Leucócitos totais (média)	7.071	4.803	Cluster 1: ↑ leucócitos
Ureia (média)	35,6	46,8	Cluster 1: ↓ ureia
Albumina (média)	4,64	5,27	Cluster 1: ↓ albumina
% com feno	85,7%	56,2%	Cluster 1: ↑ dependência de feno
% filhotes	57,1%	37,5%	Cluster 1: ↑ filhotes

O perfil do grupo de Cluster 1, possui maior contagem de leveduras e Gram-negativos, mais leucócitos, redução de ureia e albumina, maior proporção de filhotes e dependência de alimentação com feno.

6 CONCLUSÃO

A bacterioscopia fecal com coloração de Gram, quando utilizada isoladamente, não demonstrou utilidade clínica confiável como método de diagnóstico de disbiose em coelhos domésticos.

Quando associada a análise hematológica, a bacterioscopia revelou-se promissora. A correlação do achado de ambos os exames, pode fornecer indícios de quadro de disbiose, permitindo uma interpretação mais abrangente do quadro clínico.

Reforça-se a necessidade de trabalhos futuros com maior sintomatologia variável, principalmente de coelhos doentes e sintomáticos, a fim de estabelecer parâmetros de referência e investigar possíveis padrões associados a distúrbios da microbiota intestinal em diferentes condições clínicas.

7 BIBLIOGRAFIA

BARR, B. S.; WALDRIDGE, B.M., MORRESEY, P.R., REED, S.M., CLARK, C., BELGRAVE, R., DONECKER, J.M.; WEIGEL, D.J. Antimicrobial-associated diarrhoea in three equine referral practices. **Equine Veterinary Journal**, v. 45, n. 2, p. 154–158, mar. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2012.00595.x>>. Acesso em: 20 jul. 2025.

BOYANOVA, L. Direct Gram staining and its various benefits in the diagnosis of bacterial infections. **Postgrad Med**, v. 130, n. 1, p. 105-110, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/00325481.2018.1398049>>. Acesso em: 15 de jun de 2023.

CARPENTER, J. W.; HARMS, C. A. **Exotic Animal Formulary**. 6. ed. St. Louis: Elsevier, 2023. 897 p.

COLLIER, A. Colite em Pequenos Animais. **Manual MSD**, 2025. Disponível em: <<https://www.msddvetmanual.com/digestive-system/diseases-of-the-large-intestine-in-small-animals/colitis-in-small-animals>>. Acesso em: 20 de jun de 2025.

COTOZZOLO, E.; CREMONESI, P.; CURONE, G.; MENCHETTI, L.; RIVA, F.; BISCARINI,; MARONGIU, M. L.; CASTRICA, M.; CASTIGLIONI, B.; MIRAGLIA, D.; LURIDIANA, S.; BRECCIA, G. Characterization of Bacterial Microbiota Composition along the Gastrointestinal Tract in Rabbits. **Animals**, v. 11, p. 31, 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-2615/11/1/31>>. Acesso em: 15 jun 2023.

COSTA, R.; ESTEVES, W.; NOGUEIRA, J. M. Principais métodos clássicos de coloração em bacteriologia: aplicações, técnicas, fundamentos e limitações. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 56, p. 183–196, 2024. DOI: 10.21877/2448-3877.202400198.pt.

DA SILVA, V. L. G. **Estase gastrointestinal no coelho**. 2012. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade de Lisboa, Lisboa, 2012.

ESHAR, D.; WEESE, J. S. Molecular analysis of the microbiota in hard feces from healthy rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) medicated with long term oral meloxicam. **BMC**

Veterinary Research, v. 10, p. 62, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-62>.

EVANS, Erika E.. Cultures in Hispaniolan Amazon Parrots (*Amazona ventralis*). **Journal Of Avian Medicine And Surgery**. Lawrence, p. 290-296, 2014.

FEDIAF. **Nutritional guidelines for feeding pet rabbits**. Europa: FEDIAF, 2024.

FERREIRA, W. M.; SAAD, F. M. O. B.; PEREIRA, R. Apocalypse Nogueira. Fundamentos da nutrição de coelhos. In: 3rd American Rabbit Congress, 2006, Maringá. **Anais do III Congresso de Cunicultura das Américas**. Maringá-PR: American Branch of the World Rabbit Science Association, 2006. v. único. p. 01-75. Disponível em: <https://www.coelhoecia.com.br/Zootecnia/Fundamentos%20de%20Nutricao%20de%20Coelhos.pdf>. Acesso em: 04 novembro 2024.

FONTAINE, C. A.; SKORUPSKI, A. M.; VOWLES, C. J.; ANDERSON, N. E.; POE, S. A.; EATON, K. A. How free of germs is germ-free? Detection of bacterial contamination in a germ-free mouse unit. **Gut Microbes**, v. 6, n. 4, p. 225-233, 2015.

GALILEA, M. V. Rabbit Microbiota Changes Throughout the Intestinal Tract. **Frontiers in Microbiology**, Basel, v. 9, p. 2144, 2018. doi: 10.3389/fmicb.2018.02144.

GOUVEIA, A. B. Alimentos alternativos na nutrição de coelhos: Revisão. **Pubvet**, [S. l.], v. 13, n. 12, 2019. DOI: 10.31533/pubvet.v13n12a471.1-10. Disponível em: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/710>. Acesso em: 04 nov. 2024.

HEKER, M. M. Opinião: A cunicultura Pet no Brasil. **Revista Brasileira de Cunicultura**, v. 7, p. 1, 2015.

HERINGER, P. N. A INFLUÊNCIA DA NUTRIÇÃO NA COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL E SUAS REPERCUSSÕES NA SAÚDE. **Revista Ibero-**

Americana de Humanidades, Ciências e Educação, [S. l.], v. 9, n. 9, p. 158–171, 2023. DOI: 10.51891/rease.v9i9.11158. Disponível em: <<https://periodicorease.pro.br/rease/article/view/11158>>. Acesso em: 9 nov. 2024.

HILL, S. P. Measuring zoo animal welfare: theory and practice. **Zoo Biology: Published in affiliation with the American Zoo and Aquarium Association**, v. 28, n. 6, p. 531-544. 2009.

JENKINS, J. R. Gastrointestinal Diseases. **Ferrets, Rabbits, and Rodents**. 2004, p. 161-171. DOI: 10.1016/B0-72-169377-6/50018-6.

KANO, Y. Campylobacter enterocolitis: the importance of macroscopic and microscopic examination of stool. **BMJ Case Reports**. 2021. DOI: 10.1136/bcr-2021-246552. Acesso em 05 junho 2025.

LEBAS, F., COUDERT, P., ROCHAMBEAU, H. (1997) Reproduction. In: **The Rabbit: Husbandry, Health and Production, New Revised Version**, FAO, Roma, Chap. 2, p31.

LOPES, S. T. A; BIONDO, A. W.; SANTOS, A. P. **Manual de patologia clínica veterinária**. 3. ed. Santa Maria: UFSM/Departamento de Clínica de Pequenos Animais, 2007. 107 p.

MACHADO, L. C. **Manual de criação de coelhos de companhia nos lares: buscando a otimização do nível de bem-estar**, 2022a. Disponível em: <<https://acbc.org.br/site/index.php/material-disponivel/manual-de-coelhos-pet>> .Acesso em: 21 maio 2025.

MARKS, S. Diagnosis of Infectious Diarrhea in Dogs and Cats: A Critical Appraisal, 2001. Disponível em: <<https://www.vin.com/apputil/project/defaultadv1.aspx?pid=8708&catid=&id=3843771&meta=&authorid=>> . Acesso em: 08 nov 2024.

MELILLO, A. Patologia clínica do coelho. **Journal of Exotic Pet Medicine**, [S.l.], v.

16, n. 3, p. 135–145, set. 2007. DOI: 10.1053/j.jepm.2007.06.002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1053/j.jepm.2007.06.002>>. Acesso em: 7 maio 2025.

MELO, LUIZA. (comp.). **Brasil tem terceira maior população pet do mundo; veja os projetos do Senado sobre o assunto**. Agência Senado. Disponível em: <<https://www12.senado.leg.br/noticias/infomaterias/2024/12/brasil-tem-terceira-maior-populacao-pet-do-mundo-veja-os-projetos-do-senado-sobre-o-assunto>>. Acesso em: 10 jul. 2025.

MITCHELL, M. **Clinical Pathology for Exotic Small Mammals**. Lafeber Company, 2010. Disponível em: <<https://lafeber.com/vet/clinical-pathology-for-exotic-small-mammals/>> . Acesso em: 11 nov 2024.

MONTEIRO, L. F.; GOMES, M. O. S. Percepção dos proprietários quanto ao manejo alimentar e alimentos oferecidos à coelhos de estimação no Brasil. 2023, Anais.. São Paulo: USP, 2023. Disponível em: <<https://uspdigital.usp.br/siicusp/siicPublicacao.jsp?codmnu=7210>>. Acesso em: 30 out. 2024.

MOREIRA, J. L. B.; CARVALHO, C. B. M.; FROTA, C. C. Visualização bacteriana e colorações. E-book. **Fortaleza: Imprensa Universitária**, 2015. 68 p. Disponível em: <<http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/16672>>. Acesso em: 20 abril 2023.

OGLESBEE, B. L.; LORD. B. Gastrointestinal Diseases of Rabbits. **Ferrets, Rabbits, and Rodents**. 2020:174–87. doi: 10.1016/B978-0-323-48435-0.00014-9. Epub 2020 May 29. PMCID: PMC7258705.

OLIVEIRA, R. V. **Aspectos fisiológicos e nutricionais da alimentação de coelhos: uma revisão**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia) – Instituto Federal Goiano - Campus Ceres, Goiânia, 2021.

PANTOJA, C. L. Diagnóstico e tratamento da disbiose: Revisão Sistemática. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n.32, p. e1368, 7 out. 2019.

PAULA, E. Digestibilidade e contribuição da cecotrofia de coelhos alimentados com ou sem óleo vegetal na dieta. **Pubvet**, [S. l.], v. 11, n. 03, 2017. DOI: 10.22256/PUBVET.V11N3.298-305. Disponível em: <<https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/1362>>. Acesso em: 04 nov. 2024.

PESSOA, C. A. Lagomorpha (Coelho, Lebre e Tapiti). In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L.: **Tratado de Animais Selvagens-Medicina Veterinária**. 2.ed. São Paulo, SP: Roca, 2014. v.1 p.1209.

POPOV, A. **The Importance of Complete Blood Count in Detecting Blood Disorders**. Darwyn Health, 2024. Disponível em: <<https://www.darwynhealth.com/blood-disorders/diagnosis-of-blood-disorders/laboratory-tests-for-blood-disorders/complete-blood-count-for-diagnosing-blood-disorders/the-importance-of-complete-blood-count-in-detecting-blood-disorders/?lang=en>>. Acesso em: 11 nov 2024.

QUINN, P. J. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2007. Cap. 5, p. 38.

RODRIGUES, K. S. Hipercrecimento dentário e má oclusão em coelho doméstico (*Oryctolagus cuniculus*): Revisão. **Pubvet**, [S. l.], v. 16, n. 09, 2022. DOI: 10.31533/pubvet.v16n09a1208.1-5. Disponível em: <<https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/2901>>. Acesso em: 11 mai. 2024.

SALEEM, A. Isolation and identification of Gram-positive bacteria from pet rabbit faeces. **European Journal of Pharmaceutical and Medical Research**, v. 9, n. 8, p. 1–11, 2022.

SANT'ANA, B. G. **Avaliação hematológica e bioquímica de coelhos domésticos**. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2023

SILVA, K. G. Fibra alimentar e sua importância na produção de coelhos. **Vet Not**, Uberlandia, v. 22, n. 1, p. 1-10, jun. 2016.

SILVA, M. N. **Hematologia veterinária**. Belém: EditAEDI-UFPA, 2017.

SORESINI, G. C. G; ALBUQUERQUE, M. H. M; SILVA, R. L; SILVA, F. T; MANGINI, P. B; TEIXEIRA, V. N. Enterotomia para tratamento de estase intestinal ocasionada por ingestão de corpo estranho em coelho (*Oryctolagus cuniculus*). **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, Curitiba, v. 3, n. 4, p. 3459-3465, out./dez. 2020. DOI: <https://doi.org/10.34188/bjaerv3n4-055>.

THRALL, M. A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2 ed. São Paulo: Editora Roca, 2015.

TRIPATHI, N. Coloração de Gram. **Stat Pearls**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562156/>>. Acesso em: 10/07/2025.

VETSTREAM L.T.D. Diarrhea - Overview. **Vetlexicon Lapis**. Disponível em: <<https://www.vetlexicon.com/treat/lapis/freeform/diarrhea-overview>>. Acesso em: 19 abril 2023.

VESTH, T. Veillonella, Firmicutes: microbes disguised as Gram negatives. **Standards in Genomic Sciences**, [S.l.], v. 9, p. 431–448, 2013. DOI: 10.4056/sigs.2981345. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.4056/sigs.2981345>>. Acesso em: 4 maio 2025.

VIEIRA, T. B. Megabacteriose aguda em calopsita (*Nymphicus hollandicus*): relato de dois casos. **Scientific Electronic Archives**, [S. l.], v. 15, n. 9, 2022. DOI: 10.36560/15920221586. Disponível em: <<https://scientificelectronicarchives.org/index.php/SEA/article/view/1586>>. Acesso em: 6 junho 2025.

WAZLO, L.; KOWALSKA, D.; BIELAŃSKI, P. *et al.* Effect of fermented rapeseed meal

on the gastrointestinal microbiota and immune status of rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). **Animals (Basel)**, v. 11, n. 3, p. 716, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani11030716>.

ZHENG, D.; LIWINSKI, T.; ELINAV, E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. **Cell Res**, [S.l.], v. 30, p. 492-506, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0332-7>.