

## ESTUDO DA PRESENÇA DO ALELO MUTANTE MDR1 NA RAÇA OVELHEIRO GAÚCHO E SUA CONTRIBUIÇÃO PARA A MEDICINA VETERINÁRIA E CRIAÇÃO DE CÃES DE RAÇA PURA

CUNHA, Felipe Rosa <sup>1</sup>;  
GARCIA, Élen Nunes <sup>2</sup>;  
SILVA, Éverton Fagonde da <sup>3</sup>;  
LAVADOURO, Jéssica Hellen Bastos <sup>4</sup>;  
ARAÚJO JÚNIOR, João Pessoa <sup>5</sup>;  
ROSA, Cristiano Silva da <sup>6</sup>.

Recebido: 03/11/2019

Aceito: 03/08/2020

<sup>1</sup>Médico Veterinário autônomo, especialista em clínica médica de animais de companhia; <sup>2</sup>Professora do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia, UFPEL; <sup>3</sup>Professor do Departamento de Veterinária Preventiva, Faculdade de Veterinária, UFPEL; <sup>4</sup>Médica Veterinária autônoma; <sup>5</sup>Professor do Departamento de Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; <sup>6</sup>Professor do Departamento de Clínicas Veterinárias, Faculdade de Veterinária, UFPEL.

### RESUMO

**D**e acordo com a Associação dos Criadores de Ovelheiro Gaúcho (ACOG), esta raça canina tem como seus ascendentes históricos os cães da raça Cão da Serra da Estrela, vindos de Portugal, e os Scotch Collie, vindos da Inglaterra e Escócia. Sendo o Ovelheiro Gaúcho uma raça bastante comum no Rio Grande do Sul (Brasil) e no Uruguai, e com a cinofilia cada dia mais presente no meio acadêmico, devemos conhecer as características clínicas e genéticas que a raça pode ter herdado na sua formação. Uma das mais conhecidas é a sensibilidade específica a determinadas drogas, sabidamente presente em algumas raças que compartilham a mesma ancestralidade, como os Collies, associada ao gene mutante de resistência a múltiplas drogas conhecido como MDR1, cuja mutação causa aumento na suscetibilidade aos efeitos neurotóxicos de determinadas drogas. Assim, o objetivo do presente trabalho foi determinar a presença do gene mutante MDR1 na raça Ovelheiro Gaúcho. Para tanto, foram encaminhadas amostras sanguíneas de 25 cães, devidamente registrados pela ACOG, ao Laboratório de Diagnóstico Molecular, UNESP, Botucatu, a fim de realizar a genotipagem por meio de reação em cadeia da polimerase (PCR). No presente estudo, obteve-se uma frequência alélica de 26% na amostra (95% IC = 12,9% - 45,6%). Os resultados, inéditos, são importantes para a afirmação da presença do alelo mutante na raça e, com isso, auxiliar o Médico Veterinário em sua conduta terapêutica, reduzindo os riscos de intoxicação do paciente. Como essa frequência ainda é baixa, e não

foram encontrados animais homozigotos mutantes, é possível selecionar reprodutores sem a presença desse mutante para eliminar esse alelo da população e contribuir para o desenvolvimento da raça.

**Palavras-chave:** Caninos. PCR. Sensibilidade a drogas. Predisposição racial.

## INTRODUÇÃO

A raça Ovelheiro Gaúcho é, conforme a Associação dos Criadores de Ovelheiro Gaúcho (ACOG), originária do estado do Rio Grande do Sul (Brasil) e do norte do Uruguai e foi formada, ao longo de muitos anos, através de uma rígida seleção imposta pelas atividades campeiras exercidas na região. De acordo com os estudos realizados pela ACOG, em sua formação participaram o Cão da Serra da Estrela, de Portugal, e os cães Scotch Collies, de origem escocesa e inglesa. Por outro lado, as raças Collie de pelo longo, Collie de pelo curto e Border Collie não estão relacionadas com a sua origem, como se imaginava antigamente (GARCIA, SILVA, 2013). Sabe-se que o Scotch Collie também deu origem ao Collie de pelo longo, e que, segundo Mealey et al. (2001), quando são sensíveis a drogas como a ivermectina demonstram carrear a mutação no gene MDR1, especificamente conhecida como MDR1 nt230 (del4) *mutation* ou MDR1-1Δ, ABCB1-1Δ.

O gene de resistência a múltiplas drogas, MDR1 (*multidrug resistance*), participante da família ABC de transportadores e, por isso, também chamado de ABCB1, codifica a glicoproteína P (gp-P) (DEAN et al., 2001; MEALEY, 2004), a qual está envolvida na absorção, metabolização, distribuição e excreção de vários fármacos no organismo (AMBUDKAR et al., 2003; LINARDI; NATALINI, 2006). A mutação MDR1-1Δ, basicamente, ocasiona um defeito genético na formação da gp-P, levando a uma alteração em sua sequência de aminoácidos, resultando em perda de função (ROULET et al., 2003), o que pode causar sinais de intoxicação. Substratos para a gp-P incluem um vasto número de drogas comumente utilizadas em medicina veterinária (FROMM, 2004), incluindo drogas quimioterápicas, imunossupressoras, antiparasitárias, como a ivermectina e a moxidectina, hormônios esteroides, antibióticos, analgésicos, antidiarreicos, agentes antiepiléticos, drogas cardíacas, entre outras (FROMM, 2004; MARTINEZ et al., 2008).

Através de técnicas de biologia molecular, hoje é possível determinar o *status* genético do animal em relação ao gene MDR1, avaliando assim a sua susceptibilidade a efeitos tóxicos de variadas drogas. Segundo Mealey (2004), este avanço é o primeiro passo para a incorporação da farmacogenética na clínica veterinária. Em seu estudo, Monobe et al. (2015), relataram que, diante da importância do papel da gp-P na integridade da barreira

hematoencefálica, na farmacocinética, farmacodinâmica e nas sérias consequências clínicas dos efeitos adversos das drogas em indivíduos com deficiência na gp-P, a informação do *status* genético é importante não apenas para a seleção racial baseada em genotipagem do MDR1 e o intercâmbio internacional de animais de raças predispostas, mas também para a modificação da terapia.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a presença do gene mutante MDR1 em cães da raça Ovelheiro Gaúcho devidamente registrados pela ACOG, até então desconhecida na raça.

## MATERIAL E MÉTODOS

Uma população de 296 cães da raça Ovelheiro Gaúcho, com *pedigree* emitido pela Associação dos Criadores de Ovelheiro Gaúcho, registrados desde a data de fundação da referida Associação, em 2013, foi considerada como parâmetro. O cálculo amostral foi realizado no programa OpenEpi (DEAN et al., 2011), recomendado pela comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). Por ser um trabalho inédito, a prevalência de mutações para o projeto piloto foi considerada de 61,2%, baseada no estudo de Monobe et al. (2015) para a raça Collie no Brasil, o limite de confiança de 5%, com intervalo de confiança de 95% (IC 95%) e o efeito do estudo 1%.

Ao total, foram colhidas 25 amostras sanguíneas, na quantidade de 2 ml, colhidas da veia jugular ou veia cefálica, acondicionadas em frascos coletores contendo anticoagulante EDTA, devidamente alocadas em recipiente resfriado e encaminhadas à equipe do Laboratório de Diagnóstico Molecular – IBB – UNESP, Botucatu, que utilizou técnica específica (*Polymerase Chain Reaction*) para genotipagem do gene MDR1 e determinação do *status* genético dos animais.

A técnica para genotipagem utilizada foi baseada na previamente citada por Monobe et al. (2015) e Baars et al. (2008), e o DNA foi extraído de 330 µl de sangue usando o Kit illustra blood genomic Prep Mini Spin (GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA), seguindo os protocolos recomendados pelo manual do fabricante. O DNA foi armazenado a -20 °C até a técnica de PCR ser realizada. Para a genotipagem do MDR1, um método de triagem baseado em PCR alelo-específico foi aplicado para detectar o alelo mutante e determinar se o cão era

homozigoto ou heterozigoto para a mutação. A reação foi considerada válida quando o produto do PCR de aproximadamente 480 pares de base foi amplificado com os primers P-gpA e P-gpD, previamente descritos por Baars et al. (2008).

Para o sequenciamento, os primers P-gpA e P-gpD foram utilizados para amplificar o segmento do gene MDR1 abrangendo o sítio de mutação (BAARS et al., 2008). Os produtos do PCR foram purificados utilizando o Kit de Purificação de PCR QIAquick (Qiagen®, Valencia, CA, USA) e foram diretamente sequenciados usando o Kit BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit e o sequenciador Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzers (Waltham, MA, USA).

Optou-se pela escolha de cães participantes de exposições cinófilas e devidamente registrados pela ACOG, a única entidade que atua exclusivamente com a raça, e que utiliza um rigoroso controle quanto à seleção e criação, garantindo assim uma confiabilidade quanto à pureza racial. Como critério de inclusão no estudo, os tutores de cães que estavam participando das exposições oficiais da ACOG no mês de setembro e outubro de 2016 foram convidados a participar do experimento, sendo coletadas amostras quando a resposta era afirmativa. Como critério de exclusão, evitou-se a repetição de combinações familiares já amostradas dentro da mesma linhagem. Desta forma, as amostras foram colhidas de cães de variadas idades, de ambos os sexos e com a maior variabilidade genética possível entre as linhagens que se apresentaram nas exposições cinófilas oficiais, sendo testados cães oriundos de diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul, bem como cães com e sem parentesco entre si, de forma que os resultados não fossem restritos a regiões, linhagens ou características individuais. Nenhum dos animais possuía grau de consanguinidade, sendo provenientes de cruzamentos “abertos” (*outcross*).

Os resultados foram tabelados conforme a variável dicotômica, isto é, presença ou ausência de mutação, e posteriormente analisados. De acordo com Bissonnette et al. (2008), o animal pode ser classificado de três diferentes formas: [1] homozigoto normal (ou, MDR1 +/+), quando ele é normal ou “selvagem”; [2] homozigoto mutante (ou, MDR1 -/-), apresentando alta predisposição a intoxicações; e [3] heterozigoto (MDR1 +/-), que é portador da mutação, possuindo um alelo apenas, apresentando intoxicação em maior ou menor grau. A

frequência, bem como o intervalo de confiança de 95%, foi calculada para cada genótipo e para a presença alélica da mutação.

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Pelotas e registrado sob o número 3649.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 25 amostras estudadas, 12 eram provenientes de machos (48%) e 13 de fêmeas (52%). Os resultados mostraram que 12 animais eram homozigotos normais para a mutação (48% de MDR1 (+/+); 95% CI = 30% - 66,5%), enquanto 13 amostras resultaram em heterozigotos (52% de MDR1 (+/-); 95% CI = 33,5% - 69,9%). Nenhum caso de homozigotos mutantes foi encontrado no presente estudo (0% de MDR1 (-/-)), como demonstrado na Tabela 1.

**Tabela 1** - Resultados obtidos de 25 amostras de cães da raça Ovelheiro Gaúcho para avaliação de *status* genético frente à mutação MDR1-1Δ.

<i>Status</i>	Sexo		Total (%)
	Machos (%)	Fêmeas (%)	
Homozigoto Normal (+/+)	6 (24)	6 (24)	12 (48)
Heterozigoto (+/-)	6 (24)	7 (28)	13 (52)
Homozigoto Mutante (-/-)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Total	12 (48)	13 (52)	25 (100)

Segundo Fecht et al. (2007), várias raças caninas possuem a mutação no gene MDR1 e, por isso, não possuem este mecanismo de proteção, sendo os efeitos imperceptíveis até que se utilizem tratamentos com determinadas drogas substrato para a gp-P, podendo demonstrar sinais de intoxicação. Segundo Paul et al. (1987) e Tranquilli et al. (1989), a acumulação destes fármacos no tecido cerebral é dose-dependente e causa sinais neurotóxicos como: midríase, salivação, sonolência, desorientação, confusão, depressão, ataxia, tremores e até morte.

Recentemente, pesquisas genéticas demonstraram que várias raças caninas também são afetadas pela mutação, como o Pastor Australiano, Border Collie, English Shepherds, Old English Sheepdogs, Pastor de Shetland e Wällers (GEYER et al., 2005; NEFF et al., 2004), Pastor Alemão, Whippets, Silken Windhounds e White Swiss Shepherds, bem como raças mestiças (GEYER et al., 2007; GRAMER et al., 2011).

Até o momento, não há informação acerca da raça Ovelheiro Gaúcho quanto à frequência alélica da referida mutação. No presente estudo, nenhum homozigoto mutante foi detectado (MDR1 (-/-) = 0%), enquanto em aproximadamente metade (52%) das amostras observou-se mutação MDR1 nt230 (del4), representando os indivíduos heterozigotos (MDR1 +/-), o que demonstrou uma frequência alélica de 26% (95% IC = 12,9% - 45,6%). Esta frequência foi inferior a encontrada por Monobe et al. (2015) em cães da raça Collie, cuja frequência alélica foi de 61,2% (95% IC = 54,8% - 67,5%) para a mutação MDR1 (MDR1 +/-), e totalizando 86,4% dos indivíduos com pelo menos presença de um alelo mutante (MDR1 +/- e MDR1 -/- somados), sugerindo uma ampla dispersão da mutação nesta raça no Brasil. O mesmo autor encontrou a taxa de 15,6% para Pastores Australianos e 7,9% para Pastores de Shetland, taxas menores a encontrada em nosso estudo com Ovelheiros Gaúchos. Monobe et al. (2015) observaram ainda que a raça Collie foi a única pesquisada que apresentou o *status* de homozigoto mutante (MDR1 -/-), o que diferiu do presente estudo, pois nenhum dos cães Ovelheiros Gaúchos apresentaram esse *status*.

Segundo Fecht e Distl (2008), a seleção baseada na genotipagem permite eliminar a mutação do *pool* genético de raças caninas em algumas gerações, dependendo da frequência alélica da mutação do MDR1. Supõe-se que esta seleção, somada a maior diversidade de ascendência em algumas raças (o que levaria a maior variabilidade genética e redução da frequência alélica), tenha sido um fator responsável pela baixa presença do alelo mutante nas raças que também compartilham um ancestral em comum. Estas, porém, já possuem muitos anos de consagrada criação em comparação com o Ovelheiro Gaúcho, que foi reconhecida como raça apenas no ano 2000 pela Confederação Brasileira de Cinofilia. Uma possível explicação para a alta incidência do alelo mutante em Collies é encontrada no trabalho de Monobe et al. (2015), que ao pesquisar animais de diferentes regiões brasileiras,

observou um reduzido número de criadores no Brasil, o que leva, talvez, à utilização frequente dos mesmos reprodutores na criação.

## CONCLUSÃO

O presente estudo foi o primeiro realizado com esta raça e, portanto, serve para afirmar a existência da mutação do alelo MDR1 em cães Ovelheiros Gaúchos com *pedigree* e orientar o Médico Veterinário a realizar a determinação do *status* genético em pacientes desta raça, tornando seu tratamento mais seguro. Da mesma forma, recomenda-se que os criadores realizem os testes genéticos no seu plantel, com o objetivo de melhorar a seleção genética e, assim, evitar o aparecimento de cães portadores da mutação.

## PRESENCE OF THE MUTANT ALLELE MDR1 IN GAÚCHO SHEEPDOG BREED AND ITS CONTRIBUTION TOWARDS VETERINARY MEDICINE AND CANINE BREEDING

### ABSTRACT

According to the Association of Breeders of Gaúcho Sheepdog (ACOG), this canine breed has as its historical ancestors the dogs of the Serra da Estrela dog, coming from Portugal, and the Scotch Collie, coming from England and Scotland. As Gaúcho Sheepdog is a very common breed in Rio Grande do Sul (Brazil) and Uruguay, and with cynophilia increasingly present in the academic environment, we must know the clinical and genetic characteristics that the breed may have inherited in its formation. One of the most well-known is the specific sensitivity to certain drugs, known to be present in some breeds that share the same ancestry, such as Collies, associated with the mutant multi-drug resistance gene known as MDR1, whose mutation causes increased susceptibility to the neurotoxic effects of certain drugs. Thus, the objective of the present work was to determine the presence of the mutant gene MDR1 in the Gaúcho Sheepdog breed. For this purpose, blood samples from 25 dogs, duly registered by ACOG, were sent to the Molecular Diagnostic Laboratory, UNESP, Botucatu, to perform the genotyping through the polymerase chain reaction (PCR). In the present study, an allele frequency of 26% was obtained in the sample (95% CI = 12.9% - 45.6%). The results are important to affirm the presence of the mutant allele in the breed and, with this, assist the veterinarian in his therapeutic conduct, reducing the risks of intoxication of the patient. As this frequency is still low, and no homozygous mutant animals were found, it is possible to select breeders without the

presence of this mutant to eliminate this allele from the population and contribute to the development of the breed.

**Keywords:** Canine. PCR. Drug sensitivity. Racial predisposition.

## **ESTUDIO DE LA PRESENCIA DEL ALELO MUTANTE MDR1 EN LA RAZA OVEJERO GAÚCHO Y SU CONTRIBUCIÓN PARA LA MEDICINA VETERINARIA Y CRIANZA DE PERROS DE RAZA PURA**

### **RESUMEN**

Según la Asociación de Criadores del Ovejero Gaúcho (ACOG), esta raza canina tiene como antepasados históricos los perros de la raza Cão da Serra da Estrela, procedente de Portugal, y el Scotch Collie, procedente de Inglaterra y Escocia. Como el Ovejero Gaúcho es una raza muy común en Rio Grande do Sul (Brasil) y Uruguay, y con la cinofilia cada vez más presente en el ámbito académico, debemos conocer las características clínicas y genéticas que la raza pudo haber heredado en su formación. Una de las más conocidas es la sensibilidad específica a ciertos fármacos, que se sabe que están presentes en algunas razas que comparten la misma ascendencia, como los Collies, asociada al gen mutante de resistencia a múltiples fármacos conocido como MDR1, cuya mutación provoca una mayor susceptibilidad a los efectos neurotóxicos de ciertas drogas. Así, el objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia del gen mutante MDR1 en la raza Ovejero Gaúcho. Con este fin, se enviaron al Laboratorio de Diagnóstico Molecular, UNESP, Botucatu, muestras de sangre de 25 perros, debidamente registrados por ACOG, para realizar la genotipificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En el presente estudio se obtuvo una frecuencia alélica del 26% en la muestra (IC 95% = 12,9% - 45,6%). Los resultados inéditos son importantes para afirmar la presencia del alelo mutante en la raza y, con ello, ayudar al Veterinario en su conducta terapéutica, reduciendo los riesgos de intoxicación del paciente. Como esta frecuencia es todavía baja y no se encontraron animales mutantes homocigotos, es posible seleccionar reproductores sin la presencia de este mutante para eliminar este alelo de la población y contribuir al desarrollo de la raza.

**Palabras clave:** Caninos. PCR. Sensibilidad a los medicamentos. Predisposición racial.

### **REFERÊNCIAS**

AMBUDKAR, S. V.; KIMCHI-SAFARTY, C.; SAUNA, Z. E.; et al. P-glycoprotein: from genomics to mechanism. *Oncogene*, v. 22, p. 7468-7485, 2003.

BAARS, C.; LEEB, T.; VON KLOPMANN, T.; et al. Allele-specific polymerase chain reaction diagnostic test for the functional MDR1 polymorphism in dogs. **The Veterinary Journal**, v. 177, p. 394-397, 2008.

BISSONNETTE, S.; PARADIS, M.; DANEAU, I.; et al. The *ABCB1-1* mutation is not responsible for subchronic neurotoxicity seen in dogs of non-collie breeds following macrocyclic lactone treatment for generalized demodicosis. **Journal Compilation**, v. 20, p. 60-66, 2008.

DEAN, M.; RZHETSKY, A.; ALLIKMETS, R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. **Genome Research**, v. 11, p. 1156-1166, 2001.

DEAN, A. G.; SULLIVAN, K. M.; SOE, M. M. **OpenEpi: Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health**, 2011. Disponível em: <[http://www.openepi.com/Menu/OE\\_Menu.htm](http://www.openepi.com/Menu/OE_Menu.htm)> .

FECHT, S.; DISTL, O. Review of prevalence, genetic aspects and adverse effects of the *mdr1-1Delta* mutation in dogs. **Deutsche tierärztliche Wochenschrift**, v. 115, p. 212-219, 2008.

FECHT, S.; WOHLKE, A.; HAMANN, H.; et al. Analysis of the canine *mdr1-1Δ* mutation in the dog breed Elo. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 54, n. 8, p. 401-405, 2007.

FROMM, M. F. Importance of P-glycoprotein at blood-tissue barriers. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 25, n. 8, p. 423-429, 2004.

GARCIA, E. N.; SILVA, E. J. **Ovelheiro Gaúcho – padrão oficial da raça**, 2013. Disponível em: <<https://acogovelheiro.files.wordpress.com/2013/10/padrc3a3o-da-rac3a7a-ovelheiro-gac3bacho-da-acog.pdf>> .

GEYER, J.; DÖRING, B.; GODOY, J. R.; et al. Frequency of the nt230 (del4) MDR1 mutation in Collies and related dog breeds in Germany. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 28, p. 545-551, 2005.

GEYER, J.; KLINTZSCH, S.; MEERKAMP, K.; et al. Detection of the nt230(del4) MDR1 mutation in White Swiss Shepherd dogs: case reports of doramectin toxicosis, breed predisposition, and microsatellite analysis. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 30, p. 482-485, 2007.

GRAMER, I.; LEIDOLF, R.; DÖRING, B.; et al. Breed distribution of the nt230 (del4) MDR1 mutation in dogs. **The Veterinary Journal**, v. 189, p. 67-71, 2011.

LINARDI, R. L.; NATALINI, C. C. Multi-drug resistance (MDR1) gene and P-glycoprotein influence on pharmacokinetic and pharmacodynamic of therapeutic drugs. **Ciência Rural**, v. 36, n. 1, p. 336-341, 2006.

- MARTINEZ, M.; MODRIC, S.; SHARKEY, M.; et al. The pharmacogenomics of P-glycoprotein and its role in veterinary medicine. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 31, p. 385-300, 2008.
- MEALEY, K. L.; BENTJEN, S. A.; GAY, J. M.; et al. Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the *mdr1* gene. **Pharmacogenetics**, v. 11, n. 8, p. 727-733, 2001.
- MEALEY, K. L. Therapeutic implications of the MDR-1 gene. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 27, n. 5, p. 257-264, 2004.
- MONOBE, M. M.; ARAÚJO JÚNIOR, J. P.; LUNSFORD, K. V.; et al. Frequency of the MDR1 mutant allele associated with multidrug sensitivity in dogs from Brazil. **Veterinary Medicine: Research and Reports**, v. 6, p. 111-118, 2015.
- NEFF, M. W.; ROBERTSON, K. R.; WONG, A. K.; et al. Breed distribution and history of canine *mdr1-1Delta*, a pharmacogenetic mutation that marks the emergence of breeds from the collie lineage. **PNAS - Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, p. 11725-11730, 2004.
- PAUL, A. J.; TRANQUILLI, W. J.; SEWARD, R. L. Clinical observations in Collies given ivermectin orally. **American Journal of Veterinary Research**, v. 48, p. 684-685, 1987.
- ROULET, A.; PUEL, O.; GESTA, S.; et al. MDR1-deficient genotype in Collie dogs hypersensitive to the P-glycoprotein substrate ivermectin. **European Journal of Pharmacology**, v. 460, n. 2, p. 85-91, 2003.
- TRANQUILLI, W. J.; PAUL, A. J.; SEWARD, R. L. Ivermectin plasma concentrations in Collies sensitive to ivermectin-induced toxicosis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 50, p. 769-770, 1989.

*Autor para correspondência:*

*Cristiano Silva da Rosa.*

*Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Veterinária, Campus Universitário, Capão do Leão (RS), Brasil.*

*cristiano.rosa@ufpel.edu.br*