



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA

VIVIANE DA SILVA MEDEIROS

**INDICADORES DA RESPOSTA AO ESTRESSE AGUDO ASSOCIADOS COM
A FAMILIARIDADE AO AMBIENTE E AOS PROCEDIMENTOS DE BANHO
E TOSA EM CÃES (*Canis familiaris*) DA RAÇA POODLE**

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Maria Bernardete Cordeiro de Sousa

Natal

2007

**INDICADORES DA RESPOSTA AO ESTRESSE AGUDO ASSOCIADOS COM
A FAMILIARIDADE AO AMBIENTE E AOS PROCEDIMENTOS DE BANHO
E TOSA EM CÃES (*Canis familiaris*) DA RAÇA POODLE**

Viviane da Silva Medeiros

Banca Examinadora:

Prof^ª. Dr^ª. Maria Bernardete Cordeiro de Sousa
Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN

Prof^ª. Dr^ª. Débora Andréa Evangelista Façanha Moraes
Universidade Federal Rural do Semi-árido – UFERSA

Prof^ª. Dr^ª. Maria Teresa da Silva Mota
Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN

Oração de São Francisco

Senhor fazei-me instrumento de vossa paz.

Onde houver ódio, que eu leve o amor;

Onde houver ofensa, que eu leve o perdão;

Onde houver discórdia, que eu leve a união;

Onde houver dúvida, que eu leve a fé;

Onde houver erro, que eu leve a verdade;

Onde houver desespero, que eu leve a esperança;

Onde houver tristeza, que eu leve a alegria;

Onde houver trevas, que eu leve a luz.

Ó Mestre fazei que eu procure mais

Consolar, que ser consolado;

compreender, que ser compreendido;

amar, que ser amado.

Pois, é dando que se recebe,

é perdoando que se é perdoado,

e é morrendo que se vive para a vida eterna.

Agradecimentos

Por tudo devemos dar graças.

Ao nosso Criador, pois mesmo sem entendê-lo perfeitamente, sinto que toda a criação tem o propósito de nos fazer feliz e só se pode amar e agradecer a quem ou ao que nos quer tanto bem e tanto ama.

Minha mãe, Lenita (*in memorian*), que não foi quem me deu a vida, mas foi quem me ensinou a vivê-la, a respeitá-la e a crescer num mundo de amor sem fronteiras, agradeço pelo que sou. Meu carinho e meu amor.

A meu pai, Claudionor (*in memorian*) que em toda sua dificuldade sempre me deu o melhor que podia.

Ao meu companheiro, Laércio, por tanto amor, tanta amizade, tanta compreensão em todas as ausências pra estudar, em tantas tabelas pra fazer, em todos os momentos meu melhor amigo, meu amor, quem sempre me faz sorrir. A meus filhos por serem parte de nossa felicidade, por serem pessoas felizes e boas. Taís, Carolina, Rafael, Clarice e Gabriel. A Beth uma amiga em todos os momentos. A toda minha família, Medeiros, Trindade e Silva, não citarei nomes por que tenho uma família baiana e uma pernambucana, ambas enormes.

A professora Maria Bernardete de quem sou fã incondicional, pela oportunidade de realizar este trabalho, pois ela me abriu as portas da formação científica. Que faz o que ela mesma diz que é o trabalho dela, porém com um carinho enorme e muita atenção. Agradeço muito mesmo.

A Médica Veterinária Suzianne Barreto que muito me ajudou na realização dos hemogramas. Ao Luiz Carlos pela realização das dosagens de cortisol e pela presteza em tirar todas as dúvidas sobre o teste que íamos usar. Muito obrigada!

A Professora Fátima Campos por ser a primeira a me aceitar no programa de Pós-graduação, Professora e amiga Teresa Mota que ao lado da Professora Bernardete foi minha professora em Endocrinologia Comportamental, de onde veio toda a inspiração para realizar este trabalho, enfim a todos os professores do programa por mais, ou menos terem sido incentivadores da conclusão deste projeto.

Todos os funcionários do Departamento, sempre tão solícitos e carinhosos conosco.

Aos amigos conquistados ao longo deste curso, Mariana Chiste, Marina Dal Poggetto, Maricele Barbosa, Erick, Márcio Rego, Rose Emilia, Carol Tosi, Fernanda e tantos outros tão queridos.

Aos tosadores, Taís e Anderson, sem vocês não seria possível.

Agradeço também aos proprietários dos cães que participaram da pesquisa e aos sujeitos experimentais, os cães, poodles queridos que mesmo depois de tantas agulhadas, de tanto aperto ainda, em sua maioria, quando me vêem abanam a cauda em sua forma sutil de sorrir!

SUMÁRIO

Resumo	01
Abstract	02
1. Introdução	03
1.1. Domesticação e vínculo afetivo entre caninos e humanos	03
1.2. Estudo clínico do comportamento e indicadores fisiológicos de estresse	06
1.2.1. Resposta fisiológica de estresse	07
1.2.2. Estresse e sistema imunológico	09
1.2.3. Diferença entre sexos na resposta de estresse	10
1.2.4. Bem-estar	11
2. Objetivos	13
2.1. Gerais	13
2.2. Específicos	13
3. Hipóteses e Predições	14
4. Material e Métodos	15
4.1. Animais	
4.1.1. Padrão da raça poodle	15
4.2. Procedimento experimental	16
4.2.1. Grupos experimentais	16
4.2.2. Coleta de dados fisiológicos - amostras de sangue para hemograma e dosagem de cortisol	17
4.2.3. Coleta de dados comportamentais	19
4.3. Análise estatística	19
5. Resultados	22
5.1. Avaliação da resposta do sistema endócrino	22
5.1.1. Variação das concentrações plasmáticas de cortisol entre a 1ª e a 2ª coletas nos dois grupos experimentais	22
5.1.2. Concentrações de cortisol plasmático entre grupos	23
5.1.3. Influência da familiaridade com o tosador na resposta hormonal dos cães	24

5.1.4. Influência do sexo do cão nas concentrações plasmáticas do cortisol	25
5.2. Avaliação da resposta do sistema imune	26
5.2.1. Avaliação das contagens de células entre as coletas	26
5.2.2. Influência da familiaridade com o tosador na contagem das células do sistema imune	29
5.2.3. Influência do sexo do cão na contagem das células do sistema imune	31
5.2.4. Correlação entre células do sistema imune e cortisol	33
5.3. Avaliação da resposta comportamental	34
5.3.1. Correlação da concentração de cortisol plasmático com os comportamentos observados	36
5.3.2. Influência do sexo no perfil comportamental	36
5.4. Agressividade	38
6. Discussão	40
6.1. Familiaridade ao ambiente de banho e tosa	40
6.2. Diferença entre os sexos na resposta ao ambiente e ao tosador	42
7. Agressividade	46
8. Conclusão	48
9. Bibliografia	49
10. Anexos	58

Resumo

As respostas de estresse podem ser variáveis utilizadas para identificar o nível de bem-estar dos animais. Parâmetros comportamentais também podem ser usados tentando identificar sua correspondência com situações estressantes. Neste estudo cães da raça poodle, adultos, de ambos os sexos, familiarizados (Grupo 1) e não familiarizados (Grupo 2) a um ambiente de salão de beleza canino foram avaliados por meio da concentração plasmática de cortisol, contagem de células do sistema imune (leucócitos totais e percentuais de neutrófilos e linfócitos) e observação de alterações comportamentais antes e após os procedimentos de banho e tosa. Após a chegada do animal no canil, dentro do ambiente de banho e tosa, foi realizada uma primeira coleta de sangue seguida por um intervalo de observação de 10 minutos, realização dos procedimentos de banho e tosa e coleta de uma segunda amostra de sangue. Os resultados foram analisados usando testes estatísticos não paramétricos e o valor de $p < 0.05$. Cães familiarizados e não familiarizados tiveram respostas hormonais e comportamentais diferentes: os cães familiarizados apresentaram elevação do cortisol na segunda coleta, indicando o estresse provavelmente aos procedimentos, e respostas comportamentais que podem ser caracterizadas como estresse moderado. Os cães não familiarizados ao ambiente apresentaram concentrações semelhantes de cortisol na primeira e segunda coletas sugerindo que a situação estressante parece ser anterior aos procedimentos, provavelmente relacionada ao novo ambiente. Apresentaram também respostas comportamentais que podem ser caracterizadas como estresse agudo. Machos e fêmeas apresentaram alterações imunológicas semelhantes e alterações endócrinas e comportamentais diferentes entre os sexos nos dois grupos experimentais. Com relação à agressividade observou-se que morder o proprietário é um bom preditor de agressividade durante os procedimentos de banho e tosa, os machos foram mais agressivos que as fêmeas e reagiram mais a um tosador estranho. Estes resultados sugerem que a familiaridade do animal ao ambiente de tosa e banho e ao tosador é importante para o bem-estar animal de cães da raça poodle, particularmente nos machos.

Abstract

The stress responses can be parameters used in order to identify the welfare of animals. Behavior parameters can also be regarded as means to identify their relation to stressing situations. In this study, adult male and female poodle dogs, accustomed (group 1) or not (group 2) to the environment of a bath and grooming salon were analyzed through the plasmatic concentration of cortisol, cell counting of the immune system (total leukocytes and percentage of neutrophils and lymphocytes) and through observation of changes in behavior before and after the bath and grooming service. After arriving at the kennel, the dogs were taken to the bath and grooming facility, where they had their blood samples taken and were observed for ten minutes. The subsequent procedures consisted of the bath and grooming services and the collection of another blood samples. The research results were analyzed through non-parametric statistic tests and $p < 0.05$. Accustomed and non-accustomed dogs presented different hormonal and behavior responses: accustomed dogs presented an increasing of the cortisol level at the second blood samples collection, thus indicating stress towards the aforementioned procedures and presenting behavior responses which can be described as moderated stress. Non-accustomed dogs presented the same cortisol levels in both first and second samples suggesting that they were already reacting to the new environment. Dogs also shown behavioral responses which can be described as acute stress. Both male and female dogs showed similar immunological changes as well as different endocrine and behavioral profiles. Concerning aggression, this study demonstrates that biting the owner can be a predicting behavior of aggression during the bath and grooming service, male dogs were more aggressive than the female, and that males were more reactive to unknown caretaker. The results of this research propose that the familiarization of the animal with the bath and grooming environment and caretaker is important to the welfare of poodle dogs, especially to that of male dogs.

1. Introdução

1.1 - Domesticação e vínculo afetivo entre caninos e humanos

Durante muitas centenas de anos os cães têm sido selecionados por diferentes habilidades em suas interações com humanos (MIKLOSI, *et al*, 2003). Neste período os cães têm preenchido parte das necessidades humanas, seja como companhia, guarda ou até como alimento. A grande plasticidade genética dos cães permitiu a grande variedade de raças e serviços caninos. LEVINSON (1969) apontou ser impossível demarcar a partir de que momento o homem começou a domesticar os animais e a usá-los como animais de estimação. Especula-se que o início da domesticação pode datar de mais de 100.000 anos. Escavações feitas nas proximidades do estado de Israel encontraram um fóssil de mulher com as mãos sobre um filhote de cão datado de aproximadamente 12.000 anos, ratificando assim a existência antiga da relação de natureza emocional entre humanos e cães. Os cães já foram considerados condutores à terra dos mortos, auxiliaram na caça, serviram como guardas de rebanhos e pastores, como protetores contra invasores e ladrões, como guerreiros e animais de companhia de conformidade com seu porte físico e temperamento (CLUTTON- BROCK, 1996).

Em estudo comparativo entre habilidades comunicativas de cães e lobos, MIKLOSI, *et al*, 2003 encontraram que cães entendem sinais humanos que não são compreendidos por lobos e estas qualidades podem ser identificadas como portas de entendimento da domesticação, e assim justificar a seleção de cães pelas habilidades que podem servir aos humanos.

Atualmente uma infinidade de espécies animais é adotada como “*pets*” (bichinhos de estimação) estreitando a convivência com seres humanos e modificando seu papel na relação homem-animal. É muito importante o reconhecimento da importância desta relação por parte dos profissionais, compreendendo esta nova realidade de organizações sociais resultantes de grupos multiespécies, onde estes animais são reconhecidos como “membro da família” (FARACO e SEMINOTTI, 2004).

No último século, os cães passaram a ser tratados mais como animais de companhia, tendo sido demonstrado seu papel como reforço psicológico e facilitador da integração do homem com sua comunidade (BEAVER, 2001). Em estudo realizado na cidade de São Paulo com cães, mostrou que um animal pode favorecer o contato social e recreação. Ficou demonstrado que 40% das pessoas que conduzem um animal têm pelo menos uma conversa com alguém encontrado ao longo do trajeto, contra apenas 8% do grupo com bebê e 3% das pessoas desacompanhadas (FUCHS, 1988).

O crescimento das cidades e a conseqüente diminuição do tamanho das moradias trouxeram transformações nos relacionamentos entre as pessoas e seus grupos sociais. Estas alterações fizeram com que os cães adquirissem uma nova posição no grupo familiar. Este fato levou a que profissionais da saúde iniciassem estudos sobre esta relação homem-cão e seus benefícios para os humanos. LEVINSON (1997) utilizou com sucesso a terapia assistida por animais, e inspirados por suas pesquisas outros cientistas iniciaram investigações sobre como as pessoas se vinculam a seus animais de estimação.

Muitos proprietários indicam que se sentem tão bem junto a seus cães quanto aos membros da família. Fotos de animais de companhia membros dos grupos multiespécies são tiradas como as de bebês e crianças pequenas (RUBY, 1983), pois as relações entre homem e cão são muito diferentes daquelas com outros animais com os quais os proprietários convivem. Esta relação indica que o animal de estimação pode funcionar como um membro de significado, que com frequência provê um suporte emocional e que seu bem-estar é importante. A substituição de crianças por cães acontece em casais sem filhos, com um filho ou mais de um filho para os quais ao cão é sempre atribuído o *status* de criança mais nova (BERNARD e DEMARET, 1996).

Os animais de companhia desempenham importante papel na vida de indivíduos e famílias, mas apenas nas últimas quatro décadas foram feitos esforços científicos visando à compreensão e descrição da natureza complexa da ligação entre o ser humano e o animal. (LEVINSON, 1968; FOX, 1975). Vários são os motivos para posse de animais de estimação, desde a função de companhia, melhora de auto-estima, ligação afetiva e segurança emocional. De acordo com McCULLOCK et al(1992), os animais podem ser agrupados como mais apropriados para companhia (cães, gatos e

pássaros), para despertar o cuidado (qualquer animal), para tocar (qualquer animal com pelos e as aves), para manter o indivíduo ocupado (aqueles animais que demandem cuidado diário), que despertem o foco de atenção (qualquer animal ativo), que motivem o indivíduo para o exercício (cães de portes variados) e que tragam segurança (cães).

O termo “apego” foi desenvolvido na década de 50 para explicar as relações afetivas que se formam entre os bebês humanos e seus cuidadores (BOWLBY, 1958). Todavia, de acordo com TOPÁL *et al.*, (1998) este conceito tem sido re-elaborado para incluir fenômenos comportamentais que ocorrem em espécies sociais. Segundo estes autores, as teorias sobre comportamento de apego incluem desde a abordagem psicanalítica de Freud, passando por teorias de aprendizado (RAJECKI *et al.*, 1978) e vão até o modelo etológico do apego (BOWLBY, 1969). Segundo o modelo etológico que usa o termo apego dentro de uma abordagem evolucionista, existiria um sistema neurobiológico, envolvendo estruturas neurais, que tem sido modelado pelo ambiente. As causas últimas para o desenvolvimento destas relações de procura e manutenção de proximidade com outro indivíduo seriam a proteção contra predadores, obtenção de recursos necessários do cuidador, ou ambos (TOPÁL *et al.*, 1998). Dentro deste contexto, as relações de apego entre humanos e seus cães foram testadas a partir de um procedimento proposto por AINSWORTH (1969) conhecido por “Teste de situação estranha” para determinar o apego das mães e seus bebês, a submissão dos cães a este teste obteve resultados de comportamento de apego – a busca de proximidade do cão com o seu proprietário. Concluindo que o vínculo entre cão e seu proprietário é significativo e se apresenta da mesma maneira que o apego exibido pela criança e seu cuidador (TOPÁL *et al.*, 1998).

Em sua teoria do apego BOWLBY recolheu relatos e fez observações da interação mãe-bebê. Destes dados que recolheu, percebeu que indicavam uma direção diferente daquela que a psicanálise e a teoria cognitiva da época apontavam. O contato com a etologia em seu início por intermédio de Konrad Lorenz possibilitou-lhe a base teórica para seus trabalhos. BOWLBY propôs que assim como em outras espécies animais, os bebês humanos seriam programados para emitir certos comportamentos que facilitariam a atenção e cuidados de seu cuidador.

Deste modo, partindo do pressuposto que as relações de apego entre seres humanos e seus cães são semelhantes às encontradas em humanos entre cuidadores e bebês e também primatas não-humanos (KAUFMAN & ROSEBLUM, 1969), espera-se que existam também outros componentes desta relação que se manifestam, por exemplo, durante a resposta ao estresse. Em trabalhos com roedores (KIYOKAWA *et al.*, 2004) e primatas não-humanos (RUKSTALIS & FRENCH, 2005) testados diante de situações desafiadoras na presença de parceiros sociais, os animais reagem menos em termos comportamentais e fisiológicos (menor elevação da pressão arterial e dos níveis de cortisol) do que quando sozinhos. Nestes casos, a situação estressante é tamponada pelo parceiro social. Pode-se supor, portanto, que cães diante de situações estressantes, a ausência do proprietário possa aumentar a magnitude da resposta comportamental e fisiológica diante de situações que tenham um potencial estressante.

1.2 - Estudo clínico do comportamento e indicadores fisiológicos de estresse

O estudo clínico do comportamento animal é uma área em expansão na medicina veterinária, com potencial para o crescimento na área de pesquisa básica, bem como na de aplicação. O repertório comportamental dos animais inclui desde simples reflexos até complexas seqüências motoras, motivadas ou não que são o resultado de um conjunto de variáveis genéticas, experiência anterior e aprendizagem, estado fisiológico do animal e estímulos ambientais concomitantes (VOITH, 1992).

As respostas de um cão ao ser acariciado indicam a extensão na qual ele é capaz de incluir seres humanos como membros de seu grupo. Um contato tátil simples pode diminuir drasticamente a freqüência cardíaca, pressão sanguínea, freqüência respiratória, fluxo sanguíneo aórtico e fluxo sanguíneo arterial coronariano do cão (LYNCH, 1970). As medidas de efeitos fisiológicos durante a interação entre os seres humanos e seus cães mostram que, em ambas as espécies, ocorre diminuição da pressão sanguínea, colesterol e cortisol e aumento de ocitocina, prolactina, beta-endorfina e dopamina (ODENDAAL, 2000). O envolvimento emocional entre cães e humanos é frequentemente recíproco. Quando é dada a oportunidade de escolha ao cão entre interagir com humanos e com outros cães, frequentemente, cães bem

socializados, preferem a interação social e aproximação com humanos (TUBER *et al.*, 1996).

As respostas comportamentais e fisiológicas (batimentos cardíacos, hormônios) também diferem entre os sexos dos cães e da pessoa envolvida na interação. As cadelas são menos relutantes em abordar pessoas desconhecidas que os cães machos independente se a pessoa é do sexo masculino ou feminino (LORE, *et al.*, 1986).

Os cães, de modo geral, precisam de cuidados de higiene como banho e, no caso da raça poodle, necessitam também de tosa. A tosa é um procedimento de longa duração (2 horas, em média) e causa alterações comportamentais. Segundo RAMOS *et al* (2006), 31,5% dos cães levados ao banho e tosa apresentaram alteração comportamental em resposta aos procedimentos realizados podendo se expressar sob a forma de reações de agressividade, medo e dominância.

A ida a um salão de beleza canino ou a uma Clínica Veterinária pode ser um evento estressante para muitos animais de companhia. Na maioria das vezes, instala-se uma situação de imprevisibilidade para o cão, associada a estas visitas, pois estas estão relacionadas a banhos, vacinas e tosas, nos quais o cão é separado de seu grupo social e submetido a procedimentos às vezes incômodos. Conseqüentemente, estes tentarão reagir evitando este ambiente (ESTEP e HETTS, 2002). O próprio ambiente não domiciliar e a presença de pessoas ou animais estranhos podem causar estresse (VOLMER, 1977). Além disso, o isolamento social e a restrição de espaço são fatores que reconhecidamente promovem estresse em cães (BEERDA *et al.*, 1999).

O tipo de resposta é determinado por diversos fatores, como diferenças individuais, componentes genéticos, manuseio pós-natal e gênero. A observação de situações de estresse em muitas espécies tem sido usada como indicador de bem-estar de um indivíduo. A aceitação que esta mesma lógica pode ser aplicada ao bem-estar canino possibilita que existam parâmetros reais de indicadores de estresse para cães (BEERDA *et al.*, 1998).

1.2.1 - Resposta fisiológica de estresse

O termo estresse teve origem na física e engenharia e tem sido usado na biologia para descrever o desequilíbrio homeostático (McEWEN, 2000). Quando um

estímulo estressor é percebido pelo Sistema Nervoso, uma cascata de eventos se segue: há o início da ação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e, primariamente, o hormônio liberador de corticotropina (CRF) é liberado pelos neurônios hipotalâmicos do sistema parvocelular no sistema vascular porta-hipofisário. O CRF estimula a hipófise anterior a liberar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) que estimula o córtex da glândula adrenal a liberar glicocorticóides, cujo principal representante em cães é o cortisol. Durante a resposta ao estressor (agente que provoca o estresse) há um aumento na secreção de CRF em poucos segundos, de ACTH em torno de 15 segundos e de glicocorticóides em poucos minutos (SAPOLSKY, 2002). Os estímulos sociais podem ser estressores de natureza física ou psicológica. Além da ativação do eixo HHA em resposta ao estresse, ocorre também a ativação da medula da glândula adrenal, parte do sistema nervoso simpático, com a liberação de adrenalina e noradrenalina. A ativação de ambos os sistemas leva a mudanças na concentração de vários mediadores do estresse: cortisol, catecolaminas e neurotransmissores. Estas respostas são reguladas por complexos sistemas de retroalimentação (PRUETT, 2003). Sob condições de exposição a um agente estressor os níveis dos hormônios do eixo HHA são usados como indicadores de estresse, tanto o CRF como o ACTH secretado pela hipófise anterior e, principalmente, dos glicocorticóides do córtex da adrenal (HEINRICHS *et al.*, 2003).

As condições sociais podem servir para aumentar as respostas hormonais elevando os níveis de cortisol os quais podem ser usados como marcadores de elevado estresse (HEINRICHS *et al.*, 2003). Animais que vivem em grupos sociais intra ou inter espécies, na maioria das vezes, estabelecem relações de dominância ou hierarquia social (KREBS, 1997). Os custos e benefícios da definição da hierarquia dentro do grupo não são os mesmos para todos os membros. Os animais dominantes têm prioridade na obtenção dos recursos limitados, alimentares ou de parceiros reprodutivos. Tipicamente, animais dominantes iniciam interações agressivas mais frequentemente que animais subordinados (CREEL, 2005) e o nível de estresse associado com a dominância está relacionado ao estilo comportamental dos animais dominantes e de sua estabilidade no grupo (CREEL *et al.*, 1996; SAPOLSKY, 1986; e BENNETT, 1990).

1.2.2 - Estresse e sistema imunológico

Durante uma situação de estresse agudo, todo o corpo prepara-se para uma reação conhecida como de fuga ou luta. Esta é uma resposta adaptativa que habilita o organismo a responder as mudanças em seu ambiente. (McEWEN, 2000). Assim como o sistema nervoso, cardiovascular, músculo esquelético e neuro-endócrino se preparam para fuga ou luta, o sistema imune ajusta-se para os desafios aos quais vai ser exposto pelo estressor. (DHABHAR & McEWEN, 2000).

Os glicocorticóides e as catecolaminas que são liberados durante uma situação de estresse modulam o sistema imunológico, através dos seus receptores específicos (GR) presentes nas células-alvo (PADGETT, 2003). Durante os primeiros minutos da resposta ao agente estressor, o número de leucócitos aumenta, mas se o estímulo estressor for interrompido a contagem volta a diminuir e retorna ao nível basal (DHABHAR, 2002). De acordo com o tipo e a duração do estímulo estressor são verificadas diferenças quanto ao grau de ativação de áreas cerebrais e na concentração dos hormônios liberados. (LOPEZ *et al.*, 1999; DHABHAR, 2002).

Durante o estabelecimento das relações de dominância os animais são submetidos à condição de estresse agudo e, posteriormente, a partir de sua definição, estresse crônico na convivência dentro do grupo. No estresse agudo, as alterações no sistema imune conferem maior resistência a possíveis agressores, paralelamente às alterações metabólicas que capacitam os indivíduos a desempenharem de modo satisfatório, dependendo do contexto, a reação de luta ou fuga (SALPOLSKY, 2002). Por outro lado, durante o estresse crônico, as alterações no sistema imune levam a uma depressão na sua resposta, passando a desempenhar um papel deletério para o organismo submetido a esta condição (SAPOLSKY, 2002).

1.2.3 - Diferença entre sexos na resposta de estresse

A reprodução sexual demandou, ao longo do processo evolutivo, diferentes estratégias sexuais de machos e fêmeas, em função de fatores ecológicos e sociais. Sabe-se hoje que a organização neural é diferenciada entre os sexos, que passaram a utilizar vias e circuitos diferentes para responder a demandas ambientais e de interação social (KELLY, 1991). Modelos animais têm demonstrado dimorfismo sexual em relação à susceptibilidade a doenças que acometem o sistema imune. Em roedores, condições espontâneas auto-imunes são mais prevalentes e mostram maior severidade em fêmeas que em machos. A gonadectomia ou aplicação de hormônios sexuais pode afetar diretamente a função imune e doenças auto-imunes nestes modelos animais (SHAMES, 2002). Os hormônios sexuais afetam a função de linfócitos e macrófagos diretamente. Fêmeas demonstram uma resposta humoral e imune mais intensa que machos. A imunoglobulina M(IgM) no plasma tem níveis significativamente mais elevados em mulheres que em homens e as respostas imunes mediadas por células também diferem entre os sexos (KLEIN, 1997).

Em algumas espécies observam-se relações entre os glicocorticóides e posição social sendo que a fêmea dominante apresenta a concentração de cortisol mais alta que fêmeas subordinadas (CREEL, 1996). Em macacos talapoinos machos as concentrações de cortisol estão correlacionadas com o posto social de dominância, sendo que os subordinados que recebem mais ataques mostram as mais altas concentrações de cortisol (YODYINGYUAD, 1985). Segundo CREEL (2005) em estudos recentes usando espécies que apresentam sistema de reprodução cooperativo os indivíduos dominantes apresentam mais frequentemente níveis mais elevados de glicocorticóides do que os subordinados. Os carnívoros estudados foram *Lycaonpictus* (Cachorro selvagem africano), *Helogale parvula* (Pequeno carnívoro africano) e *Canis lupus* (Lobo europeu). Em todas as três espécies as concentrações de glicocorticóides foram mais altas em dominantes que em subordinados tanto para os machos quanto para as fêmeas.

1.2.4 - Bem-estar

Os animais domésticos são afetados pela interação com os humanos envolvendo questões relacionadas ao seu bem-estar. De acordo com BROOM (1986) o bem-estar inclui o estado no qual o indivíduo se apresenta durante as suas tentativas de enfrentar as dificuldades em seu ambiente. Isto incluiu o seu estado de saúde bem como o seu estado emocional (BROOM, 1996). Além disso, de acordo com BOX (2007), o bem estar diz respeito ao indivíduo e não ao ambiente, varia com o tempo e apresenta gradações entre muito bom e muito ruim.

Ao se considerar a possibilidade de se avaliar o bem-estar de um indivíduo, é necessário haver de início um bom conhecimento da biologia do animal. O estado de saúde pode ser bom ou ruim; entretanto, além das mensurações diretas do estado do animal (ingestão de alimento, atividade física diária, entre outros), devem ser feitas tentativas de se medir alguns sinais básicos de bem-estar que são evidenciados por mensurações fisiológicas, comportamentais, ou ambas, que de forma objetiva constituem uma importante estrutura de avaliação do “bem estar animal“ (BEA). Concentrações plasmáticas de cortisol e percentual de tempo gasto em comportamentos estereotipados são exemplos de variáveis a serem medidas (BROOM e JOHNSON, 2000) tais como alterações da função do sistema imunológico e outras alterações fisiológicas, que podem indicar estados pré-patológicos (MOBERG, 1985).

Em raças de cães que são criados como animais de companhia, a exposição a procedimentos que perturbem a rotina diária do animal atua como potencial estressor. Neste sentido, a melhoria do bem-estar animal requer produção de conhecimento por parte de especialistas em comportamento animal, principalmente para espécies pouco estudadas como é o caso de cães da raça poodle que são muito adotados para companhia e muito freqüentemente são levados aos estabelecimentos de banho e tosa pela necessidade de corte em seu pelame. Assim, uma vez que são necessários procedimentos para manutenção da higiene do animal para convívio com seus cuidadores também se faz necessário o cuidado apropriado para evitar danos à saúde dos animais.

Neste estudo foi avaliado o bem-estar de cães fenotipicamente de raça *poodle*, frente ao ambiente de salão de beleza canino e às pessoas que fazem parte deste

ambiente, antes e após os procedimentos de banho e tosa. Para este fim foram utilizadas como parâmetros de aferição desta condição, a dosagem do hormônio cortisol no sangue, a contagem total de leucócitos (absoluta e relativa) e o registro da atividade comportamental dos animais.

2. Objetivos

2.1 - Geral:

a) Determinar o perfil da resposta comportamental, hormonal e imunológica de cães (*Canis familiares*), com fenótipo da raça poodle, relacionada à familiaridade ao ambiente e aos procedimentos de banho e tosa.

2.2 - Específicos:

a) Caracterizar possíveis alterações nas concentrações de cortisol em cães da raça poodle familiarizados ou não ao ambiente durante o procedimento de banho e tosa.

b) Caracterizar possíveis alterações na contagem total de leucócitos e percentuais de neutrófilos e linfócitos durante o procedimento de banho e tosa.

c) Caracterizar a ocorrência de alterações comportamentais durante o procedimento de banho e tosa.

3. Hipóteses e predições

H1 - A familiaridade ao ambiente e ao procedimento de banho e tosa influenciará o perfil comportamental, endócrino e imunológico de cães da raça poodle.

P1 - Cães não familiarizados apresentarão maiores ou menores concentrações de cortisol, alterações imunes e comportamentais anteriores ao procedimento quando comparados aos cães familiarizados.

H2 - Os perfis comportamental, endócrino e imunológico avaliados em cães de raça poodle apresentarão diferenças entre os sexos;

P2 - Partindo da observação que fêmeas buscam mais interações com estranhos que machos, os machos deverão apresentar maiores alterações nas variáveis estudadas do que as fêmeas.

H3 - Os perfis endócrino e imunológico avaliados em cães familiarizados com o tosador apresentarão alterações durante os procedimentos de banho e tosa diferente dos cães não familiarizados;

P3 - Os cães não familiarizados serão mais reativos considerando que estarão respondendo aos procedimentos e ao novo tosador.

H4 - A agressividade direcionada ao proprietário influenciará na sua resposta comportamental ao tosador;

P4 - Cães mais agressivos com relação ao proprietário manterão esse perfil direcionado ao tosador.

4. Material e Métodos

4.1 - Animais

Foram utilizados 33 cães com características fenotípicas da raça poodle, adultos, com idade entre 1 e 7 anos, de ambos os sexos, em bom estado de saúde, triados pela experimentadora, dentre os animais que foram levados ao salão de beleza canino situado na zona sul da cidade do Natal/RN para os procedimentos de banho e tosa. O ambiente dispunha de sala para banho e tosa com uma banheira, uma mesa de tosa, um conjunto de gaiolas com compartimentos medindo cada um deles 70 x60 x 50 cm de altura (Fotos 1 e 2). As salas tinham boa iluminação, presença de funcionários e outros cães.

Foram excluídos da amostra animais com doenças de pele, sob tratamento com corticosteróides e em tratamento para alguma outra enfermidade.

Os proprietários assinaram uma ficha de consentimento para que seus cães participassem da pesquisa, assim como responderam questões sobre seus cães e sobre a interação com os mesmos (ANEXOS I e II). Foi informado aos proprietários que as informações teriam caráter confidencial quanto à identidade da participação.

4.1.1 - Padrão da raça poodle

Para a seleção dos animais utilizados no presente estudo foram observadas as características físicas de cada cão da raça poodle, seguindo-se o padrão estabelecido pela Federação Cinológica Internacional que é o adotado pelo Kennel Club do Brasil(1999):

- a) Aparência geral: Cão de tipo harmonioso, mediolíneo, de pelagem encaracolada característica, cacheada ou encordoada. Tem aspecto de um animal inteligente, constantemente em alerta, ativo, harmoniosamente construído, dando uma impressão de elegância. Cão reconhecido por sua fidelidade, apto a aprender e a ser treinado, o que faz dele um cão de companhia particularmente agradável.
- b) Pêlo: Poodle de pêlo cacheado: pêlo abundante de textura fina, lanosa, bem encrespada, elástico e resistente à pressão da mão. Espesso, farto, de

comprimento uniforme, formando cachos iguais e geralmente penteados. Poodle de pêlo encordoado: pêlo de textura fina, lanosa, fechada e abundante, formando cordões de comprimento uniforme, bem característicos. Pêlos de 20 cm, no mínimo. Quanto maiores, mais valorizados. Os cordões laterais da cabeça podem ser presos por elástico, acima das orelhas e, os do tronco, repartidos na linha do dorso caindo para os lados, para evitar uma pelagem em desordem.

4.2 - Procedimento experimental

Os cães foram separados em dois grupos experimentais em função do critério de estarem ou não familiarizados ao ambiente dos procedimentos de banho e tosa. A seqüência da coleta de dados é apresentada no Quadro 1. Após a chegada do animal ao salão de beleza canino foi realizada a primeira coleta de sangue. Em seguida os animais foram observados na gaiola de espera, durante 10 minutos e encaminhados para os procedimentos de banho e tosa que tiveram a duração entre 90 a 120 minutos. Este tempo variou de acordo com a resistência apresentada por cada animal ao submeter-se ao procedimento. Durante todo o tempo de estada no ambiente do salão de beleza canino foi registrada a ocorrência de qualquer tipo de comportamento agressivo por parte dos cães, identificada a partir da vocalização ameaçadora seguida da tentativa de morder o tosador em qualquer momento. Após o banho e tosa foi coletada uma nova amostra de sangue e o animal foi liberado.

Todos os cães foram submetidos aos procedimentos experimentais descritos acima em duas ocasiões, com um intervalo de cerca de um mês entre elas.

4.2.1. Grupos experimentais

Grupo 1 (G1) - Animais anteriormente familiarizados aos procedimentos de banho e tosa e ao ambiente (n =17) - Foram incluídos na amostra oito machos e nove fêmeas que freqüentavam, no mínimo, uma vez por mês, o mesmo ambiente de banho e tosa, pelo menos nos últimos seis meses. Oito cães foram tosados por profissional familiar do sexo masculino e nove cães por profissional estranho, do sexo feminino.

Grupo 2 (G2) – Animais anteriormente familiarizados aos procedimentos de banho e tosa e submetidos ao ambiente novo (n=16) - Foram incluídos na amostra nove machos e sete fêmeas que freqüentavam outros ambientes de banho e tosa e que estavam freqüentando pela primeira vez um novo salão de banho e tosa ou que retornaram ao estabelecimento da realização da pesquisa, no mínimo após seis meses sem freqüentá-lo. Dez cães foram tosados por profissional estranho do sexo masculino e seis por profissional estranho do sexo feminino.



Foto 1 – Mesa de tosa.



Foto 2 – Canil de observação.

4.2.2. Coleta dos dados fisiológicos: as amostras de sangue para hemograma e dosagem de cortisol

Nos dois grupos na medida em que cada animal chegava à clínica era inicialmente realizada uma coleta de sangue de 2 mL com seringa descartável de 3 mL na veia cefálica, colocando-se em seguida o volume em tubo de coleta contendo EDTA. Parte da amostra foi usada para o hemograma e o restante do volume foi centrifugado para obtenção de plasma sanguíneo que foi congelado e posteriormente usado para dosagem do hormônio cortisol pelo método ELISA. Após esta primeira coleta de sangue, os cães foram levados à gaiola de observação, onde permaneceram por dez minutos, e em seguida, foram levados para o procedimento de banho e tosa. Finalmente, após os procedimentos de tosa e banho, foi coletada uma segunda amostra de igual volume, que foi usada para os mesmos procedimentos técnicos que a primeira, quais sejam:

a) Hemograma

Foram realizados esfregaços em lâmina imediatamente após a coleta de sangue total em EDTA, as quais foram encaminhadas a um Laboratório Veterinário para a contagem total de leucócitos e percentuais relativos de neutrófilos e linfócitos. Os valores normais para cães adultos variam entre: Leucócito total: 6.000 a 13.000/mm³, Neutrófilos (valor relativo: bastonetes = 0-4 + segmentados = 58-72; valor absoluto: 3.500-10.000) e Linfócitos (valor relativo: 12-30 e valor absoluto: 1.000-5.000).

b) Dosagem de cortisol

As determinações das concentrações de cortisol no plasma sanguíneo foram realizadas pelo método imunoenzimático (ELISA), conforme metodologia desenvolvida por MUNRO & STABENFELDT (1984). Os níveis normais de cortisol em cães variam entre de 0,30 a 5,39 µg/dL.

No dia do ensaio, as amostras foram trazidas para descongelamento à temperatura ambiente. O volume de 25 µL de plasma foi diluído em 475 µL de tampão fosfato pH= 7,0. Em seguida, 50 µL da diluição foram adicionados a tubos 12 x 75 mm e foi adicionado o volume de 250 µL de HRP-cortisol (1:150.000), sendo que 100 µL dessa mistura foram colocados na placa impregnada com anticorpo (1:16.000). Após foi feita a incubação durante 2 horas em câmara de umidade. A seguir as placas foram cobertas com filme adesivo e incubadas durante 40 minutos em câmara de umidade. Após este tempo, as placas foram retiradas da câmara e lavadas com uma solução de NaCl a 1,5M e Tween 20 a 0,5 %, seguida pela adição de 250 µL substrato (2,2-azino-bis 3 ethylbenthiazone-6-sulfonic acid / SIGMA) e 80 µL de peróxido de hidrogênio a 15% (H₂O₂). Em seguida, as placas foram incubadas por 40 minutos em câmara úmida e em seguida foram adicionados 100 µL de uma solução ácida (5,048 mL de ácido fluorídrico e 1,2 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 5N qsp diluída em 500 mL de água destilada).

As dosagens foram realizadas em leitora de placas para ELISA Asys Hightech, modelo expert plus com filtro de 410 nm.

Os controles do ensaio foram preparados a partir de 10 µL de 15 amostras de plasma canino escolhidas aleatoriamente. No ensaio, o controle de baixa e de alta concentração

foram preparados com a amostra acima usando 10 e 40 μL , respectivamente. Os coeficientes de variação intra e inter-ensaios foram, respectivamente, $2,27 \pm 0,25$ e $12,12 \pm 3,37\%$. O limite de detecção do ensaio foi de $1,23 \pm 0,81 \mu\text{g/mL}$.

4.2.3. Coleta de dados comportamentais

Nos dois grupos experimentais foram observados os comportamentos apresentados durante dez minutos e a coleta dos dados comportamentais seguiu a descrição feita por BEERDA *et al.*, (1998). Os comportamentos registrados em termos de frequência estão descritos no Quadro 2.

Para a avaliação da resposta comportamental os comportamentos registrados foram agrupados em sete categorias descritas a baixo:

A= Andar, sentar, andar em círculos, auto-catação, repouso com cabeça baixa, repouso com cabeça para cima e postura de pé;

B= Lamber o assoalho coçar-se, escavar e abanar a cauda;

C= Choramingar, Grunhir, latir;

D=Língua para fora, mastigar, salivar, lamber os lábios;

E= Beber, defecar e urinar;

F= Agredir;

G= Não agredir.

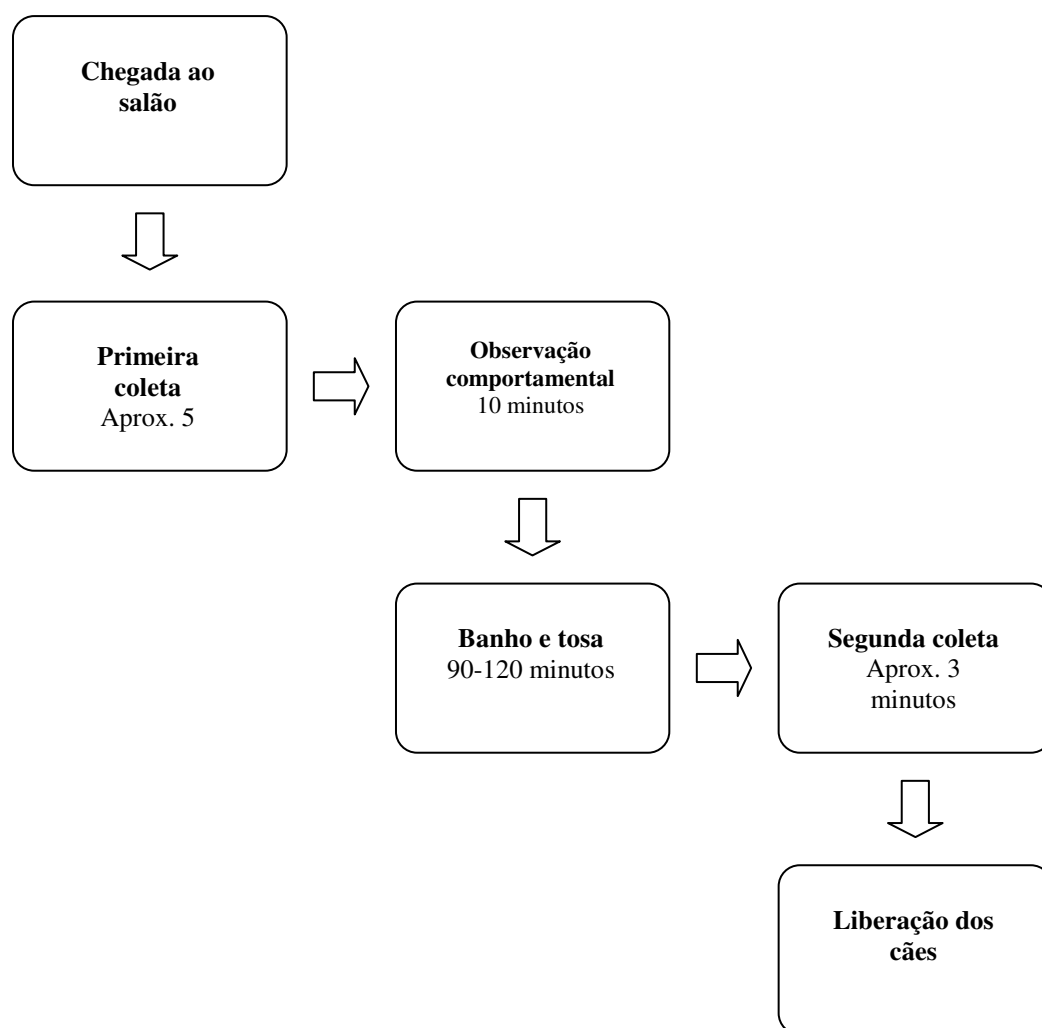
Para registro das variáveis relacionadas à agressividade (F e G) foi aplicado um questionário aplicado ao proprietário durante o recrutamento dos participantes (Anexo II) o qual investigou a história de agressão ao mesmo.

4.3 - Análise estatística

Inicialmente foi realizada a estatística sumária envolvendo o cálculo das médias e desvios padrões das variáveis estudadas. Considerando o tamanho da amostra e o tipo de variáveis analisadas foi usada a estatística não paramétrica. Para a análise entre os resultados do cortisol obtidos nas quatro coletas foi usada a ANOVA de Friedman. Para comparação dos resultados obtidos entre os dois grupos foi usado o teste de U de Mann-Whitney. A comparação entre os resultados entre as primeiras x segundas coletas de cada grupo bem como a familiaridade x não familiaridade com o tosador foi

realizada usando o teste de Wilcoxon. Para análise do sexo dos animais entre os grupos G1 e G2 foi usado o teste U de Mann-Whitney. O estudo das correlações foi feito por meio do teste de Spearman. Em todos os testes o nível de significância considerado foi de p igual ou menor do que 0,05.

Quadro 1 - Sumário do procedimento experimental nas duas sessões realizadas dentro do intervalo entre 30 e 48 dias nos dois grupos experimentais.



Quadro 2 - Comportamentos registrados e suas definições (quando disponíveis) adaptado de BEERDA *et al.*, (1998), agrupados por categorias.

Categorias/Comportamentos	Descrição
Mudanças de estados de locomoção	Mudanças de um estado em movimento para outro (p.ex. andar → correr)
1. Sentar	Ficar sentado sobre os membros posteriores
2. Andar em círculos	Andar continuamente em círculos curtos
Mudanças de postura	
3. Auto-catação	Comportamento de lambar, coçar ou morder dirigido a partes do próprio corpo
4. Ficar em repouso com a cabeça para baixo e relaxada	
5. Ficar em repouso com a cabeça para cima	
6. Postura de pé	
7. Lamber o assoalho	
8. Coçar-se	
9. Escavar	Arranhar o assoalho com as patas dianteiras
10. Abanar a cauda	
Vocalizar	Choraminger, latir e uivar
11. Chorar	
12. Grunhidos	
13. Latir	
Comportamentos orais	
14. Língua para fora	Colocar a língua exposta
15. Mastigar	
16. Salivar	
17. Lamber lábios	
Manipulações no meio ambiente	Brincar ou apresentar interações estereotipadas com elementos do meio ambiente
18. Defecar	
19. Urinar	
Outros	
Agredir (*)	Vocalizar e tentar morder o tosador
Não agredir (*)	Não emitir vocalização ou postura agressiva direcionada ao tosador

*Os itens acima indicados não fazem parte da tabela original e foram incluídos para permitir a análise da relação entre a agressão do cão nos procedimentos e agressão ao proprietário investigada no questionário do Anexo II.

5. Resultados

5.1 – Avaliação da resposta do sistema endócrino

5.1.1 - Variação das concentrações plasmáticas de cortisol entre a 1ª e a 2ª coletas nos dois grupos experimentais

A concentração de cortisol entre as primeiras e segundas coletas nos dois dias de observação não diferiram estatisticamente e são mostrados na Figura 1. Por este motivo, os dados do cortisol das primeiras e segundas coletas obtidas nos dois dias foram somados e analisados conjuntamente e considerados como coleta um (C1) e coleta dois (C2) respectivamente. Após a análise das amostras conjuntamente foi observado que a concentração plasmática de cortisol apresentou aumento significativo entre a 1ª. e 2ª coleta apenas para os animais do grupo 1 (Figura 2) (grupo1: 1ª. coleta = $0,84 \pm 0,53 \mu\text{g/dl}$; 2ª. coleta = $1,44 \pm 1,35 \mu\text{g/dl}$; $p < 0,01$). No grupo 2 não foi encontrada diferença significativa entre as coletas (grupo 2: 1ª. coleta = $1,10 \pm 1,16 \mu\text{g/dl}$; 2ª. coleta = $1,15 \pm 0,82 \mu\text{g/dl}$, $p = 0,3$).

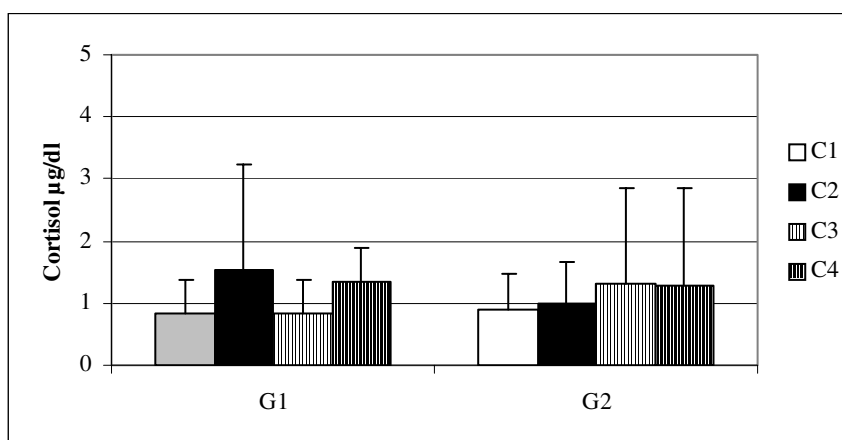


Figura 1 - Concentrações médias de cortisol plasmático (+DP) apresentados de cães da raça poodle familiarizados (G1) ou não familiarizados (G2) ao ambiente de banho e tosa. C1 e C2 = primeira e segunda coletas no primeiro dia e C3 e C4 = primeira e segunda coletas no segundo dia do experimento, respectivamente.

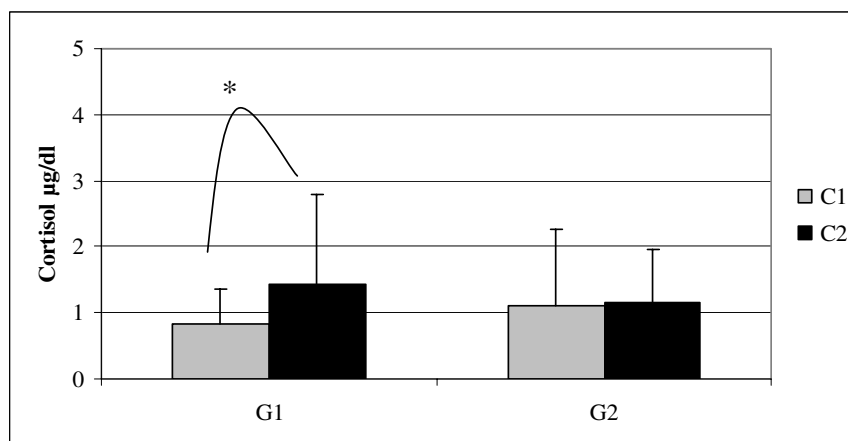


Figura 2 - Concentrações médias de cortisol plasmático (+DP) obtidos a partir dos valores das primeiras (C1) e segundas (C2) coletas, conjuntamente, dos dois dias, nos 2 grupos experimentais. Teste Wilcoxon, * $p < 0,01$.

5.1.2 Concentrações de cortisol plasmático entre grupos

Para comparação das concentrações de cortisol entre os grupos foi utilizado o teste de U de Mann Whitney que não evidenciou diferença significativa nas Concentrações de cortisol entre eles nas quatro coletas (**Tabela 1**).

Tabela 1 - Resultados da análise estatística na comparação das concentrações de cortisol entre os grupos experimentais nas 4 coletas. Teste U de Mann-Whitney.

	1 ^a coleta G1xG2	2 ^a . coleta G1xG2	3 ^a . coleta G1xG2	4 ^a . coleta G1xG2
Cortisol µg/dL	P= 0,8	P= 0,3	P= 0,4	P= 0,7

5.1.3 Influência da familiaridade com o tosador na resposta hormonal dos cães

Quando a resposta hormonal foi analisada em relação à familiaridade com o tosador os grupos G1 e G2 foram considerados. De acordo com a Figura 3A e 3B observou-se um aumento significativo nos níveis de cortisol no cortisol apenas para os animais do grupo 1 (3A) quando o tosador era estranho (C1= $0,87 \pm 0,57 \mu\text{g/d}$ e C2= $1,80 \pm 1,58 \mu\text{g/d}$, $p < 0,01$). Não foram encontradas diferenças estatísticas entre tosadores estranhos do sexo masculino e feminino no grupo 2.

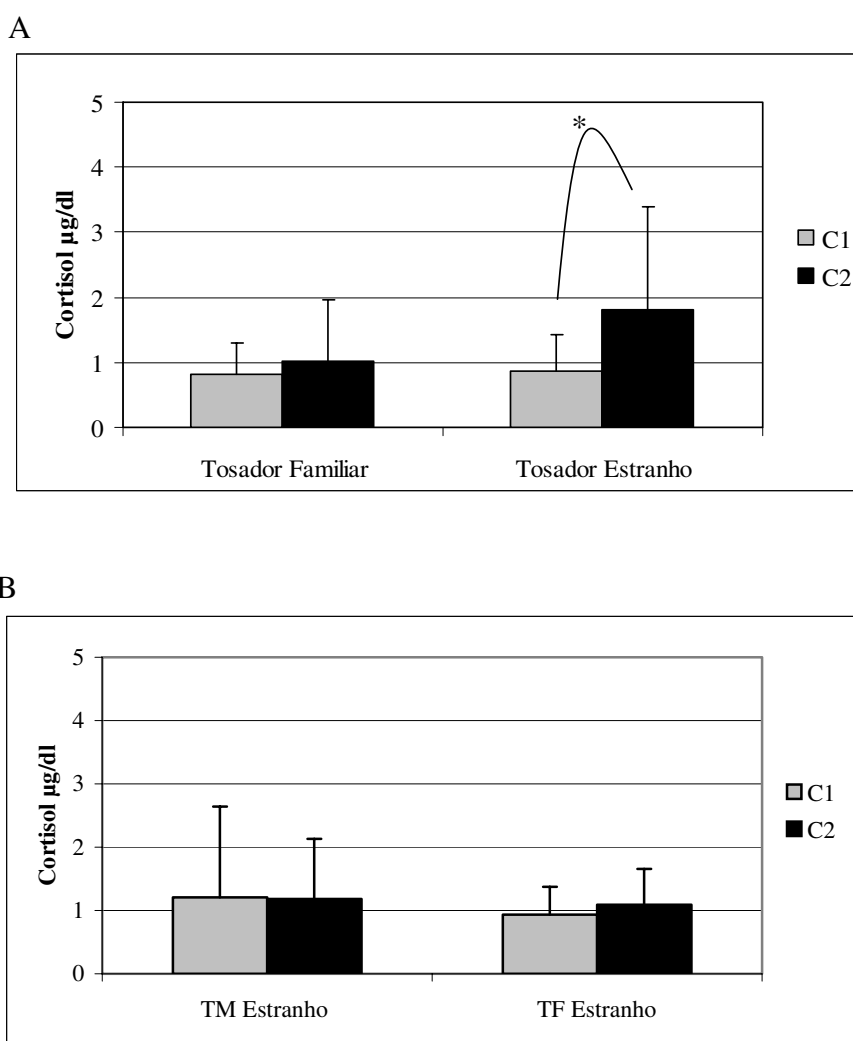
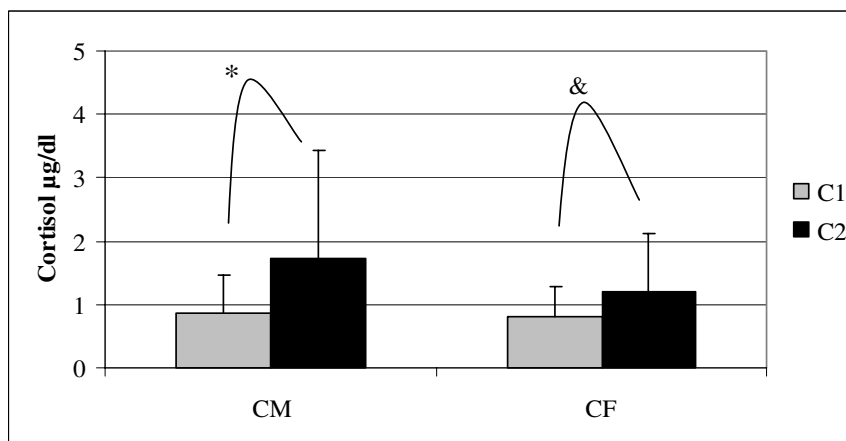


Figura 3 - Concentrações médias de cortisol plasmático apresentadas pelos cães nas C1 e C2 quando manipulados por tosador familiar (TF) ou estranho (TE), nos grupos G1 (A) e Tosador Estranho Macho e Tosador Estranho Fêmea em G2 (B). * Teste de Wilcoxon, $p < 0,01$.

5.1.4 Influência do sexo do cão nas concentrações plasmáticas do cortisol

Quando as concentrações de cortisol foram comparadas em relação ao sexo dos animais, dentro dos 2 grupos experimentais, entre as coletas 1 e 2, foi verificada para o grupo 1 diferença significativa para os cães de sexo masculino (C1= $0,87 \pm 0,59 \mu\text{g/d}$; C2= $1,72 \pm 1,70 \mu\text{g/d}$, $p < 0,01$) (Figura 4A). Entre as fêmeas foi encontrada uma tendência de diferença significativa (C1 = $0,81 \pm 0,48 \mu\text{g/dl}$; C2= $1,20 \pm 0,93 \mu\text{g/dl}$; $p = 0,06$). Para o grupo 2 não foi identificada diferença significativa nem para os cães do sexo masculino nem do sexo feminino (Fêmeas: C1= $1,41 \pm 1,63 \mu\text{g/dl}$; C2= $1,29 \pm 0,93 \mu\text{g/dl}$, $p = 0,8$); Machos: C1= $0,87 \pm 0,53 \mu\text{g/dl}$; C2 = $1,04 \pm 0,73 \mu\text{g/dl}$; $p = 0,2$) (Figura 4B).

A - Familiarizado



B – Não familiarizado

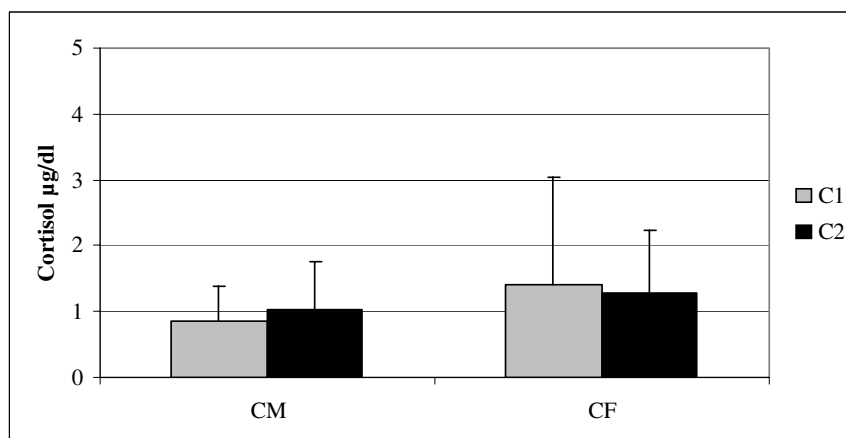


Figura 4 – Concentrações médias (\pm DP) de cortisol de cães da raça poodle do sexo masculino (CM) e do sexo feminino (CF) entre a primeira (C1) e segunda (C2) coletas, para o G 1 (A-familiarizado), G 2 (B- não familiarizado). Teste Wilcoxon, * diferença significativa entre as coletas, $p < 0,01$; & tendência $p = 0,06$.

5.2 - Avaliação da resposta do sistema imune

5.2.1 Avaliação das contagens de células entre as coletas

Na comparação geral entre os valores da contagem total de leucócitos/ mm^3 para os 2 grupos experimentais observou-se uma diferença estatisticamente significativa apenas no grupo 2, entre as segundas coletas (C1= $13,03 \pm 4,96$; C2= $12,25 \pm 4,97$; C3= $13,79 \pm 3,41$ e C4= $14,66 \pm 4,81$) (Figura 5).

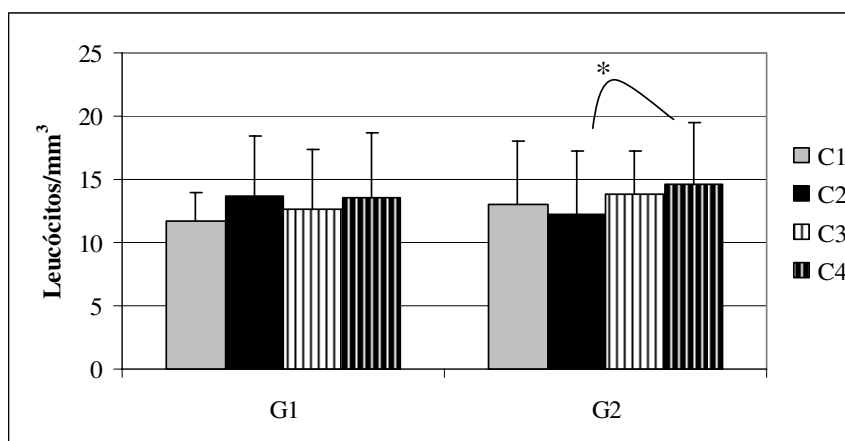


Figura 5 - Contagem total de leucócitos/ mm^3 dos grupos experimentais 1, e 2 nas quatro coletas feitas nos dois dias de observação.

Em relação aos valores relativos de neutrófilos e leucócitos não foram observadas diferenças estatísticas entre as 4 coletas (Figuras 6 e 7).

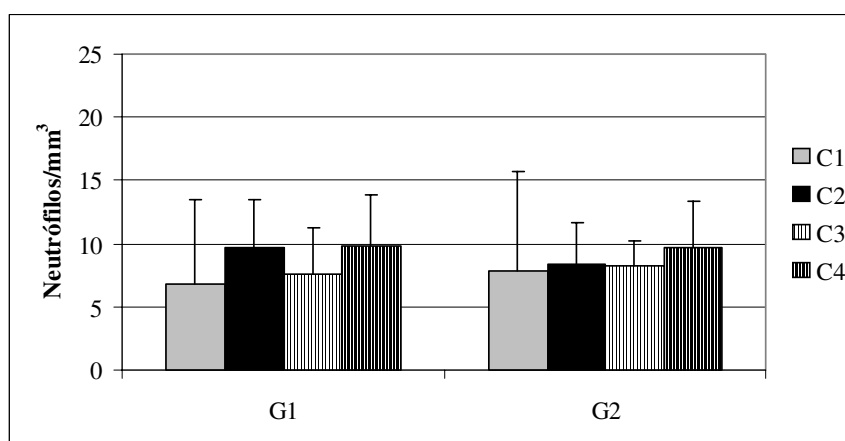


Figura 6 - Contagem total de neutrófilos/ mm^3 dos grupos experimentais 1, e 2 nas quatro coletas feitas em dois dias de observação.

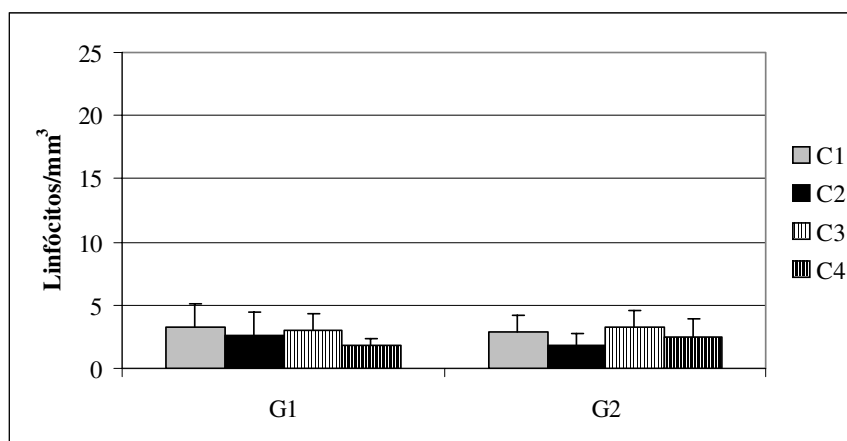


Figura 7 - Contagem total de linfócitos/mm³ dos grupos experimentais 1, e 2 nas quatro coletas feitas em dois dias de observação.

Na contagem relativa de neutrófilos dos grupos experimentais 1 e 2 nas quatro coletas feitas em dois dias de observação não foi encontrada diferença significativa (Figura 8). No grupo 1 foi encontrada diminuição significativa na contagem relativa de linfócitos entre a segunda coleta do primeiro em relação ao segundo dia ($p= 0,04$) (Figura 9).

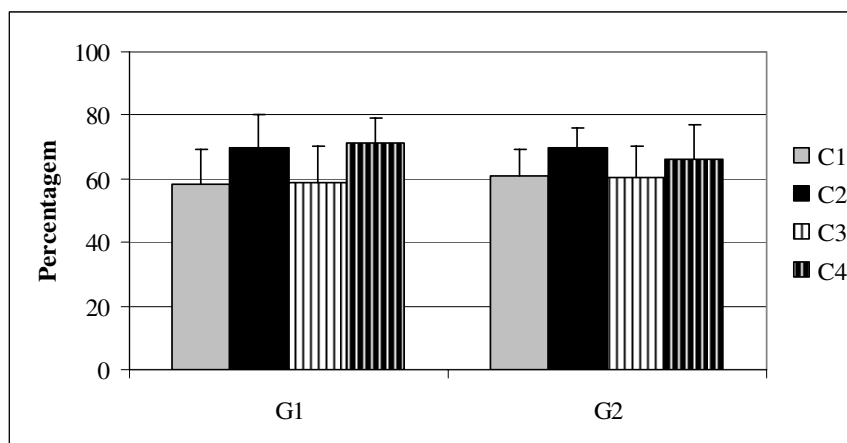


Figura 8 - Contagem relativa de neutrófilos dos grupos experimentais 1, e 2 nas quatro coletas feitas em dois dias de observação.

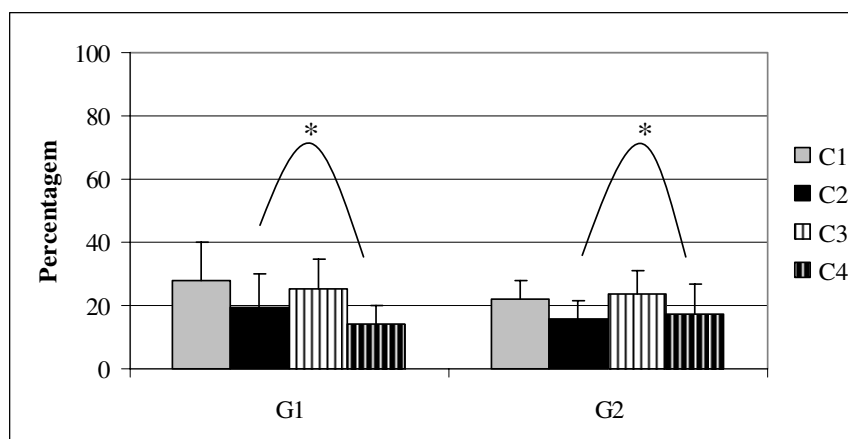


Figura 9 - Contagem relativa de linfócitos dos grupos experimentais 1, e 2 nas quatro coletas feitas em dois dias de observação.

Considerando que não foram encontradas diferenças estatísticas entre as contagens de neutrófilos entre as primeiras e segundas coletas, à semelhança da análise realizada para o cortisol, os valores dos dois dias foram analisados conjuntamente. Conforme apresentado na Figura 10, mesmo na análise dos dados realizada conjuntamente não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre a primeira e segunda coletas.

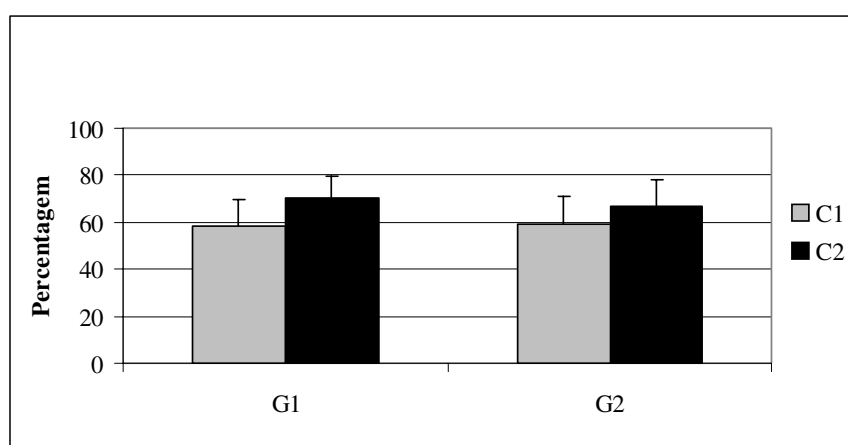


Figura 10 - Contagem relativa de neutrófilos usando os valores das primeiras e segundas coletas conjuntamente nos 2 grupos experimentais.

5.2.2 Influência da familiaridade com o tosador na contagem das células do sistema imune

A contagem global de leucócitos não apresentou diferença significativa da primeira (C1) para a segunda coleta (C2) nos animais manipulados por tosador familiar ou estranho nos grupos 1 e 2 (Figura 11).

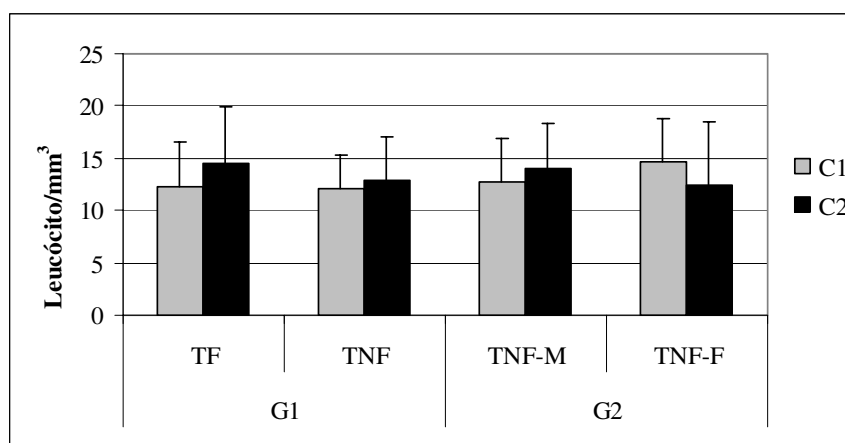


Figura 11 - Valores médios da contagem total de leucócitos/mm³ considerando os resultados das primeiras (C1) e segundas (C2) coletas conjuntamente, em relação à familiaridade e sexo do tosador, nos grupos experimentais G1 e G2. TF= tosador familiar; TNF= tosador não familiar; TNF-M= tosador não familiar macho e TNF-F= tosador não familiar fêmea.

A contagem relativa de neutrófilos apresentou diferença significativa da primeira para a segunda coleta nos animais manipulados por tosador tanto familiar como não familiar no grupo 1 e tosadores não familiares do sexo masculino e feminino no grupo 2.

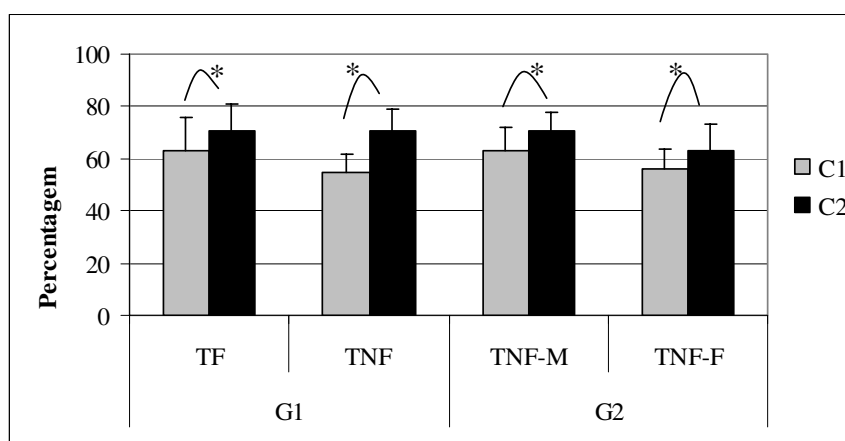


Figura 12 - Valores percentuais médios da contagem relativa de neutrófilos considerando as primeiras coletas (C1) e segundas (C2) coletas conjuntamente, em relação à familiaridade e sexo do tosador nos grupos experimentais G1 e G2. TF= tosador familiar; TFN= tosador não familiar; TNF-M= tosador não familiar macho e TF-F= tosador não familiar fêmea.

A contagem relativa de linfócitos apresentou diferença significativa da primeira para a segunda coleta nos animais manipulados por tosador familiar e não familiar no Grupo 1 e por tosadores não familiares do sexo masculino e feminino, respectivamente, no Grupo 2 (Figura 13).

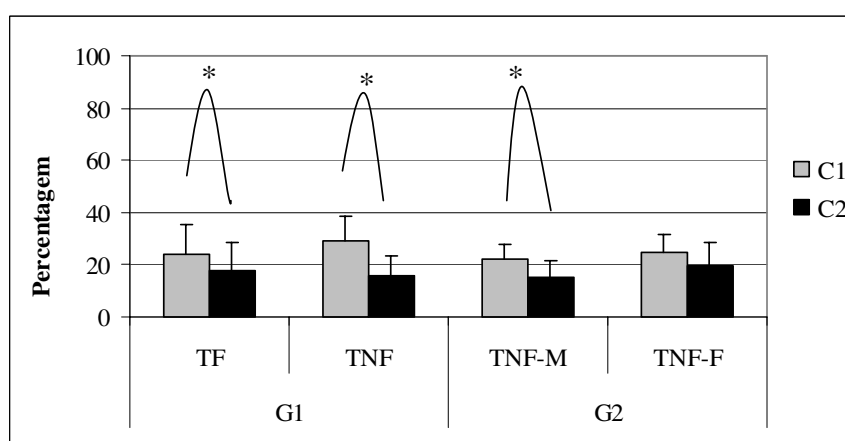


Figura 13 - Valores médios da contagem relativa de linfócitos considerando as primeiras (C1) e segundas (C2) coletas conjuntamente, em relação a familiaridade com o tosador nos grupos experimentais G1 e G2. TF= tosador familiar; TFN= tosador não familiar; TNF-M= tosador não familiar macho e TF-F= tosador não familiar fêmea.

5.2.3 Influência do sexo do cão na contagem das células do sistema imune

A contagem global de leucócitos não apresentou diferença significativa da primeira para a segunda coleta nos animais quando comparados por sexo, nos grupos 1 e 2 (Figura 14).

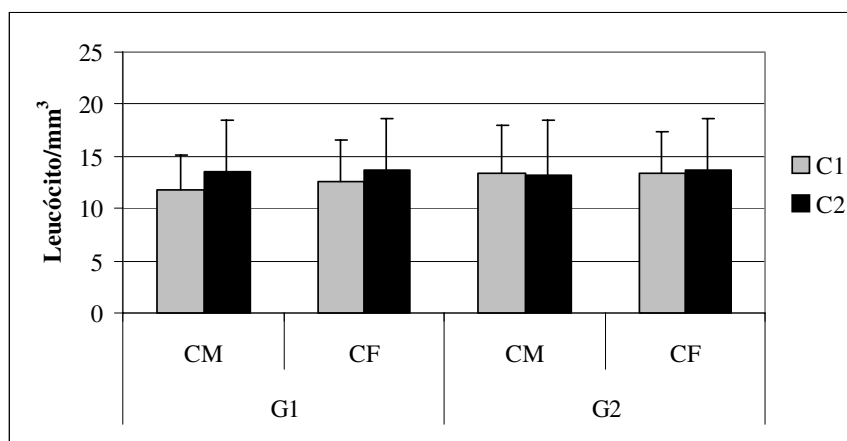


Figura 14 - Valores médios da contagem total de leucócitos/mm³ considerando os resultados das primeiras (C1) e segundas (C2) coletas conjuntamente, em relação ao sexo dos cães, nos grupos experimentais G1 e G2. CM= cão macho; CF= cão fêmea.

Por outro lado, a contagem relativa de neutrófilos (Figura 15) apresentou diferença significativa entre a primeira e segunda coletas nos cães machos e fêmeas nos grupo 1 (cães machos: C1= $60,06 \pm 9,22$; C2= $73,94 \pm 5,07$, $p < 0,01$; cães fêmeas C1= $57,56 \pm 12,0$; C2= $67,78 \pm 10,85$, $p < 0,01$) e 2 (cães machos: C1= $60,11 \pm 7,31$ C2= $66,33 \pm 10,22$, $p < 0,01$; cães fêmeas: C1= $61,21 \pm 10,85$ C2= $69,64 \pm 7,00$, $p < 0,01$).

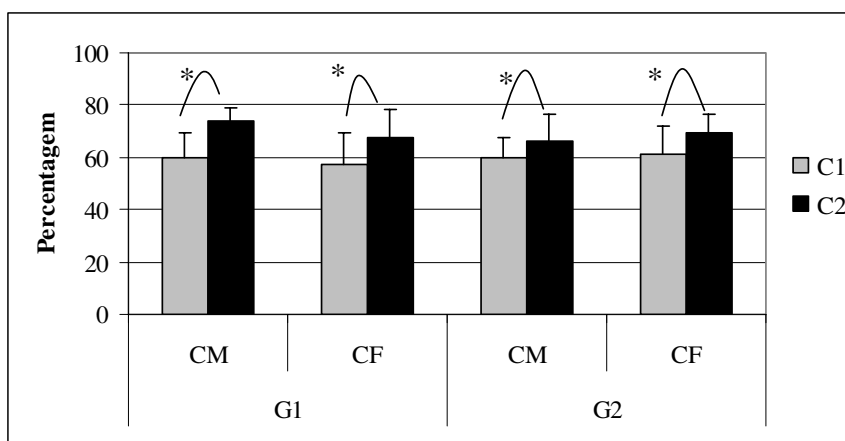


Figura 15 -Valores médios da contagem relativa de neutrófilos considerando as primeiras coletas (C1) e segundas (C2) coletas, em relação ao sexo do cão nos grupos experimentais G1 e G2. CM= cão macho; CF= cão fêmea. * Teste de Wilcoxon, $p < 0,01$.

A contagem relativa de linfócitos apresentou diferença estatística significativa da primeira para a segunda coleta nos cães machos e fêmeas, nos grupos 1 (cães machos: $C1 = 22,81 \pm 8,43$; $C2 = 13,38 \pm 4,86$, $p < 0,01$; cães fêmeas: $C1 = 30,06 \pm 11,42$ $C2 = 20,17 \pm 10,27$, $p < 0,01$) e grupo 2 (cães machos: $C1 = 23,78 \pm 6,75$; $C2 = 17,22 \pm 9,38$, $p < 0,01$; cães fêmeas: $C1 = 21,79 \pm 6,08$; $C2 = 15,93 \pm 4,95$, $p < 0,01$) (Figura 16).

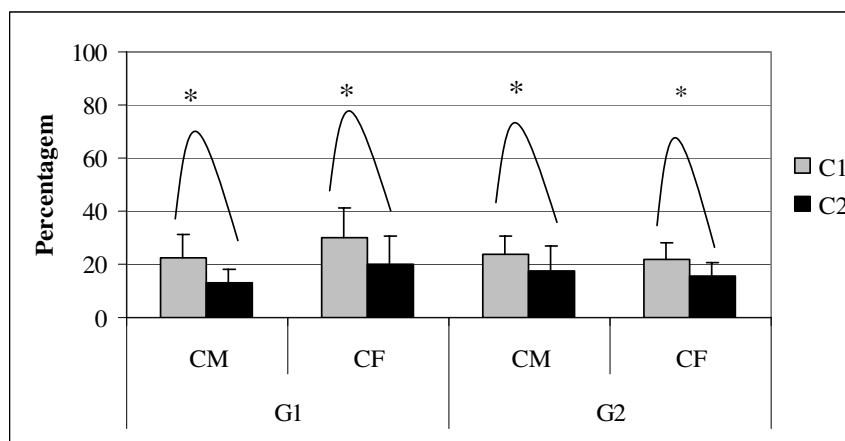


Figura 16 - Valores médios da contagem relativa de linfócitos considerando as primeiras (C1) e segundas (C2) coletas conjuntamente, em relação ao sexo do cão nos grupos experimentais G1 e G2. CM= cão macho; CF= cão fêmea. * Teste de Wilcoxon, $p < 0,01$.

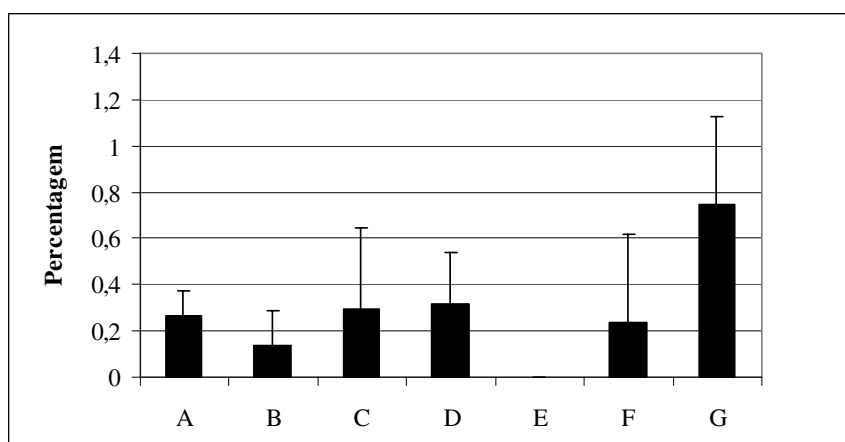
5.2.4 Correlação entre células do sistema imune e cortisol

Não foram encontradas correlações entre cortisol e células do sistema imune nas duas coletas para os animais dos grupos 1, enquanto para os animais do grupo 2 foi encontrada uma correlação positiva de 37% (Spearman, $p = 0,03$) entre linfócitos e cortisol para os valores obtidos na segunda coleta.

5.3. Avaliação da resposta comportamental

Nas figuras 17 e 18 são apresentados os perfis da atividade comportamental dos cães dos grupos 1, e 2 nas primeiras (17A e 18A) e segundas (17B e 18B) sessões de observação, respectivamente. Os perfis nas duas sessões foram similares nos dois grupos. Observa-se também a ausência de expressão dos comportamentos da categoria E em ambas as sessões de observação no grupo 1, e na segunda sessão do grupo 2, que compreende comportamentos de beber, defecar e urinar.

A-Primeira coleta G1



B – Segunda coleta G1

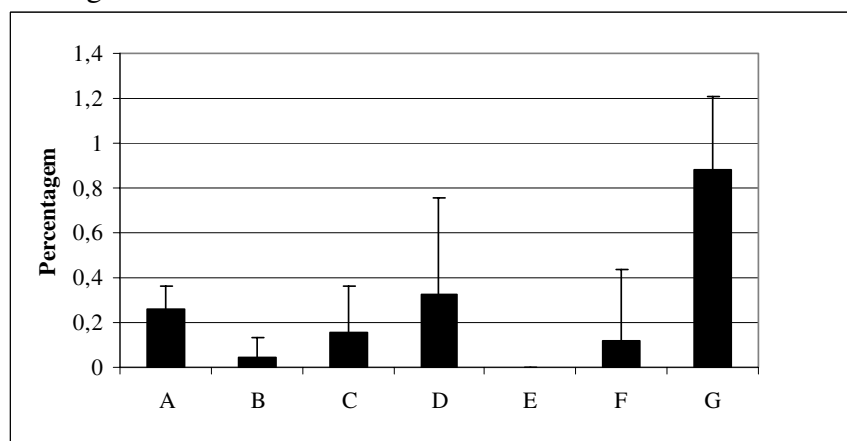
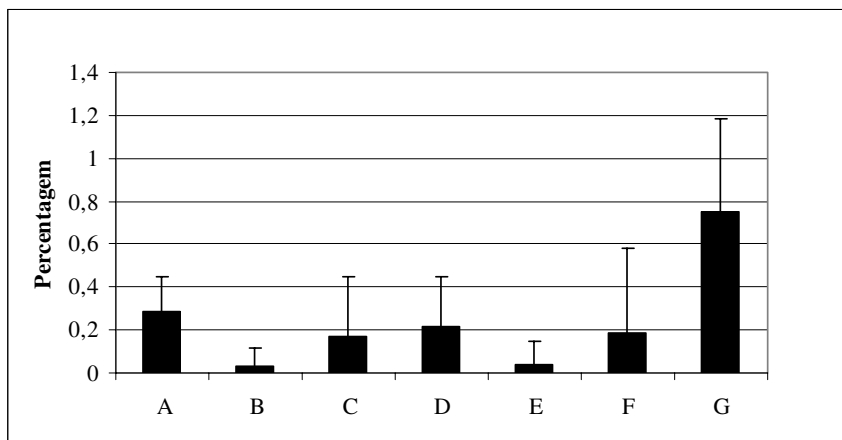


Figura 17 - Comportamentos observados pelos animais de ambos os sexos do grupo G1 (Familiarizado), no dia da primeira (A) e segunda (B) coleta de dados. Categorias comportamentais: A= Andar, sentar, andar em círculos auto-catação, repouso com cabeça baixa, repouso com cabeça para cima e postura de pé; B= lamber o assoalho, coçar-se, correr, escavar e abanar a cauda; C= choramingar, grunhir, latir; D= Língua para fora, mastigar, salivar, lamber os lábios; E= beber, defecar e urinar; F= agredir e G= não agredir.

A - Primeira coleta G2



B-Segunda coleta G2

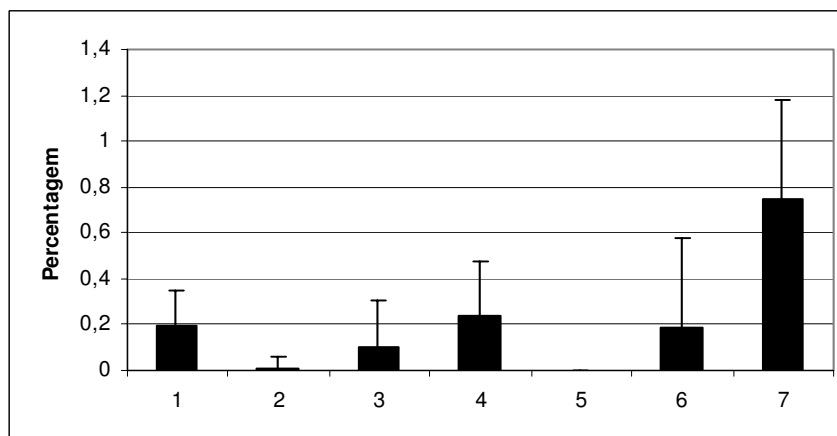


Figura 18 - Comportamentos observados pelos animais de ambos os sexos do grupo G2 – Não familiarizado, no dia da primeira (A) e segunda (B) coleta de dados. Ver legenda da Figura 17 para definição das categorias comportamentais representadas pelas letras A, B, C, D, E, F e G.

5.3.1 Correlação da concentração de cortisol plasmático com os comportamentos observados

Foi testada a correlação entre as concentrações de cortisol da primeira coleta e segunda coleta com cada comportamento, cujos valores são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Correlações estatisticamente significativas entre as concentrações de cortisol na primeira e segunda coleta de sangue realizadas, respectivamente, imediatamente antes da observação e após os procedimentos de banho e tosa, nos dois dias de experimento, nos animais dos grupos experimentais 1 e 2.

Comportamentos (*)	A	B	C	D	E	F	G
Grupo 1							
1ª. Sessão Coleta 1				rs= 0,50 p= 0,04			
1ª. Sessão Coleta 2				rs= 0,50 p= 0,03		rs= 0,50 p= 0,03	rs= -0,50 p= 0,03
2ª. Sessão Coleta 2				rs= 0,60 p= 0,01			
Grupo 2							
1ª. Sessão Coleta 1				rs= -0,50 p = 0,03			

(*) A= andar, sentar, andar em círculos auto-catação, repouso com cabeça baixa, repouso com cabeça para cima e postura de pé; B= lambar o assoalho, coçar-se, escavar e abanar a cauda; C= choramingar, grunhir, latir; D= língua para fora, mastigar, salivar, lambar os lábios; E= beber, defecar e urinar; F= agredir e G= não agredir.

5.3.2 Influência do sexo no perfil comportamental

O perfil comportamental de machos e fêmeas foi semelhante na maioria das categorias comportamentais registradas para o Grupo 1, com exceção da categoria comportamental “C” (choramingar, grunhir, latir). Neste caso foi encontrada diferença estatística significativa em ambos os dias de observação (1ª. Sessão: U= 11, p= 0,02 e 2ª. Sessão: U= 13, p= 0,03) com os machos apresentando valores mais elevados do que as fêmeas, como ilustrado na Figura 19.

Como descrito na sessão anterior a categoria de comportamentos “E” não foi expressa por nenhum dos sexos.

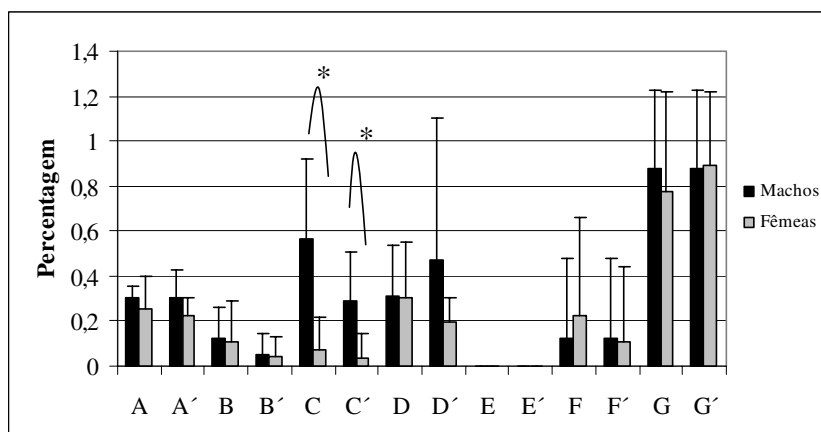


Figura 19 - Perfil comportamental de machos e fêmeas do Grupo 1 na primeira e segundas sessões de observação (letra e letra,linha), respectivamente. Ver legenda da Figura 17 para definição das categorias comportamentais representadas pelas letras A, B, C, D, E, F e G. * Teste U de Mann-Whitney, $p < 0,05$.

Os perfis comportamentais de machos e fêmeas do grupo 2 são apresentados na Figura 20. Algumas categorias comportamentais foram expressas apenas por um dos sexos, com apenas os machos apresentando comportamentos da categoria “F” na primeira sessão de observação e nas categorias “B e C” na segunda sessão. Apenas as fêmeas expressaram comportamentos da categoria “E” (urinar) na primeira sessão de observação. Foi encontrada diferença estatística significativa entre os sexos para a categoria “A” na segunda sessão de observação ($U = 11,5$, $p = 0,03$) onde machos apresentaram média superior aquela das fêmeas.

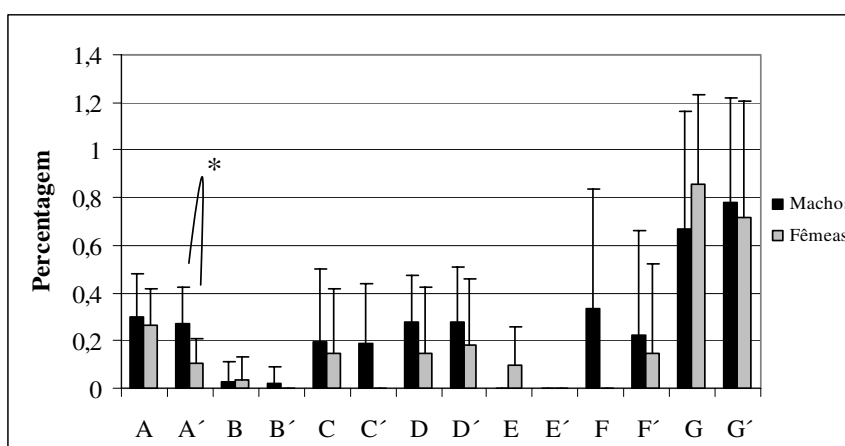


Figura 20 - Perfil comportamental de machos e fêmeas do grupo 2 na primeira e segundas sessões de observação (letra e letra,linha), respectivamente. Ver legenda da Figura 17 para definição das categorias comportamentais representadas pelas letras A, B, C, D, E, F e G.

5.4 Agressividade

Dos trinta e três animais experimentais, nove deles (27,3%) mordeceram o tosador durante o procedimento, sendo quatro pertencentes ao grupo 1 e cinco ao grupo 2. Em relação ao sexo do animal, cinco (55,6%) eram machos e quatro (44,4%) fêmeas. Do total de animais agressivos, cinco (80,0%) já haviam sido relatados pelos proprietários como agressivos.

5.4.1 Relação dos comportamentos agressivos dos cães durante o período de banho e tosa com agressividade aos proprietários

Na Tabela 3 são apresentados os registros de comportamentos agressivos de cães de ambos os sexos direcionados aos tosadores bem como a referência à agressividade direcionada aos proprietários. Dos cinco cães indicados pelos

proprietários como mordedores apenas um não apresentou comportamento agressivo durante o procedimento.

Tabela 3 - Dados referentes ao sexo dos cães e dos tosadores e registros de agressividade ao tosador e ao proprietário.

Animal	Sexo do tosador	Agressão ao tosador	Agressão ao proprietário
<i>Fêmeas</i>			
7	M	Sim	Não
16	F	Sim	Não
32	M	Sim	Sim
34	M	Sim	Sim
15	F	Não	Sim
<i>Machos</i>			
12	F	Sim	Não
18	M	Sim	Sim
13	F	Sim	Sim
22	M	Sim	Não
31	F	Sim	Não

6. Discussão

A reatividade ao estresse compreende alterações endócrinas, imunológicas e comportamentais apresentadas entre a fase anterior e posterior ao evento estressor. O cortisol é considerado o principal indicador de alteração no estado fisiológico em resposta ao estresse nos mamíferos incluindo os cães (KIRSCHBAUM & HELLAMMER, 1989). A elevação das concentrações de cortisol é esperada em estresse agudo após os primeiros 4 minutos. Cães testados em situações desafiadoras como ruídos fortes, abertura de sombrinhas entre outros estressores apresentaram comportamentos orais e mudanças de postura como sinais de estresse (KOBELT, 2003).

O aumento do nível de cortisol provocado pelo estresse agudo atua de forma significativa nos mecanismos da imunidade tecidual elevando o número de leucócitos na circulação periférica (DHABHAR & McEWEN, 1997). Ao contrário do que se acreditava numa situação de estresse agudo, o sistema imune sofre uma estimulação aumentando a contagem de leucócitos (BROUGHOLUB & KRAAL, 1996). A neutrofilia observada deve-se ao recrutamento destas células para os locais de prováveis injúrias que possam ocorrer durante a exposição ao evento estressante (DHABHAR, 2002).

Aumento de posturas como abrir a boca, comportamentos orais e posturas corporais abaixadas constituem indicações de estresse agudo. Respostas comportamentais podem estar relacionadas ao estímulo administrado. Quanto maior e mais importante o significado biológico do estímulo para aquele indivíduo, maiores serão as mudanças comportamentais (BEERDA, 1998).

6.1 Familiaridade ao ambiente de banho e tosa

No presente estudo, com relação ao perfil endócrino, imunológico e comportamental, os cães demonstraram respostas diferentes entre o grupo formado por cães familiarizados e não familiarizados ao ambiente de tosa e banho. Os cães familiarizados (Grupo 1) ao ambiente de banho e tosa apresentaram indicadores fisiológicos e comportamentais compatíveis com o estresse provocado pelo

procedimento e não com relação ao ambiente. Estes animais mostraram um aumento significativo nos níveis de cortisol entre as primeiras e segundas coletas indicando que, provavelmente, a elevação hormonal ocorreu pós-procedimento. Quando estes resultados levaram em consideração o sexo dos animais, foi encontrado que os machos apresentam uma resposta mais intensa do que as fêmeas.

Trabalhos realizados com primatas do Novo Mundo (SMITH & FRENCH, 1997) encontraram elevação nos níveis de cortisol quando os animais foram transferidos para um ambiente novo. Nesta situação os machos também elevam significativamente mais o cortisol urinário do que as fêmeas. Em *Callithrix jacchus* um padrão de resposta semelhante também foi evidenciado por SOUSA *et al* (2002), e os autores sugerem que as fêmeas respondem menos a mudança ambiental por serem os animais que emigram mais frequentemente do grupo natal no ambiente natural.

Em cães, por se tratarem de animais domésticos e formarem grupos com humanos, a situação de emigrar do grupo não pode ser caracterizada. Todavia, registros de emigração são próprios de outras espécies de carnívoros (lobos, coiotes e raposas) (BUDLLE & RYPSTRA, 2003) sugerindo que esta resposta tenha sido selecionada como parte da história ancestral dos canídeos.

Os cães do Grupo 1 - familiarizados, apresentaram também diferenças significativas nos comportamentos de vocalização quanto ao sexo, com os machos vocalizando mais do que as fêmeas. Estas vocalizações por parte dos machos podem estar relacionadas ao estresse, ou ao fato que cães machos são mais frequentemente dominantes (duas e meia vezes mais) do que as fêmeas (BEAVER, 2001). Em espécies sociais de primatas não humanos (*Macaca nemestrina*: GOUZOULES & GOUZOULES, 1989) a vocalização pode favorecer o reconhecimento vocal na formação de alianças onde indivíduos podem recrutar aliados caso necessitem de ajuda.

Os cães do Grupo 2 – não familiarizados, não apresentaram alterações entre a primeira e segunda coletas para o cortisol sugerindo que este hormônio poderia já estar elevado na primeira coleta em resposta ao ambiente novo. Embora os valores obtidos na primeira coleta nos animais do Grupo 1 e 2 não tenham diferido significativamente, a concentração de cortisol para os animais não familiarizados foi mais elevada do que

a dos animais do grupo 1. JERICO *et al.* (2002) descreveu que os cães mostram uma grande variabilidade individual nos níveis basais de cortisol bem como respondem dentro de uma larga faixa de variação aos agentes estressores. Todavia, como não há na literatura dados disponíveis sobre variação nos níveis de cortisol em cães da raça poodle diante de situações desafiadoras, são necessárias investigações adicionais para estabelecer se as modificações diante destas implicaria em elevações significativas no cortisol.

Os cães não familiarizados (Grupo 2) apresentaram correlação negativa entre mudanças de comportamento e níveis de cortisol, ou seja, quanto menores os níveis de cortisol mais estes se movimentaram. Segundo BEERDA (1998) cães estressados apresentam posição corporal de agachamento freqüentemente e esta pode ser devido à manutenção de posições de submissão frente a um ambiente imprevisível.

Embora os perfis de resposta em relação ao quadro hormonal e comportamental dos cães dos grupos 1 e 2 tenham diferido, a resposta do sistema imune foi semelhante, tendo sido observado aumento de neutrófilos com diminuição de linfócitos, resposta que pode ser caracterizada, em ambos, como de estresse agudo. Todavia, do ponto de vista comportamental, os animais do Grupo 1 apresentaram respostas relacionadas ao estresse moderado e os do Grupo 2 ao estresse agudo de acordo com BEERDA (1998).

Em seu conjunto, os cães familiarizados e não familiarizados apresentaram repostas diferentes entre si quando comparados em relação aos níveis de cortisol e aos comportamentos expressados. Estes resultados confirmam a primeira hipótese do presente estudo, sugerindo que os animais não familiarizados ao ambiente de tosa e banho (Grupo 2) já expressavam alterações relacionadas ao estresse antes dos procedimentos de banho e tosa.

6.2 Diferença entre os sexos na resposta ao ambiente e ao tosador

Machos e fêmeas do Grupo 2 foram desafiados em dois componentes do modelo, o ambiente e o tosador estranho. Os cães do grupo familiarizado foram desafiados apenas em relação ao tosador estranho. Diferenças entre os sexos na maioria dos estudos estão relacionadas à posição social e a hierarquia de dominância

entre ou inter grupos (WELLS et al., 1999). Neste estudo, foram analisadas as respostas de cães machos e fêmeas em relação à resposta ao ambiente novo e a um tosador estranho.

Os animais do grupo familiarizado ao ambiente apresentaram respostas diferentes com relação ao nível de cortisol entre os sexos, com os machos apresentando um aumento significativo mais marcante entre as coletas um e dois do eu as fêmeas. Em relação ao sistema imune, machos e fêmeas mostraram respostas leucocitárias semelhantes, com aumento relativo de neutrófilos e linfócitos.

Do ponto de vista comportamental, para os grupos dos animais familiarizados e não familiarizados, os machos vocalizaram mais que as fêmeas e morderam mais que estas, o que demonstrou diferença entre os sexos na avaliação comportamental.

Ainda nos animais familiarizados com o ambiente (G1), os machos tosados por tosador estranho apresentaram elevação significativa de cortisol enquanto as fêmeas não. Estes dados estão em concordância com as argumentações de LORE (1986) onde machos e fêmeas relutam em estabelecer relações com estranhos, porém as fêmeas, ainda assim, interagem mais que machos. Estes dados também estão de acordo com o que diz WELLS et al. (1999) de que as fêmeas vocalizam menos para estranhos que os machos e, portanto, devem ser menos reativas.

Durante a estada no salão de beleza, a familiaridade com o tosador deve tamponar a resposta ao estresse aos procedimentos de banho e tosa, os quais por si só são estressantes na medida em que imobilizam os animais (RUKSTALIS & FRENCH, 2005). Portanto, a presença de um tosador familiar como suporte social deve diminuir a reação aos procedimentos, como é registrado para primatas não humanos (HENNESSY *et al.*, 1995) e humanos (KIRSCHBAUM *et al.*, 1995) onde indivíduos familiares ou aparentados diminuem a elevação do cortisol e a expressão de comportamentos sinalizadores de estresse diante de situações desafiadoras. Estas indicações sugerem que a capacidade cognitiva dos cães deve ser mais bem explorada em estudos experimentais como apontado por HARE & TOMASELLO (1999).

Com os resultados observados neste estudo pode-se também acrescentar às observações dos autores anteriormente mencionados em que, provavelmente, as fêmeas de cães, além de reagirem menos a seres humanos com os quais não estão

familiarizados, podem não elevar significativamente o cortisol nestas situações, enquanto os machos o fazem. Do ponto de vista evolutivo, os machos podem estar apresentando este padrão de maior reatividade às mudanças nas interações sociais inter-específicas a partir de adaptações que foram selecionadas como forma de desencadear a resposta de estresse agudo diante de situações adversas. Os machos dos demais canídeos não domesticados continuam a passar por diferentes desafios no ambiente natural para sobreviver como confrontos com co-específicos na busca por parceiros para o acasalamento e na atividade de caça para alimentar os filhotes (CREEL, 1997). Uma vez que a resposta aguda de estresse é positiva para o animal, pois lhe confere maior disponibilidade de energia para um possível confronto (SAPOLSKY, 2002), os cães estariam melhor adaptados a estas situações do que as fêmeas em cães da raça poodle.

Os cães não familiarizados com o ambiente (G2) não apresentaram alteração significativa no cortisol entre os sexos, embora os machos tenham aumentado os valores médios de cortisol na segunda coleta, o que talvez seja um indicativo de uma maior reatividade do que as fêmeas, que diminuíram os níveis de cortisol. Os cães de ambos os sexos do Grupo 2, da mesma forma que aqueles do Grupo 1, apresentaram variações semelhantes no quadro imunológico, correspondente a uma resposta inespecífica de estresse agudo, caracterizada por aumento nos neutrófilos e diminuição nos linfócitos.

Em resumo, os cães do sexo masculino e feminino apresentaram respostas diferentes quando comparados em relação à resposta endócrina (elevação do cortisol) e aos comportamentos expressados antes dos procedimentos de banho e tosa. Machos foram mais reativos que fêmeas ao ambiente e ao tosador não familiar, particularmente os machos do Grupo 1, corroborando a segunda hipótese do trabalho de que machos e fêmeas apresentariam perfis dimórficos diante de situações de estresse. Todavia, em relação à terceira hipótese não foi evidenciada a resposta mais acentuada nos animais do Grupo 2 quando comparados ao do grupo 1. Na verdade, os animais do Grupo 1, particularmente os machos, foram mais reativos, provavelmente por que além do traço relacionado a adaptações próprias da história evolutiva do sexo, os animais deste grupo foram pontualmente estimulados pela mudança apenas do tosador, e a resposta

aguda pode ser quantificada. No caso dos animais do Grupo 2, as mudanças ambientais associadas a não familiaridade do tosador nos dois sub-grupos podem ter mascarado as respostas deste grupo.

7. Agressividade

Ao chegar à vida adulta, o cão encontra seu lugar e função no grupo social a que pertence de acordo com seu equipamento biológico e interações com o ambiente. Durante a interação com o cão, o proprietário apresenta sinais, voluntários e involuntários, que podem ou não ser adequadamente compreendidos pelo animal. Na maioria das vezes o proprietário atribui a seu cão a capacidade de compreender o que está sendo falado (LANTZMAN, 2004).

Ao estabelecer relações sociais com o ser humano o cão comporta-se de acordo com o padrão típico da sua espécie. A maioria dos casos de agressividade de cães para proprietários tem sido atribuída a problemas com dominância, ou a tentativa do cão obter uma posição mais alta entre os membros do grupo social (VOITH, 1992).

Cães podem apresentar reações de agressividade por medo, dor ou dominância. Diferenças entre sexo do cão têm sido relacionadas à agressividade apresentada por cães durante o procedimento de banho e tosa (RAMOS et al., 2006), onde 56% dos animais agressivos sendo do sexo masculino. No estudo atual, 55,6% dos cães agressivos, foram do sexo masculino e do total de cães agressivos 66,7% são de sexo diferente do tosador. Não foram encontrados dados na literatura que fossem semelhantes a este. O trabalho de WELLS E HEPPEL (1999) descreve diferenças entre o gênero dos visitantes e o gênero dos cães. Demonstrando que cães do sexo masculino se mostraram mais agressivos que as fêmeas a seres humanos de ambos os sexos.

A hierarquia de dominância é o produto das diversas interações que ocorrem entre pares de animais no âmbito do grupo multi-espécie, com os pares podendo ser compostos por cão-cão ou cão-pessoa (LANTZMAN, 2004).

Foi observado um alto percentual de cães relacionados pelo proprietário como mordedores domésticos e que foram mordedores fora de seu domicílio (80%). Cães familiarizados e não familiarizados apresentaram agressividade, o que indica que não é o fato de estar ou não familiarizado ao ambiente que diminui a agressividade. Estes animais são possivelmente dominantes e devem estar expressando competição pela posição na hierarquia social. Os demais cães que apresentaram agressividade

(morderam) provavelmente estão entre os mordedores por dor ou medo, pois durante o procedimento alguns eventos são bastante dolorosos, como cortar unhas, por exemplo. RAMOS et al. (2006) relatou em seu trabalho que dos cães agressivos, 64% mordiam durante o procedimento de corte de unhas.

O cortisol foi um forte indicador de cães que iriam morder durante a manipulação, pois foi encontrada correlação positiva entre a agressividade e cortisol para os animais do Grupo 1. Para o grupo 2, embora um pouco mais da metade dos mordedores estejam neste Grupo, não houve correlação entre cortisol x mordida o que pode ser decorrente do fato de que neste Grupo os cães foram submetidos a dois estressores simultaneamente.

8. Conclusão

Cães familiarizados ao ambiente de banho e tosa elevaram significativamente o cortisol na segunda coleta sugerindo que o procedimento de banho e tosa foi estressante para os animais. Diante de um tosador estranho machos elevaram mais seu cortisol que fêmeas, demonstrando provavelmente uma maior reatividade que fêmeas. Com relação ao sistema imunológico não foram observadas diferenças entre os cães do Grupo 1 e Grupo 2.

A familiaridade do animal ao ambiente de tosa e banho e ao tosador se mostraram importantes para o bem-estar animal de cães da raça poddle, particularmente para os machos.

Cães não familiarizados (G2) apresentaram concentrações de cortisol semelhantes entre as coletas nos levando a crer que a situação estressante inicia-se com a chegada ao ambiente estranho e persiste durante todo o procedimento.

Cães machos e fêmeas do Grupo 2 quando desafiados no ambiente estranho com tosador estranho de ambos os sexos reagiram de modo semelhante as duas situações.

Agressividade

Os cães machos apresentaram mais comportamentos agressivos e maior frequência de vocalização em ambos os grupos.

Observou-se que morder o proprietário é um bom preditor de agressividade durante os procedimentos de banho e tosa.

9. Bibliografia

AINSWORTH M.D.S. (1969). Object relations, dependence and attachment: A theoretical review of the infant-mother relationship. *Child Develop.* 40: 969-1025.

BEAVER, B.V. (2001). Comportamento canino: *Um guia para veterinários*. Tradução Paulo Marcos Agria Oliveira; Editora Roca, SP pp 1-7.

BEERDA, B. SCHILDER, M.B. JANSEN, N.S. & MOL J. A. (1998). The use of saliva cortisol, urinary cortisol, and catecholamine measurements for a non invasive assessment of stress responses in dogs. *Horm. Behav.* 30: 272-279.

BEERDA, B. SCHILDER, M.B.H, van HOOFF, J.A.R.A.AM., De VRIES. H.W. & MOL, J.A. (1998). Behavioural, saliva cortisol and heart rate responses to different types of stimuli in dogs. *Appl. An. Behav. Sci.* 58: 365-381.

BEERDA, B., SCHILDER, M.B., Van HOOFF, J.A.R.A.M., De VRIES. H.W. & MOL, J.A. (1999). Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. I. Behavioral responses. *Physiol. Behav.* 66: 233-242.

BERNARD, P; DEMARET, A. (1996) Why have pets? Present and Permanent reasons. www.users.skynet.be Consulta em agosto/2006.

BOX , H.O. (2007). Bem-estar animal. Em: *Comportamento Animal*. M.E. Yamamoto & G.L. Volpato (orgs.) Editora da UFRN: Natal, pp. 249-270.

BOWLBY, J. (1958). The nature of the child' tie to his mother. *Int. J. Psychoanal.* 39:350-373.

BOWLBY, J. (1969). Attachment and loss: *Attachment* (Vol. 1). New York: Basic.

BROOM, D.M. (1986). Indicators of poor welfare. *Brit. Veter. Journal*, London 142: 524-526.

BROOM, D.M. (1996). Animal welfare defined in terms of attempts to cope with the environment. *Acta Scand. Anim. Sci. Suppl.* 27:22-28.

BROOM, D.M. & JOHNSON, K.G. (2000). Stress and animal welfare. Dordrecht, *Kluwer Academic Publishers*. 211 p.

BROUGHOLUB, E. & KRAAL, G. (1996). Dose and Time – dependent activation of rat alveolar macrophages by glucocorticoids. *Clin.Exper. Imm.* 104:332-336.

BUDLLE, C.M. & RYPSTRA, A.L.(1999). Factors initiating emigration of two wolf spider in a agroecosystem (Aranae: Lycosidae) *Environm. Entomol.* 32:88-95.

CLUTTON-BROCK, J. (1996). Origins of the dog domestication and early history. Em: *The Domestic Dog*, Serpell, I. (ed). Cambridge University Press: Cambridge, pp 8-20.

CONFEDERAÇÃO BRASILEIRA DE CINOFILIA (1999). *Fédération Cynologique Internationale* GRUPO 9 Padrão FCI 172 Padrão Oficial da Raça POODLE CANICHE.

CREEL, S. CREEL, N. M; MONFORT S. (1996) Social stress and dominance. *Nature* 379: 212.

CREEL, S., CREEL N.M., MILLS M.G.L., MONFORT, S.L. (1997) Rank and reproduction in cooperatively breeding African wild dogs: Behavioral and endocrine correlates. *Behavioral ecol.* 8(3):298-306.

CREEL, S F (2005) Dominance, aggression and glucocorticoid levels in social carnivores. *J. Mammal.* 86: 255-264.

DHABHAR, F.S. & McEWEN, (1997). Acute stress enhances while chronic stress suppress cell-mediated immunity in vivo: A potential role for leucocytes trafficking. *Brain Behav. Imm.* 11:286-306.

DHABHAR, F.S., SATOSKAR, A.R., BLUETHMAN, H., DAVID, J.R. & McEWEN, B.S.(2000) Stress-induced enhancement of skin immune function: A role for gamma interferon. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 97: 2846-51.

DHABHAR, F.S. AND MC EWEN, B.S. (2001) Bidirectional effects of stress and glucocorticoid hormones on immune function: Possible explanations for paradoxical observations. In R. Ader, D. L. Felten, and N. Cohen (eds) *Psychoneuroimmunology*, 3rd ed. Academic Press, San Diego.

DHABHAR, F.S. (2002). Stress-induced augmentation of immune function: The role of stress hormones, leukocyte trafficking and cytokines. *Brain, Behav. Imm.*, 16: 785-798.

ESTEP, D. e HETTS, S. (2002). www.animalbehaviorassociates.com Fear and Fobias. Reducing Stress in Pets at the Grooming or Veterinary Clinic. Raising a Behaviorally Healthy Puppy: A Pet Parenting Guide. Consulta 31.08.2006.

FARACO, C.B. & SEMINOTTI, N.A. (2004). A relação homem animal e a prática veterinária. *Revista CFMV*, 32: 57-62.

FOX, M: (1975). Pet owner Relations. *Pet animals and Society*. Bailliere Tindall. London p. 37.

FUCHS, H. (1988). O animal em casa – um estudo no sentido de desvelar o significado psicológico do animal de estimação. 185p. Tese (Doutorado). *Universidade de São Paulo*, São Paulo.

GOUZOULES H., GOUZOULES S. (1989). Design features and developmental modification of pigtail macaque, *Macaca nemestrina*, agonistic screams *Ani. Behav.* 37: 383-401.

HARE, B. & TOMASELLO, M. (1999). Domestic dogs (*Canis familiaris*) use human and conspecific social cues to locate hidden food. *Journal of Comparative Psychology.* 113, 1-5.

HEINRICHS, M., BAUGARTNER, T., & KIRSCHBAUM, C. (2003). Social support and oxytocin interact to suppress cortisol and subjective responses to psychosocial stress. *Biol. Psychiat.* 54: 1389-1398.

HENNESSY, M.B., MENDOZA S.P., MASON W.A. & MOBERG G.P. (1995). Endocrine sensitivity to novelty in squirrel monkeys and titi monkeys: species differences in characteristic modes of responding to the environment. *Physiol Behav.* 57: 331-338.

JERICO, M. M. MENDONÇA, B. B. de, OTSUKA, M. *et al.* (2002). Métodos de imunoenensaio não radiométricos (fluoroimunoenensaio (FIE) e enzimaimunoenensaio (EIE) e o radioimunoenensaio (RIE) na avaliação da função adrenal de cães normais e cães com hiperadrenocorticismo. *Cienc. Rural*, 32: 259-262.

KAUFMAN I. C., & ROSENBLUM, L.A.C. (1969). The waning of the mother-infant bond in two species of macaque Em: *Determinants of infant behaviour* Vol. 4 B.M. Foss.

KELLY, D.D (1991). Sexual differentiation of the nervous system. Em: *Principles of Neural Science.* E.R. Kandel, J.H. Schwartz e T.M Jessel (eds.). *Prentice-Hall*: New York, pp. 959-973.

KIRSCHBAUM C, KLAUER T, FILIPP SH & HELLHAMMER DH. (1995). Sex-specific effects of social support on cortisol and subjective responses to acute psychological stress. *Psychosom. Med.* J57: 23-31.

KIYOKAWA Y, KIKUSUI T, TAKEUCHI Y, MORI Y. (2004). Partner's stress status influences social buffering effects in rats. *Behav. Neurosci.* 118 : 798-804.

KIRSCHBAUM C. & HELLHAMMER D. (1989). Salivary cortisol in Psychobiological Research: An overview. *Neuropsychobiology*, 22:150-169.

KLEIN, S. L. (1997). Sex differences in immunocompetence differ between two *Peromyscus* species. *Am. J. Physiol.* 273. R655 – R 660.

KOBELT, A.J., HEMSWORTH, P.H. BARNETT, J.L. & BUTLER, K.L. (2003). Sources of sampling variation in saliva cortisol in dogs. *Res. Vet. Sci.* 75: 157-161.

KREBS, J.R & DAVIES, N.B. (1996). Introdução à ecologia comportamental. 3.ed. São Paulo : Atheneu, 418p.

LANTZMAN, M. (2004). O cão e sua família: Temas de amor e agressividade. 237p. Tese de doutorado. Pontifícia Universidade Católica de São Paulo.

LEVINSON, B. M. (1968). Interpersonal relationships between pet and human Being In: Abnormal behavior in animals. Ed. Fox Philadelphia *W B Saunders.Co.* 1349-1353.

LEVINSON, B.M. (1969). Pet oriented child psychotherapy. Springfield: Charles C. Thomas.

LEVINSON B.M. (1997). Pet-oriented Child Psychotherapy. Illinois: Charles C. Thomas Publisher. Chicago University Press

LOPEZ, J. F., H. AKIL & WATSON, S.J. (1999). Role of biological and psychological factors in early development and their impact on adult: Neural circuits mediating stress. *Soc. Biol. Psychosom.* 46: 1461-1471.

LORE, R. K. (1986). Avoidance reactions of domestic dogs to unfamiliar male and female humans in a kennel setting. *Appl. Ani. Behav. Sci.* 15: 261.

LYNCH, J. J; (1970). Psychophysiology and development of social attachment. *J Nerv. Ment. Dis.* 151:231-244.

MCCULLOCK, J. M., HARRIS J. M. & MCCULLOCK, W. F. (1992) Ligação entre seres humanos e animais e a eutanásia – Um problema especial. Em *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. 3a. edição Capítulo 44. Editora Manole SP. 1933:248-2

McEWEN, B S. (2000). The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Res.*, 886:72-89.

MIKLOSI, A., KOBINYI, E., TOPÁL, J., GACSI M., VIRANYI Z.E. & CSANYI, V. (2003). A simple reason for a big difference: Wolves do not look back at humans, but dogs do. *Current Biology*, 13:763-766

MOBERG, G.P. (1985). Biological response to stress: key to assessment of animal well-being? Em: MOBERG, G.P. *Animal stress*. Bethesda: American Physiological Society, pp.27-49.

MUNRO, C. & STABENFELDT, G. (1984). Development of a microtitre plate enzyme immunoassay for the determination of progesterone. *J. Endocrinol.* 101: 41-49.

ODENDAAL, J. S. (2000). Animal- Assisted therapy. *J. Psychosom. Res.*, 49: 275-280.

PADGETT, D. A. & GLAZER, R. (2003). How stress influences the immune response. *Trends in Immunol.* 24: 444 - 448.

PRUETT, S.B. (2003). Stress and immunity system. *Pathophysiology*, 9:133-153.

RAMOS, A. C. F., EPPINGHAUS, J. U. & SOARES G. M. (2006). Ocorrência de agressividade por caso em estabelecimento de banho e tosa na cidade de Niterói RJ. *Nosso Clínico*, 49: 60-64.

RAJECKI, D.W., LAMB, M.E. & OBSMACHER, P. (1978). Toward a general theory of infantile attachment: A comparative review of aspects of social bond. *Behav, Brain Sci.* 3: 417-464.

RUBY, I. (1983). Images of the family: The symbolic implication of animal photography. In: *New perspectives on ours lives with companion animals*. A. H. Katcher & Beck, A. M.(eds.). *University of Pennsylvania Press*, Philadelphia, pp 138-147.

RUKSTALIS, M. & FRENCH J. A. (2005). Vocal buffering of the stress response: exposure to conspecific vocalizations moderates, urinary cortisol excretion in isolated marmosets. *Horm. Behav.*, 47: 1-7 .

SAPOLSKY, R.M, L.C. KREY, BRUCE S. & MC EWEN (1986). The Neuroendocrinology of stress and aging. The glucocorticoid cascade hypothesis. *Endocrinol. Rev.*7:284-301

SAPOLSKY, R.M & BENNETT A. E. (1990). Adrenocortical function, social rank and personality among wild baboons. *Biol. Psychiat.*, 28:862-878.

SAPOLSKY, R.M., ROMERO L.M, MUNCK A.U. (2000). How do glucocorticoids influence stress responses: Integrating permissive, suppressive, stimulatory and preparative actions. *Endocrinol Rev.* 21:55-89.

SAPOLSKY, R.M. (2002). Endocrinology of the stress-response. In: *Behavioral Endocrinology*. J.B. Becker, S.M. Bredlove, D. Crews e M.M. Mc Carthy (eds.). 2a. ed. MIT Press: Massachussetts, pp. 409-454.

SHAMES, R.S. (2002) Gender differences in the development and function of the Immune System. *J. Adolesc. Health* 305:59-70.

SMITH T.E., FRENCH J.A.(1997) Psychosocial stress and urinary cortisol excretion in marmoset monkeys (*Callithrix kuhli*). *Physiol. Behav.* 62(2):225-32.

SOUSA M.B.C., SILVA H.P.A. & LEÃO A.C. (2002) Sexual differences on behavior and fecal cortisol using the separation paradigm in common marmosets, *Callithrix jacchus*. Abstracts, IPS Conference, Beijing, 2002, p. 94.

TOPÁL, J., MIKLÓSI, A. & DÓKA, A. (1998). Attachment behavior in dogs (*Canis familiaris*): A new application of Ainsworth's (1969) strange situation test. *J. Comp. Psychol.* 112:219-229.

TUBER, D. S; M.B. HENNESSY & MILLER, J. A. (1996) Behavioral and glicocorticoid resposes of adult domestic dogs (*Canis familiars*) to companionship and social separation. *J. Comp. Psychol.* 110:103-108.

VOITH, V. L. (1992). Em: *Tratado de Medicina Interna Veterinária*, vol 13^a. Edição, Editora Manole: São Paulo. Capítulo 43 p. 235-246.

VOLMER, P. J. (1977). Conditioned avoidance response to the Veterinary Clinic en dogs: How it begins/How to prevent it. *Vet. Med. Small Ani.Clin.*, 72:1719.

WELLS, L. DEBORAH; HEPPER & G. PETER (1999). Male and female dogs respond differently to men and woman. *Appl. Ani. Behav. Sci*, 61: 341-349.

YEHUDA S., RABINOVITZ S. & MOSTOFISKY D.I. (2005). Mediation of cognitive function by high fat diet following stress and inflammation. *Nut. Neurosci.*,8:309-315.

YODYINGYUAD, U., DE LA RIVA, C, ABBOTT, D., HERBERT, J. & KEVERN, E. (1985) Relationship between dominance hierarchy, cerebrospinal fluid levels of amine transmitter metabolites and plasma cortisol in monkeys. *Neuroscience*, 16:851-858.

10. Anexos

Anexo I

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PÓS- GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA**

TERMO DE CONSENTIMENTO

Prezados (as) senhores (as),

Nesta oportunidade informamos que o presente estudo experimental está vinculado ao programa de pós-graduação da UFRN, Centro de Biociências, mestrado em Psicobiologia.

A responsável pelo seu desenvolvimento é atualmente aluna do Curso de Pós-graduação em Psicobiologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), formada em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, e está sob a orientação da Profa. Dra. Maria Bernardete de Sousa, Professora do Centro de Biociências da UFRN.

No estudo ora apresentado aos senhores, buscamos conhecer se a frequência de visitas do cão da raça Poodle a um determinado ambiente de banho e tosa ao qual ele está acostumado faz com que ele fique mais tranquilo do que quando exposto a um ambiente novo, e se um período de adaptação alteraria o estresse do ambiente novo. Para tanto formaremos 3 grupos de cães com 16 animais em cada grupo. Serão admitidos cães de ambos os sexos e com idade variável entre 1 e 7 anos (adultos). O experimento constará, para cada animal, de no máximo 2 (duas) coletas de sangue realizadas em três sessões de banho e tosa, no total de 6 (seis) amostras. Nesta amostra de sangue serão avaliados os valores normais das células vermelhas e brancas do sangue e a dosagem do hormônio cortisol, que está relacionado com situações de estresse. Estas amostras são de em média 1 ml de sangue coletado em seringa descartável na veia radial, localizada na pata anterior, ou na safena externa, localizada na pata posterior do animal. Além da coleta de sangue antes e depois do procedimento de banho e tosa, o comportamento do animal será observado a cada dez minutos durante todo o procedimento e anotado em ficha de papel.

O experimento será realizado em duas clínicas veterinárias da cidade do Natal: 1- Assistência Veterinária Mordemia, no período da tarde, e 2- Clínica Veterinária Dog e Kitty, também no período da tarde. A coleta do material e a observação de cada cão será realizada pela Médica Veterinária Viviane Medeiros.

Se o(a) proprietário(a) quiser desistir da participação do seu animal em qualquer etapa do experimento, por qualquer motivo, estará livre para fazê-lo sem que isto provoque nenhum tipo de constrangimento ou penalização, podendo continuar fazendo o tratamento de beleza de seu animal de estimação na clínica sem nenhuma participação no experimento.

O presente experimento não coloca em risco a integridade física dos animais participantes e os dados referentes a cada indivíduo são confidenciais e serão informados ao(à) proprietário(a) posteriormente.

O questionário em anexo é parte importante para a análise dos nossos dados e solicitamos que o(a) proprietário(a) do animal integrante do experimento responda a todas as perguntas do mesmo.

É importante salientar que os dados coletados nesta pesquisa servirão para melhorar a qualidade de vida que proporcionamos aos nossos animais de estimação, pois avaliando cientificamente as condições nas quais os mesmos estão vivendo, buscaremos alternativas para lhes proporcionar maior bem estar físico e mental.

Natal ___/_____/2006

Viviane Medeiros

Maria Bernardete Cordeiro de Sousa

Diante destas informações, autorizo a participação do canino de raça Poodle abaixo descrito a participar deste experimento.

Nome do Proprietário:

Assinatura do Proprietário:

Nome do animal:

Cor da pelagem:

Idade:

Sexo:

Anexo II

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PÓS- GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA

Questionário anexo ao Projeto de Pesquisa sobre medidas de cortisol em cães da raça Poodle submetidos a banho e tosa em duas clínicas veterinárias da cidade de Natal.

Dados sobre Proprietário:

Nome do Proprietário: _____

Endereço: _____
_____.

Sexo: _____.

Idade: _____.

Qual o motivo que o levou a criar este cão?

Ganhou () Comprou ()

Hábitos de criação:

Solto () Confinado ()

Dentro de casa () Fora de casa ()

Onde dorme?

No quarto () Área de Serviço () Outro ()

Qual o tipo de alimento ?

Ração () Sobras de comida caseira () Comida caseira especialmente feita para ele () Outros().

Ambiente domiciliar:

Presença de crianças ()

Presença de outros cães ()

Presença de outros animais ()

Relação com estes:

Boa() ruim ()

Boa() ruim ()

Boa() ruim ()

Sobre o cão:

Sexo: M() F ()

Idade: 1ano () 2() 3 () 4 () 5 () 6 ()

Castrado: Sim () Não ()

Morde o Proprietário ?

Sim () Não ()

Seu cão é um membro da família?

Sim () Não ()

Anexo - III

Tabela 1 - Níveis plasmáticos de cortisol das primeiras e segundas coletas dos dias de observação por Grupo Experimental. Não foi observada diferença estatística significativa entre elas.

	1 ^a . Coleta/1 ^o . dia média (+DP)	1 ^a . Coleta/ 2 ^o . dia média (+DP)	Valor de p	2 ^a . Coleta/1 ^o . dia média (+DP)	2 ^a .coleta/2 ^o . dia – média(±DP)	Valor do p
Grupo 1	0,85 (±0,52)	0,83 (±0,55)	p=0.4	1,53 (±1,7)	1,35 (±0,94)	p=0.9
Grupo 2	0,90 (±0,55)	1,30 (±1,55)	p=0.5	0,99 (±0,67)	1,29 (±0,94)	p=0.3

Tabela 2 - Níveis plasmáticos de cortisol entre a primeira e segunda coleta de cada grupo – média ±DP, valor de p.

Grupo	Primeira X segunda coleta	Média 1 ^a (DP)	Média 2 ^a (DP)
1	P<0,01*	0,84 (±0,53)	1,44 (±1,35)
2	P=0,3	1,10 (±1,16)	1,15 (±0,82)

Tabela 3 - Níveis plasmáticos de cortisol entre as coletas em relação ao tosador. Tosador Familiar (TF), Tosador Estranho (TE)

	C1 média (DP)	C2 média (DP)	Cortisol
G1/TF	0,81 (±0,49)	1,03 (±0,93)	P=0,13
G1/TE	0,87 (±0,57)	1,80 (±1,58)	P<0,01*
G2/TF	1,21 (±0,43)	1,18 (±0,95)	P=0,5
G2/TE	0,93 (±0,44)	1,09 (±0,57)	P=0,2

Tabela 4 - Contagens de células entre as coletas Grupo 1 (G1)

G1	1 ^a . Coleta/1 ^o . dia média	1 ^a . Coleta/ 2 ^o . dia média	Valor de p	2 ^a . Coleta/1 ^o . dia média	2 ^a .coleta/2 ^o . dia -média	Valor do p
Leucócitos	11,69	12,67	0,7	13,66	13,58	0,98
Neutrófilos	58,41	59,06	0,7	70	71,35	0,9
Linfócitos	28,06	25,23	0,8	19,65	14,29	0,04*

Tabela 5 - Contagens de células entre as coletas Grupo 2 (G2)

G2	1ª. Coleta/1º. dia média	1ª. Coleta/ 2º. dia média	Valor de p	2ª. Coleta/1º. dia média	2ª.coleta/2º. dia -média	Valor do p
Leucócitos	13,03125	13,79	0,14	12,25	14,66	0,03*
Neutrófilos	61	60,19	0,69	69,56	66	0,1
Linfócitos	22,1875	23,63	0,55	15,81	17,5	0,67

Tabela 6 - Avaliação da contagem de leucócito, neutrófilo e linfócito em cada grupo.

	G1		G2	
	Média	Valor de p	Média	Valor de p
Leucócitos	C1:12,18	=0,1	C1:13,41	=0,06
	C2:13,62		C2:14,68	
Neutrófilos	C1:58,74	<0,01	C1:59,19	<0,01
	C2:70,68		C2:66,63	
Linfócitos	C1:26,65	<0,01	C1:24,25	<0,01
	C2:16,97		C2:16,66	

Tabela 7 - Cães manipulados por Tosador Familiar. G1

	Leucócitos	Neutrófilos	Linfócitos
Média 1ª coleta ± DP	12,2 ±4,33	63,37 ±12,13	23,9 ±11,50
Média 2ª coleta ± DP	14,5 ±5,40	70,5 ±10,13	18,0 ±10,51
Valor de p=	0,06	0,003*	0,001*

Tabela 8 - Cães manipulados por Tosador Estranho. G1

	Leucócitos	Neutrófilos	Linfócitos
Média 1ª coleta	12,14±3,16	54,61±7,41	29,05±9,46
Média 2ª coleta	12,83±4,22	70,77±8,29	16,05±7,07
Valor de p=	0,62	0,0002*	0,0002*

Tabela 9 - Cães manipulados por Tosador Familiar. G2

	Leucócitos	Neutrófilos	Linfócitos
Média 1ª coleta	12,68±4,16	63,3±8,57	22±5,91
Média 2ª coleta	14,06±4,25	70,6±6,98	14,95±6,58
Valor de p=	0,23	0,0016*	0,0004*

Tabela 10 - Cães manipulados por Tosador Estranho. G2

	Leucócitos	Neutrófilos	Linfócitos
Média 1ª coleta	14,62±4,16	56,08±7,75	24,41±7,25
Média 2ª coleta	12,44±6,04	63,08±10,22	19,5±8,79
Valor de p=	0,1	0,05*	0,07

Tabela 11 - Animal do sexo masculino quando manipulados por Tosador Familiar ou Estranho. G1

	Leucócitos	Neutrófilos	Linfócitos
Média 1ª coleta	11,73±3,38	60,06±9,22	22,81±8,43
Média 2ª coleta	13,47±4,96	73,94±5,07	13,37±4,86
Valor de p=	0,14	0,0005*	0,001*

Tabela 12 - Animal do sexo feminino quando manipulados por Tosador Familiar ou Estranho. G1

	Leucócitos	Neutrófilos	Linfócitos
Média 1ª coleta	12,58±4,00	57,55±12,03	30,05±11,42
Média 2ª coleta	13,76±4,82	67,77±10,85	20,17±10,27
Valor de p=	0,38	0,0007*	0,0003*

Tabela 13 - Animal do sexo masculino quando manipulados por Tosador Familiar ou Estranho. G2

	Leucócitos	Neutrófilos	Linfócitos
Média 1ª coleta	13,44±4,51	60,11±7,31	23,78±6,75
Média 2ª coleta	13,28±5,13	66,33±10,22	17,22±9,38
Valor de p=	0,7	0,006*	0,006*

Tabela 14 - Animal do sexo feminino quando manipulados por Tosador Familiar ou Estranho. G2.

	Leucócitos	Neutrófilos	Linfócitos
Média 1ª coleta	13,36±3,93	61,21±10,85	21,78±6,08
Média 2ª coleta	13,67±4,93	69,64±7,00	15,92±4,95
Valor de p=	0,57	0,009*	0,006*

Tabela 15 - Valores individuais das contagens de células do hemograma dos animais do grupo 1 do sexo masculino e feminino tosados por tosadores familiares (TF) e tosador não familiares (TNF), referentes a primeira, segunda, terceira e quarta coletas.

ANIMAL	1ª Coleta			2ª Coleta			3ª Coleta			4ª Coleta		
	leucócitos	neutrófilos	linfócitos	leucócitos	neutrófilos	linfócitos	leucócitos	neutrófilos	linfócitos	leucócitos	neutrófilos	linfócitos
TF♂ 1	11,3	73	15	9,9	71	15	9,4	70	18	13,4	80	13
TF♂ 2	9,2	71	19	9,6	77	15	13	73	16	12,2	80	10
TF♂ 3	14,2	56	16	22,4	73	16	8	56	23	10,8	66	13
TF♀ 4	15,6	33	59	16,8	42	53	13,4	76	20	14,8	80	18
TF♀ 5	10,3	53	34	14,3	62	26	12,2	76	12	26,8	77	7
TF♀ 6	9,4	74	19	15	77	18	10,1	60	29	9,2	77	14
TF♀ 7	14,2	63	27	8,6	76	18	8,2	46	35	11,8	63	15
TF♀ 8	11	65	24	13	61	25	26	69	17	23,5	67	12
TNF♂ 9	10	67	17	12	73	15	10	52	35	7,5	64	25
TNF♂ 10	8,2	55	35	17,2	79	12	16,4	58	29	16,6	72	12
TNF♂ 11	13,9	63	17	15,7	79	7	15,2	52	15	16	77	11
TNF♂ 12	15,4	58	23	23,8	79	12	17,6	64	15	12,4	73	6
TNF♂ 13	9,2	53	35	5,6	68	22	6,6	40	37	10,4	72	10
TNF♀ 14	11,2	47	47	11,5	77	15	11,9	59	23	10,1	69	17
TNF♀ 15	11,6	63	30	14,3	74	11	16,2	51	36	11,4	74	16
TNF♀ 16	13	49	27	13	69	22	8,4	59	26	15	73	17
TNF♀ 17	11	50	33	9,6	53	32	12,8	43	43	9	49	27

Tabela 16 - Valores individuais das contagens de células do hemograma dos animais do grupo 2 do sexo masculino e feminino tosados por tosadores familiares (TF) e tosador não familiares (TNF), referentes a primeira, segunda, terceira e quarta coletas.

ANIMAL	1ª Coleta			2ª Coleta			3ª Coleta			4ª Coleta		
	leucócitos	neutrófilos	linfócitos	leucócitos	neutrófilos	linfócitos	leucócitos	neutrófilos	linfócitos	leucócitos	neutrófilos	linfócitos
TF♂18	27,1	63	18	24	61	6	10,8	72	14	20,6	73	8
TF♂19	9,2	60	15	11	67	21	12,4	66	25	6,4	65	13
TF♂20	9	63	24	13,2	65	23	7,6	68	21	19	77	7
TF♂21	11,4	50	28	10,6	77	23	17,4	65	19	19,9	73	10
TF♂22	14,4	61	22	11,4	79	12	15,6	71	15	15	75	6
TF♂23	12,2	52	34	13	63	24	13,8	48	32	16,6	59	21
TF♀24	12,4	80	13	9,4	69	11	13,4	76	20	14,8	80	18
TF♀25	9	63	24	13,2	65	23	11	55	19	14	62	19
TF♀26	9,7	70	18	12,4	77	14	13	59	26	15	68	10
TF♀27	11	69	24	11,2	81	8	13,2	55	29	10,6	76	22
TNF♂29	11,1	64	20	8,8	70	16	8,3	54	38	6,7	65	25
TNF♂30	15,2	56	29	10,6	62	19	13,7	61	21	15	35	43
TNF♂31	16,4	59	26	6,6	71	10	16,4	49	27	10,8	57	23
TNF♀32	20	47	26	24	69	13	20	40	36	24	56	20
TNF♀33	7,2	61	18	8,4	72	15	15,6	68	19	14,8	68	23
TNF♀34	13,2	58	16	8,2	65	15	18,4	56	17	11,4	67	12

Tabela 17 - Valores individuais de cortisol $\mu\text{g/dl}$ dos animais dos grupos experimentais G1 e G2 nas quatro coletas.

GRUPO1					GRUPO2				
1ª Coleta	2ª Coleta	3ª Coleta	4ª Coleta		1ª Coleta	2ª Coleta	3ª Coleta	4ª Coleta	
0,64	0,79	0,67	1,48		1,03	0,27	0,75	1,76	
1,26	0,99	1,23	0,65		1,98	0,52	0,55	1,79	
0,69	0,62	0,46	1,29		0,33	0,56	0,28	0,46	
0,54	0,66	0,37	0,74		0,28	0,65	0,87	0,23	
0,41	0,31	0,39	0,33		0,59	0,80	0,56	0,65	
0,28	0,57	0,59	0,98		0,78	1,98	1,60	2,43	
1,91	1,95	1,75	4,10		1,98	1,85	6,81	3,67	
1,04	0,51	0,73	0,48		1,48	2,67	1,41	1,20	
0,15	0,70	0,10	0,74		0,43	0,48	1,61	0,47	
0,72	2,08	0,45	2,19		0,53	0,62	0,32	0,59	
1,38	7,45	1,62	2,76		0,98	0,58	0,67	0,65	
1,91	2,74	1,88	1,69		0,65	0,66	2,01	2,43	
0,50	0,60	0,31	0,75		0,49	0,85	1,18	1,38	
0,83	0,92	1,44	1,32		0,59	1,29	0,89	1,46	
1,04	1,03	0,96	0,84		1,02	1,45	0,50	1,19	
0,63	2,52	0,89	1,46		1,43	0,75	0,80	0,38	
0,44	1,62	0,36	1,15						