

Veterinária e Zootecnia

Vet e Zootec.

2017 junho; 24(2): 238-409

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

ISSN Impresso 0102-5716

ISSN Eletrônico 2178-3764

Botucatu - SP – Brasil

Veterinária e Zootecnia

ISSN Impresso 0102-5716
ISSN Eletrônico 2178-3764

VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
UNESP – Campus de Botucatu
18618-681 – Dist. Rubião Jr. – Botucatu – SP – Brasil
Portal: <http://www.fmvz.unesp.br/rvz>
E-mail: vetzootecnia@fmvz.unesp.br
Tel. +55 14 3880 2094

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Veterinária e Zootecnia / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. – Vol. 1, n. 1(1985)- . – Botucatu, SP : FMVZ, 1985

Trimestral

Texto em português/inglês/espanhol

Descrição baseada em: Vol. 24, n.1, mar. (2017)

ISSN Impresso 0102-5716

ISSN Eletrônico 2178-3764

1. Medicina veterinária. 2. Zootecnia. I. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu.

Os artigos publicados na *Revista VETERINÁRIA E ZOOTECNIA* são indexados por:
Lilacs, PERIÓDICA – Índice de Revistas Latinoamericanas em Ciências, Cambridge
Scientific Abstracts, CAB Abstracts e GALE- Cengage Learning.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Administração Geral da UNESP

Reitor

Prof. Dr. Sandro Roberto Valentini

Vice-Reitor

Prof. Dr. Sergio Roberto Nobre

Pró-Reitor de Pesquisa

Prof. Dr. Carlos Frederico de Oliveira Graeff

Pró-Reitor de Pós-Graduação

Prof. Dr. João Lima Sant'Anna Neto

Pró-Reitor de Graduação

Prof^ª. Dr^ª. Gladis Massini-Cagliari

Pró-Reitor de Extensão Universitária

Prof^ª. Dr^ª. Cleopatra da Silva Planeta

Pró-Reitor de Administração

Prof. Dr. Leonardo Theodoro Büll

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Administração da FMVZ

Diretor

Prof. Dr. Celso Antonio Rodrigues

Vice-Diretor

Prof. Dr. Cezinande de Meira

Botucatu
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
FMVZ
2017

EXPEDIENTE**Comissão Editorial**

Helio Langoni (Editor chefe)
Márcio Garcia Ribeiro
André Mendes Jorge

Assessoria Técnica

Editoração Eletrônica: José Luis Barbosa de Souza, Wellington Ricardo Guerra

Normalização Bibliográfica: Rinaldo José Ortiz

Revisor – Espanhol: Selene Daniela Babboni (FMVZ – UNESP/Botucatu)

Secretaria: Apoio: Wellington Ricardo Guerra

A Revista **Veterinária e Zootecnia**, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-UNESP, Campus de Botucatu, publica artigos científicos originais, artigos de revisão bibliográfica, relatos de casos e comunicações curtas, referentes às áreas de Medicina Veterinária e de Zootecnia, com periodicidade trimestral, em português, espanhol, ou inglês, sendo os conceitos e opiniões emitidas, de responsabilidade exclusiva dos autores. Poderá editar e disponibilizar em sua página na internet, suplementos de eventos científicos.

A publicação está condicionada à avaliação preliminar do presidente da Comissão Editorial, que analisa o mérito e os aspectos formais do trabalho, de acordo com a categoria do artigo submetido e normas editoriais estabelecidas. Se adequado, adotando-se o mérito da avaliação por pares, é encaminhado para dois assessores (relatores), de acordo com a área. Os pareceres são mantidos sob sigilo absoluto, não havendo possibilidade de identificação entre autores e pareceristas. Os artigos não publicados são devolvidos.

Os trabalhos devem ser encaminhados pela página da internet:
<http://www.fmvz.unesp.br/rvz>.

Prof. Dr. Helio Langoni

Revista “Veterinária e Zootecnia”

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Botucatu

18618-681 - Dist. Rubião Junior, s/n – SP – Brasil

Corpo Editorial

- Aristeu Vieira da Silva (UEFS/Feira de Santana)
Antônio Felipe P. F. Wouk (UFPR – Escola de Agronomia e Veterinária)
Benedito Correa (ICB – USP)
Carlos Robles (Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária – Argentina)
Geraldo Heleno Silveira Alves (UFMG – Escola de Veterinária)
Guilherme J. M. Rosa (School of Veterinary Medicine/Madison – Wisconsin – USA)
Hélio Autran de Moraes (Oregon State University - College of Veterinary Medicine - USA)
Italmar Teodorico Navarro (UEL/Londrina)
José Eduardo P. Santos (University of Florida – USA)
Juan A. M. Hirose (Centro Nacional de Servicios de Diagnóstico en Salud Animal - México)
Julio César Cambraia Veado (UFMG – Escola de Veterinária)
Leonardo José Richtzenhain (FMVZ – USP)
Luiz Cláudio Lopes Correia da Silva (FMVZ – USP)
Luciano dos Santos Bersot (UFPR/Palotina)
Maria Inácia Corrêa de Sá (Laboratório Nacional de Investigação Veterinária – Portugal)
Maria Julia B. F. Flaminio (Cornell University – Cornell – USA)
Maurício Costa Alves da Silva (UFBA/Salvador)
Ney Luiz Pippi (UFMS/Santa Maria)
Pamela Ruegg (School of Veterinary Medicine/Madison – Wisconsin – USA)
Paulo de Camargo Duarte (Colorado State University – USA)
Paulo Roberto Leme (USP – FZEA – Pirassununga)
Rinaldo Aparecido Mota (UFRPE/Recife)
Roberto Mauricio Carvalho Guedes (UFMG – Escola de Veterinária)
Rogério de Paula Lana (UFV/Viçosa)
Rômulo Cerqueira Leite (UFMG – Escola de Veterinária)
Solange Maria Gennari (FMVZ – USP)
Walter Motta Ferreira (UFMG – Escola de Veterinária)

SUMÁRIO/CONTENTS/SUMARIO

EDITORIAL	245
ARTIGOS DE REVISÃO/REVIEW ARTICLES/ARTÍCULOS DE REVISIÓN	
MONITORAMENTO DA QUALIDADE DO LEITE: PROCEDIMENTOS DIAGNÓSTICOS / MILK QUALITY MONITORING: DIAGNOSTIC PROCEDURES / EL MONITOREO DE CALIDAD DE LA LECHE : LOS PROCEDIMIENTOS DE DIAGNÓSTICO. Marcela Pinho Manzi, Helio Langoni	246
UTILIZAÇÃO DA RADIOTERAPIA NA MEDICINA DE ANIMAIS SELVAGENS: UM ESTUDO FUNDAMENTADO EM CASOS OBTIDOS DA LITERATURA / RADIATION THERAPY USING THE WILDLIFE MEDICINE: A REASONED OBTAINED STUDY IN CASES OF LITERATURE / RADIOTERAPIA USO DE LA MEDICINA DE ANIMALES SALVAJES: UN ESTUDIO OBTENIDO EN CASOS DE LITERATURA. Michel de Campos Vettorato, Marco Antonio Rodrigues Fernandes, Luis Carlos Vulcano	256
REAVALIAÇÃO DE POSICIONAMENTOS RADIOGRÁFICOS PARA O DIAGNÓSTICO DA DISPLASIA COXOFEMORAL EM CÃES – REVISÃO DE LITERATURA / REVALUATION OF RADIOGRAPHIC POSITIONING FOR THE DIAGNOSIS OF HIP DYSPLASIA IN DOGS - LITERATURE REVIEW / REEVALUACIÓN DEL POSICIONAMIENTO RADIOGRÁFICA PARA EL DIAGNÓSTICO DE DISPLASIA DE CADERA EN PERROS - REVISIÓN DE LITERATURA. Michel Campos Vettorato, Raquel Sartor Marcelino, Rejane Lima Silva	266
ASPECTOS ULTRASSONOGRÁFICOS DA GLÂNDULA TIREOIDE EM EQUINOS / ULTRASONOGRAPHIC FEATURES OF THE THYROID GLAND IN HORSES / ASPECTOS ECOGRAFICOS DE LA GLÂNDULA TIROIDES EN CABALLOS. Gustavo Fernandes Viana, Alexandre Hataka, José Nicolau Próspero Puoli Filho, Vânia Maria de Vasconcelos Machado	278
RELATOS DE CASO/CASE REPORTS/ESTUDIOS DE CASO	
CONTROLE POPULACIONAL DE ESPÉCIES SILVESTRES INVASORAS POR MEIO DE LAQUEADURA E VASECTOMIA EM PRIMATAS CALLITHRIX PENICILLATA: RELATO DE CASO / POPULATION CONTROL OF INVASIVE WILD SPECIES THROUGH TUBAL LIGATION AND VASECTOMY IN PRIMATES CALLITHRIX PENICILLATA: CASE REPORT / CONTROL DE LA POBLACIÓN DE ESPECIES SILVESTRES INVASORAS MEDIANTE LIGADURA DE TROMPAS Y VASECTOMÍA EN PRIMATES CALLITHRIX PENICILLATA: INFORME DEL CASO. Davi Fragôso da Silva, Elisângela Barboza da Silva, André Preturlon Terra	289
OSTEOPATIA HIPERTRÓFICA ASSOCIADA À METÁSTASE INTRATORÁCICA DE TUMOR MAMÁRIO CANINO: RELATO DE DOIS CASOS / HYPERTROPHIC OSTEOPTHY ASSOCIATED WITH INTRATHORACIC METASTASIS OF MAMMARY TUMOR CANINE: TWO CASES REPORT / OSTEOPATÍA HIPERTRÓFICA ASOCIADA CON METÁSTASIS INTRATORÁCICA CANINA DE TUMOR DE MAMA: DOS CASOS DE INFORME. Lianna Ghisi Gomes, Izabela Cristina da Silva Martins, Paulo Roberto Spiller, Gleicieli Monteiro Pereira, Camila Calvi Menegassi, Douglas Rodrigo Mattei, José Léo Queiroz da Silva Júnior, Kalinne Stephanie Bezerra, Roberto Lopes de Souza	296
CARCINOMA INDIFERENCIADO DE PÂNCREAS EXOCRINO EN PERRO: DESCRIPCIÓN DE CASO / CARCINOMA INDIFERENCIADO DE PÂNCREAS EXÓCRINO EM CÃO: RELATO DE CASO / UNDIFFERENTIATED CARCINOMA OF THE EXOCRINE PANCREAS IN DOG: CASE REPORT. Sabrina Oliveira dos Santos, Priscila Pavini Cintra, Carlos Fonseca-Alves, Oscar Rodrigo Sierra Matiz, Geórgia Modé Magalhães, Ângelo de Sousa Jorge, Sabryna Gouveia Calanzans	303

COMUNICAÇÃO CURTA/ SHORT COMMUNICATION/ COMUNICAIÓN CURTA

REMAINING UTERINE MESONEPHRIC DUCT CYST IN FEMALE DOG (CANIS FAMILIARIS) – FIRST CASE REPORT IN BRAZIL / CISTO DE DUCTO MESONÉFRICO UTERINO REMANESCENTE EM CADELA (CANIS FAMILIARIS) - PRIMEIRO RELATO DE CASO NO BRASIL / QUISTE REMANECIENTE DEL DUCTO MESONÉFRICO UTERINO EN PERRA (CANIS FAMILIARIS) – PRIMERO RELATO DEL CASO EN BRASIL. Ivan F. Charas Santos, Maira Duarte Del Poente, Bruna Brancalion, Bruna Martins Silva, Mayara Viana Freire Gomes, Frederico Matheus Ducatti Gois, Diana Milanez Avila Dias Maciel311

ARTIGOS/ARTICLES/ARTÍCULOS

LIPIDOGRAMA, FUNÇÃO HEPÁTICA E PRODUÇÃO DE LEITE EM VACAS SUPLEMENTADAS COM SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA / SERUM LIPID PROFILE, HEPATIC FUNCTION AND MILK PRODUCTION IN COWS SUPPLEMENTED WITH BOVINE RECOMBINANT SOMATOTROPIN / PERFIL DE LÍPIDOS SÉRICOS, FUNCIÓN HEPÁTICA Y PRODUCCIÓN DE LECHE EN VACAS SUPLEMENTADAS CON SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE. Daniel Signor, Gustavo Dal Piva, Lucas Huf, Eliana Fiorentin, Brayann Immich, José Francisco Rocha, Marta Lizandra Leal, José Francisco Bragança, Ricardo Xavier Rocha316

ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS DE PELE DE CAMUNDONGOS INOCULADOS COM O VENENO TOTAL DA SERPENTE *Philodryas nattereri* / MORPHOLOGICAL ALTERATIONS IN MICE SKINS INOCULATED WITH THE TOTAL SNAKE VENOM OF *Philodryas nattereri* / LAS ALTERACIONES MORFOLÓGICAS EN LA PIEL DE RATONES CAUSADAS POR EL VENENO DE LA SERPIENTE *Philodryas nattereri*. Rebeca Horn Vasconcelos, João Alison de Moraes Silveira, Gláyciane Bezerra de Moraes, Joselito de Oliveira Neto, Francisco Antonio Felix Xavier Junior, Karen Denise da Silva Macambira, Natacha Teresa Queiroz Alves, Roberta da Rocha Braga, Diva Maria Borges-Nojosa, Celia Maria de Souza Sampaio, Helena Serra Azul Monteiro, Janaina Serra Azul Monteiro Evangelista323

AUSÊNCIA DE HELICOBACTER SPP. EM LESÕES GÁSTRICAS DE SUÍNOS PELO MÉTODO WARTHIN-STARRY / ABSENCE OF HELICOBACTER SPP. IN GASTRIC LESIONS IN PIGS USING WARTHIN-STARRY STAINING METHOD / AUSENCIA DE HELICOBACTER SPP. EN LESIONES GÁSTRICAS EN CERDOS UTILIZANDO EL MÉTODO DE TINCIÓN DE WARTHIN -STARRY. Natalia Viana Tamiasso, Juliana de Castro Cosme, Marcus de Freitas Ferreira, Louisiane de Carvalho Nunes336

PERFIL DO CONSUMIDOR DE CARNE DE FRANGO NO MUNICÍPIO DE AQUIDAUANA, MS / CONSUMER PROFILE OF CHICKEN MEAT IN THE MUNICIPALITY OF AQUIDAUANA, MS / PERFIL DEL CONSUMIDOR DE CARNE DE POLLO EN LA CIUDAD DE AQUIDAUANA, MS. Elis Regina de Moraes Garcia, Rosemary Pereira de Pedro Souza, Nanci Cappi, Laura Ramos de Ávila, William Brites Feliciano, Flavia Kleszcz da Cruz345

INQUÉRITO SOBRE O USO DE ANIMAIS NÃO HUMANOS EM PESQUISAS NO INSITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – UNESP – BOTUCATU - SP / SURVEY REGARDING THE USE OF ANIMALS IN RESEARCH AT UNESP BIOSCIENCES INSTITUTE, BOTUCATU - SP / ENCUESTA SOBRE EL USO DE ANIMALES NO HUMANOS EN INVESTIGACIONES EN EL INSTITUTO DE BIOCENCIAS DE LA UNESP, BOTUCATU - SP. Ana Elisa Sales Dourado, Stelio Pacca Loureiro Luna, Nadia Crosignani353

POTENCIAL DA DESLORELINA COMO AGENTE INDUTOR DA OVULAÇÃO EM VACAS PRIMÍPARAS *Bos taurus indicus* NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO / POTENTIAL OF DESLORELIN AS INDUCTOR OF OVULATION FOR TIMED-ARTIFICIAL INSEMINATION IN PRIMIPAROUS *Bos taurus indicus* COWS / POTENCIAL DE LA DESLORELINA COMO AGENTE INDUTOR DE LA OVULACIÓN EN VACAS PRIMÍPARAS *Bos taurus indicus* EN LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN TIEMPO FIJO. Laisa Sincero Rabelo de Oliveira, André Luiz Bastos de Souza, Luiz Ernandes Kozicki, Marcio Segui, Victor Breno Pedosa, José Antonio Dell'Aqua Junior, Romildo Romualdo Weiss, Ana Claudia Machinski Rangel de Abreu363

PERFIL DOS PRODUTORES RURAIS DE DOIS ASSENTAMENTOS NOS MUNICÍPIOS DE BREJO ALEGRE E BIRIGUI, ESTADO DE SÃO PAULO / PROFILE OF FARMERS FROM TWO SETTLEMENTS IN THE MUNICIPALITIES OF BREJO ALEGRE AND BIRIGUI, STATE SÃO PAULO / PERFIL DE LOS AGRICULTORES EN DOS ASENTAMIENTOS EN LOS MUNICIPIOS DE BREJO ALEGRE Y BIRIGUI, ESTADO DE SÃO PAULO. Miriam Yumi Makatu, José Antonio Soares, Lucas Vinicius Shigaki de Matos, Willian Marinho Dourado Coelho, Fabio Fernando Ribeiro Manhoso, Carlos Noriyuki Kaneto, Katia Denise Saraiva Bresciani373

HISTOPATHOLOGICAL ASSESSMENT OF THE LIVER DURING EXPERIMENTAL INFECTION WITH *Leishmania (Leishmania) chagasi* IN IMMUNOSUPPRESSED BALB/C MICE / AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DO FÍGADO DURANTE A INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *Leishmania chagasi (Leishmania)* EM CAMUNDONGOS BALB / C IMUNOSSUPRIMIDOS / EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICO DEL HÍGADO DURANTE LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL POR *Leishmania chagasi (Leishmania)* EN RATONES BALB / C CON INMUNOSUPRESIÓN. Ana Paula Ferreira Lopes Corrêa, Maria Cecília Rui Luvizotto, Silvio Luis de Oliveira, Gabriela Capriogli Oliveira, Helio Langoni384

EDITORIAL

OS CAMINHOS DA SOCIEDADE E DA CIÊNCIA

Perante a tantas dúvidas e questionamentos da sociedade brasileira face ao cenário social e político que vivemos, a comunidade científica também se questiona sobre o seu valor como contribuição para novas descobertas e avanços da ciência e da tecnologia. Tudo isso em função, é claro, da desvalorização quando se avalia tanta falácia e desencontro de informações na tentativa de se manter a tendenciosidade contrária ao pleno desenvolvimento de nosso país.

O que devemos esperar para o nosso futuro e, principalmente, para as novas gerações quando estamos vivendo a inércia e espera de soluções corretas e dignas para uma sociedade que contribui com elevados impostos, poucos direitos, mas ao contrário, muitos deveres e mínimas possibilidades de atuação para mudanças de paradigmas, senão continuar vivenciando momentos de manutenção de interesses próprios de muitos que se julgam a supremacia do país.

Sejamos otimistas e continuemos semeando a esperança em dias melhores. O presente número da Revista Veterinária e Zootecnia traz artigos interessantes inéditos, contribuindo com o desenvolvimento científico em diferentes áreas do conhecimento. Como artigos de revisão: Monitoramento da qualidade do leite: procedimentos diagnósticos; Utilização da radioterapia na medicina de animais selvagens: um estudo fundamentado em casos obtidos da literatura; Reavaliação de posicionamentos radiográficos para o diagnóstico da displasia coxofemoral em cães – revisão de literatura; Aspectos ultrassonográficos da glândula tireoide em equinos. Os relatos de caso: Controle populacional de espécies silvestres invasoras por meio de laqueadura e vasectomia em primatas *Callithrix penicillata*: relato de caso; Osteopatia hipertrófica associada à metástase intratorácica de tumor mamário canino: relato de dois casos; Carcinoma indiferenciado de pâncreas exócrino em perro: descrição de caso. A comunicação curta: Remaining uterine mesonephric duct cyst in female dog (*Canis familiaris*) – first case report in Brazil. Os artigos originais: Lipidograma, função hepática e produção de leite em vacas suplementadas com somatotropina recombinante bovina; Alterações morfológicas de pele de camundongos inoculados com o veneno total da serpente *Philodryas nattereri*; Ausência de *Helicobacter* spp. em lesões gástricas de suínos pelo método Warthin-Starry; Perfil do consumidor de carne de frango no município de Aquidauana, MS; Inquérito sobre o uso de animais não humanos em pesquisas no Instituto de Ciências Biológicas – UNESP – Botucatu - SP; Potencial da deslorelina como agente indutor da ovulação em vacas primíparas *Bos taurus indicus* na inseminação artificial em tempo fixo; Perfil dos produtores rurais de dois assentamentos nos municípios de Brejo Alegre e Birigui, estado de São Paulo; Histopathological assessment of the liver during experimental infection with *Leishmania (Leishmania) chagasi* in immunosuppressed BALB/c mice.

Prof. Helio Langoni
Editor-Chefe

MONITORAMENTO DA QUALIDADE DO LEITE: PROCEDIMENTOS DIAGNÓSTICOS

Marcela Pinho Manzi¹
Helio Langoni¹

RESUMO

Entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de origem. Uma das principais características que define a aceitação do leite é o conjunto de suas características sensoriais, sendo as principais o sabor e aroma. O controle da qualidade do leite no Brasil tem sido fator importante para a consolidação de toda cadeia produtiva, passando, necessariamente, pelas indústrias de laticínios. A produção de leite de boa qualidade garante, certamente, a segurança alimentar dos consumidores. As medidas para a obtenção de leite de qualidade se iniciam na propriedade, na realização de procedimentos corretos, na ordenha, no armazenamento e também no transporte do produto ao laticínio. Posteriormente, na avaliação laboratorial das propriedades físico químicas, investigação de fraudes, e realização de exames microbiológicos. Por fim, medidas de educação sanitária são necessárias para que os produtores se conscientizem dos benefícios econômicos com a obtenção de leite de melhor qualidade. O objetivo desta revisão é ressaltar a importância da utilização de procedimentos diagnósticos, para o controle de mastites e a consequente obtenção de leite de melhor qualidade.

Palavras-chave: leite, bovino, qualidade, métodos de diagnóstico.

MILK QUALITY MONITORING: DIAGNOSTIC PROCEDURES

ABSTRACT

Means for milk, not otherwise specified, the product from complete and uninterrupted milking, in a hygienic, healthy cows, well fed and rested. The milk of other animals must be called according to origin of species. One of the main characteristics that defined the milk is the set of their sensory characteristics, and the main flavor. The control of milk quality in Brazil has been an important factor for the consolidation of the entire production chain, passing necessarily by the dairy industry. The production of milk with good quality guarantees, of course, food safety for consumers. The measures to obtain milk begin on the property, in carrying out correct procedures for milking, storage and transportation of the product also in the dairy. Later, in the laboratory evaluation of physicochemical properties, research fraud, and microbiological examinations. Finally, measures of health education are need for producers to become aware of the economic benefits by obtaining a better quality milk. The objective of this review is to emphasize the importance of using diagnostic procedures methods for the control of mastitis and consequently obtain better milk quality.

Keywords: milk, bovine, quality, diagnosis methods.

¹ Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Unesp/Campus de Botucatu. Correspondência: marcela.pmanzi@gmail.com

EL MONITOREO DE CALIDAD DE LA LECHE : LOS PROCEDIMIENTOS DE DIAGNÓSTICO

RESUMEN

Se entiende por leche, no se especifique lo contrario, el producto derivado de la ordeña completa e ininterrumpida, las condiciones de higiene, vacas sanas, bien alimentado y descansado. La leche de otros animales debe ser nombrado de acuerdo a la especie de origen. Una característica clave que define la aceptación de la leche es el conjunto de sus características sensoriales, el sabor y el aroma principal. El control de calidad de la leche en Brasil ha sido un factor importante en la consolidación de toda la cadena de producción, que pasa necesariamente por la industria láctea. La producción de leche de buena calidad garantiza sin duda la seguridad alimentaria de los consumidores. Las medidas para lograr la calidad de la leche comienzan en la propiedad, en la realización de los procedimientos adecuados para el ordeño, almacenamiento y también en el transporte del producto a los productos lácteos. Más tarde, en la evaluación de laboratorio de las propiedades físico-químicas, investigación de fraude, y la realización de pruebas microbiológicas. Por último, las medidas de educación para la salud son necesarios para garantizar que los productores son conscientes de los beneficios económicos mediante la obtención de una mejor calidad de la leche. El objetivo de esta revisión es hacer hincapié en la importancia de utilizar los procedimientos de diagnóstico para el control de la mastitis y en consecuencia obtener una mejor calidad de la leche.

Palabras clave: leche, bovino, calidad, métodos de diagnóstico.

1. INTRODUÇÃO

Entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de origem (1). Uma das principais características que define a aceitação do leite é o conjunto de suas características sensoriais, com ênfase ao sabor e aroma. Segundo Arcuri et al. (2), o leite de cada espécie tem sabor e aroma próprios, de caráter inconfundível e único, conferidos pelos seus constituintes. Os constituintes que contribuem para o sabor e aroma são principalmente a lactose (sabor adocicado) e os sais inorgânicos (salgado), e também outros, como álcoois, ácidos graxos, lactonas e compostos formados ou ativados durante o tratamento térmico. A sua composição é determinante para o estabelecimento da sua qualidade nutricional.

A biossíntese do leite ocorre na glândula mamária, sob controle hormonal. Muitos dos constituintes são sintetizados nas células secretoras e alguns são agregados ao leite diretamente a partir do sangue e do epitélio glandular. Os principais constituintes são a água, lactose, gordura, substâncias minerais, ácidos orgânicos, dentre outros (3). O controle da qualidade do leite no Brasil tem sido um fator importante para a consolidação de toda cadeia produtiva, passando, necessariamente, pelas indústrias de laticínios (4). A produção de leite de boa qualidade garante, certamente, segurança alimentar dos consumidores.

A mastite é uma das principais causas da baixa qualidade do leite. É considerada a doença ou afecção mais frequente no gado leiteiro e que acarreta maiores prejuízos econômicos a produção leiteira (5). A baixa qualidade do leite pode acarretar problemas de saúde pública e prejuízos às indústrias de laticínios e derivados (6). As medidas para a obtenção de leite de qualidade se iniciam na propriedade, na realização de procedimentos corretos, na ordenha, no armazenamento e também no transporte do produto ao laticínio.

Posteriormente, na avaliação laboratorial das propriedades físico químicas, pesquisa de fraudes e realização de exames microbiológicos. As medidas de educação sanitária também são

importantes para que os produtores se conscientizem dos benefícios econômicos com a obtenção de leite de melhor qualidade. O objetivo desta revisão é ressaltar a importância da utilização de procedimentos diagnósticos para o controle de mastites e a consequente obtenção de leite de melhor qualidade.

2. PROCEDIMENTOS DIAGNÓSTICOS

2.1. Ações a campo:

2.1.1. Exame Clínico: O exame clínico é fundamental para o diagnóstico de mastite clínica, visto que alterações macroscópicas são facilmente identificadas, tais como edema, nódulos, abscessos, hiperemia, fístulas e aumento da temperatura local. Além de alterações do teto, pode-se observar também como indicador da saúde da glândula mamária, o grau de calosidade do esfíncter do teto e a sujidade do úbere (7,8). O esfíncter e o canal do teto são barreiras primárias importantes contra a invasão de patógenos no úbere e lesões no esfíncter do teto são frequentemente colonizadas por *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp., fato que reforça a relação entre o estado físico dos quartos mamários e a presença de micro-organismos (9). A classificação da integridade do esfíncter do teto em escores pode servir como importante ferramenta para o controle da mastite bovina. Outro aspecto relevante é a higiene do úbere. Para tanto é importante a avaliação desta característica no momento em que a vaca está sendo ordenhada, pois reflete na qualidade do leite e relaciona-se com a ocorrência de patógenos, principalmente ambientais (10).

A prova de Tamis (canela telada de fundo escuro) é utilizada no diagnóstico da mastite clínica. Detecta presença de alterações macroscópicas no leite, como grumos, pus, que ficam aderidos à tela da caneca, e ainda estrias de sangue. Deve ser realizado logo após a limpeza dos tetos previamente a ordenha, desprezando-se os três primeiros jatos de leite.

O California Mastitis Test (CMT), desenvolvido por Schalm e Noorlander (11) é utilizado para o diagnóstico da mastite subclínica. A interpretação do CMT se baseia na observação visual do leite após ser misturado ao reagente. A reação se processa entre o reagente e o material genético das células somáticas presentes no leite, formando um gel, cuja concentração é proporcional ao número de células somáticas. O resultado do CMT é expresso em escores: negativo (-), suspeito (+/-), fracamente positivo (+), positivo (++) e fortemente positivo (+++) (12). Utiliza-se uma raquete, a qual é constituída por quatro receptáculos circulares. São desprezados os três primeiros jatos de leite e a seguir ordenha-se ao redor de 2 mL de leite em cada receptáculo, adicionando-se o mesmo volume de reagente. Após homogeneização com movimentos circulares vigorosos, por 30 segundos, realiza-se a leitura.

2.2. Diagnóstico em Laboratório:

2.2.1. Análises microbiológicas:

2.2.1.1. Contagem padrão de micro-organismos mesófilos estritos e facultativos viáveis (contagem global): É um indicador da qualidade microbiológica do leite, uma vez que a presença de micro-organismos mesófilos em grande quantidade em alimentos pode significar deficiências higiênicas na obtenção da matéria-prima, aplicação de processo tecnológico inadequado, manipulação higiênica incorreta do produto ou até mesmo manutenção em condições impróprias.

2.2.1.2. Contagem de bolores e leveduras: Algumas espécies de bolores e leveduras são importantes na fabricação de alimentos e têm como função conferir sabor, aroma e aspecto visual aos produtos. Outras espécies podem provocar degradação, além de produzirem micotoxinas prejudiciais à saúde do consumidor.

2.2.1.3. Contagem Bacteriana Total (CBT): A contagem bacteriana total é a mensuração do número de colônias usando meio de cultura e temperatura específicos. Os resultados são aferidos pelo número total de bactéria/mL de leite (13). A contagem bacteriana total encontrada no tanque de resfriamento é considerado indicador valioso da qualidade do leite. As técnicas de cultura microbiológica empregadas fornecem as contagens bacterianas total, termodúrica (realizada após a pasteurização), bem como a de coliformes e *Staphylococcus aureus*, além do exame bacteriano qualitativo padrão que determina os tipos de bactérias presentes (14,15).

2.2.1.4 Contagem de *Staphylococcus aureus*: São cocos Gram-positivos, coagulase positiva que formam grupos com aspecto de “cachos de uvas”. Em cultivo microbiológico são vistas como colônias amareladas devido à produção de pigmentos carotenoides (16,17). *S. aureus* apresenta ampla temperatura de multiplicação entre 7°C a 48,5°C (com temperatura ótima de 35 a 37°C), e são tolerantes a concentrações de 10% a 20% de cloreto de sódio e nitratos (18). Podem produzir enterotoxinas nos alimentos, o que determinam quadros de toxi- infecção aos consumidores. *Staphylococcus aureus* está presente em lesões na pele, conjuntivas e mucosas dos humanos e animais. A presença deste micro-organismo nos alimentos pode refletir em condições inadequadas de manipulação, bem como baixo nível de higiene pessoal dos manipuladores.

2.2.1.5. Pesquisa de *Salmonella* spp.: Levantamentos epidemiológicos realizados em vários países situam as salmonelas entre os agentes patogênicos mais frequentemente encontrados em surtos de toxi-infecção de origem alimentar, tanto em países desenvolvidos, como emergentes (em desenvolvimento). O leite e derivados são, ainda, um dos mais importantes veículos de transmissão de *Salmonella* spp. (19). Bactérias do gênero *Salmonella* pertencem à família Enterobacteriaceae. São Gram - negativas, em forma de bacilo e, na sua maioria, móveis por flagelos, não esporuladas, não capsuladas, não fermentadoras de lactose. São bactérias patogênicas, com pH ótimo de desenvolvimento entre 4 e 9, e temperaturas ideais de multiplicação entre 35 e 37°C. Não resistem à pasteurização.

2.2.1.6. Pesquisa de *Listeria monocytogenes*: *Listeria* spp. é um cocobacilo Gram-positivo, não esporulado, não produtor de ácidos, aeróbio e anaeróbio facultativo, de ampla distribuição ambiental. São bactérias ubíquas, tendo sido isoladas de águas superficiais, de esgotos domésticos, águas residuárias de indústrias de laticínios e de abatedouros, de solos, de insetos, de adubo orgânico e em fezes de animais e de humanos (20). Pode também ser isoladas em diversos produtos alimentícios, sejam crus ou após tratamentos térmicos ou químicos (21). *L. monocytogenes* é patogênica para os humanos e animais. As 12 características de resistência, frente às diferentes situações, a torna patógeno emergente e de grande interesse na área de alimentos (22).

2.2.1.7. Contagem de coliformes totais e coliformes termo tolerantes: O grupo dos coliformes totais é composto por bactérias da família Enterobacteriaceae, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, quando incubados a 35-37°C, por 48 horas. Fazem parte desse grupo principalmente bactérias pertencentes aos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Destes, apenas *Escherichia coli* tem como hábitat primário o trato intestinal dos humanos e animais homeotérmicos. Os demais, além de encontrados nas fezes, também estão presentes em outros ambientes como na vegetação e no solo, onde persistem por tempo superior ao de bactérias patogênicas de origem intestinal, como *Salmonella* spp. e *Shigella* spp.. A presença de coliformes totais no alimento não indica, necessariamente, contaminação fecal recente (23).

2.2.2. Contagem de Células Somáticas (CCS): A contagem de células somáticas é indicativo do número de células leucocitárias do sangue e células epiteliais presentes no leite. É usada como parâmetro de infecção do úbere (24). Os leucócitos do sangue aumentam devido à resposta inflamatória do tecido mamário. Já as células epiteliais, se desprendem fisiologicamente do tecido mamário. A maior parte das células somáticas presentes na CCS corresponde aos leucócitos, particularmente neutrófilos (12). De acordo com a Instrução Normativa 51, a partir de 01/07/2011 para as regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste brasileiras a CCS tanto para tanques individuais, quanto para os de mistura, deveria ser de, no máximo, 400.000 13 CCS/mL¹. Entretanto, este prazo foi dilatado por seis meses de acordo com a IN 62 do MAPA-30/06/2011, até 01/02/2012. São muitos os fatores que podem afetar a contagem de células somáticas. As principais são: ocorrência de mastite, tipo de micro-organismo envolvido, idade do animal, estágio de lactação, variações diurnas e sazonais, estresse e frequência de ordenha.

2.2.3. Análises Físico-Químicas

2.2.3.1. Alizarol: O princípio baseia-se na ocorrência de coagulação por efeito da elevada acidez ou do desequilíbrio salino, quando se promove desestabilização das micelas pelo álcool e na mudança de colocação da mistura. O alizarol, pela presença da alizarina, atua como indicador de pH, auxiliando a diferenciação entre o desequilíbrio salino e a acidez excessiva (28). A prova do álcool-alizarol não afere exatamente a acidez do leite, mas, verifica a tendência do leite em coagular. O leite que coagula nessa prova não resiste ao calor. Portanto, não pode ser misturado aos demais (25).

2.2.3.2. Acidez titulável: O princípio consiste na titulação de determinado volume de leite por uma solução alcalina de concentração conhecida, utilizando como indicador a fenolftaleína (28). Considera-se como acidez, quando a acidificação ultrapassa a 1,8 gramas por litro de leite, que corresponde a 18° D (18 graus Dornic). A acidificação é devida ao desdobramento da lactose pelas bactérias que se encontram em intensa multiplicação no leite. O leite ácido é impróprio para o consumo e industrialização. Após a ordenha, a acidez aumenta por influência da temperatura e, principalmente, pela falta de higiene e contato com os equipamentos utilizados durante a ordenha.

2.2.3.3. Pesquisa de Peróxido de Hidrogênio: É possível a ocorrência de fraudes no leite, como adição de hidróxido de sódio e peróxido de hidrogênio. Muitos consumidores passaram a comprar leite cru no Distrito Federal por receio da qualidade dos produtos lácteos industrializados. A água oxigenada não pode ser considerada aditivo incidental, pois é adicionada ilegalmente ao leite com a finalidade de inibir a multiplicação bacteriana. O seu controle é necessário, pois pode alterar as propriedades organolépticas do produto (26).

2.2.3.4. Índice crioscópico: O princípio baseia-se no super congelamento de amostra de leite a temperatura apropriada e aplicação de agitação mecânica, que determina rápido aumento da temperatura correspondente ao ponto de congelamento (27). Este valor é dependente de fatores relacionados ao animal, ao leite, ao ambiente, ao processamento e as técnicas crioscópicas, gerando dificuldades para o estabelecimento de padrões crioscópicos. A adulteração ou falsificação mais comum do leite é a aguagem ou adição de água. A aguagem acelera o congelamento do leite. Pela Instrução Normativa 51, o limite do índice crioscópico e a -0,530 °H (equivalente a -0,512°C) ¹.

2.2.3.5. Neutralizantes de acidez: A acidez titulável muitas vezes pode ser mascarada pelo emprego de neutralizantes. A alcalinidade das cinzas é o método oficial do MAPA para detectar presença de neutralizantes de acidez, pela IN n°68 de 12 de novembro de 2006. Pode indicar a

adição ilegal de substâncias alcalinas, como bicarbonato de sódio e hidróxido de sódio ao leite ácido, visando reduzir a acidez titulável até níveis permitidos pela legislação. O teste de alcalinidade das cinzas só é válido para leite pasteurizado e cru, devido à permissão da adição de citrato de sódio do leite UHT. Esta substância aumenta a concentração de substâncias alcalinas nas cinzas do leite (28).

2.2.3.6. Pesquisa de impurezas como Pus e Sangue: A pesquisa de sangue ou pus no leite objetiva a identificação de amostras provenientes de animais com infecções, especialmente nas glândulas mamárias. A presença de sangue no leite geralmente é um indicador de ruptura de vasos sanguíneos da glândula mamária por trauma ou de hemorragia capilar do úbere congesto em período pós-parto imediato. Caso persista por mais de três dias, o leite é inadequado para o consumo humano (29). A presença de leite corado por sangue nos quatro tetos, em momentos não relacionados ao puerpério imediato, pode sugerir leptospirose e, possivelmente, outras doenças nas quais ocorram hemólise intravascular ou lesões capilares (14).

2.2.3.7. Densidade a 15°C: Para o leite, a densidade é considerada como propriedade aditiva, dependendo diretamente da matéria dissolvida e suspensa no volume pesquisado. Segundo o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (30), o leite normal apresenta densidade variando entre 1,028 a 1,033 g/mL, medida a 15°C. Porém, segundo os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade, Qualidade, Coleta e Transporte de Leite (Instrução Normativa nº 51) para leites tipo A, B, e C e leite cru refrigerado, os valores normais de densidade variam entre 1,028 a 1,034 g/mL¹.

2.2.3.8. Gordura: O princípio do método utilizado para determinação da gordura baseia-se no ataque seletivo da matéria orgânica por meio de ácido sulfúrico, com exceção da gordura que será separada por centrifugação, auxiliada pelo álcool amílico, que modifica a tensão superficial (31). O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado cita que o limite de teor original da matéria gorda g/100 g é de no mínimo 3,0 g¹.

2.2.3.9. PH: O pH do leite recém ordenhado de uma vaca sadia pode variar entre 6,4 a 6,8, e também é utilizado como indicador da qualidade sanitária e da estabilidade térmica do leite. Nos casos graves de mastite, o pH pode se elevar a 7,5 e na presença de colostro, pode reduzir a 6,0 (32). Em casos de mastite, ocorre aumento do pH, pois no processo inflamatório ocorre a vasodilatação, misturando o leite ao sangue (pH levemente alcalino) tornando o pH do leite mais próximo do pH do sangue (33). Em casos de proliferação bacteriana, o leite assume pH levemente ácido, devido a liberação de ácido láctico produzido pelos micro-organismos fermentadores.

2.2.3.10. Fosfatase alcalina e Peroxidase: Em casos de leite pasteurizado ou UHT, realiza-se também a pesquisa das enzimas peroxidase e fosfatase alcalina (27), para verificar se o tempo e temperatura utilizados na pasteurização foram eficientes. A fosfatase alcalina é sensível à pasteurização, e sua presença no produto final indica que o processo de pasteurização não foi eficiente. A peroxidase não é inativada pela pasteurização, mas é destruída em temperaturas superiores a 80° C. Portanto, é utilizada para verificar se ocorreu o superaquecimento durante o tratamento térmico (34).

2.2.4. Resíduos de antimicrobianos ou inibidores da multiplicação de micro-organismos: Resultam do uso terapêutico e profilático desses fármacos. Desta forma são fatores preocupantes no contexto de saúde pública, em decorrência dos graves problemas que podem provocar (35). A presença de resíduos de antimicrobianos no leite pode causar graves efeitos na saúde do consumidor, entre os quais: hipersensibilidade, choque anafilático, teratogenia,

resistência microbiana e desequilíbrio da microbiota intestinal. Acarreta, ainda, prejuízos financeiros para a indústria de laticínios, por interferirem na produção de derivados (36).

2.3.Educação Sanitária: A melhoria da qualidade do leite é resultado de um conjunto de fatores, desde a educação até o treinamento dos produtores e técnicos (37). Um projeto de educação continuada junto aos produtores é parte essencial em programa para a melhoria na qualidade do leite. Palestras e dias de campo para produtores, e todas as pessoas envolvidas com a ordenha, projetos de assistência técnica, fornecimento de manuais técnicos informativos e a disponibilização dos resultados de análise de qualidade, são ações recomendadas em programas de melhoria da qualidade do leite. Funcionários capacitados com relação ao manejo zoo-sanitário de vacas leiteiras e bem remuneradas desenvolvem melhor suas atividades, obtendo-se leite de melhor qualidade.

CONCLUSÃO

Os procedimentos diagnósticos são de extrema importância, e são aplicados em toda a cadeia produtiva leiteira, desde as ações na propriedade com os cuidados no manejo zoo-sanitário, até os exames laboratoriais realizados com amostras de leite das vacas da propriedade ou nos tanques de expansão, visando a melhoria da qualidade do produto para os consumidores e para a indústria láctea.

REFERÊNCIAS

1. Instrução Normativa 51, de 18 de Setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo cru refrigerado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel, em conformidade com os anexos a esta instrução normativa. Diário Oficial da União. 18 Set 2002; Sec. I, p.13.
2. Acuri EF, Brito JRF, Brito MAVP. Sabor e aroma: como preservar. Balde Branco [Internet]. 2005 [cited 2011 Sept 26];40(489A):62-4. Available from: http://www.laticinio.net/inf_tecnicas.asp?cod=66.
3. Sa E. Análises para detectar fraudes em leite. Leite Derivados. 2004;78.
4. Silva RCB, Barbosa SBP, Andrade AC, Silva AM, Silva CX, Mauricio EA, et al. Análises físico-químicas para determinação da qualidade em leite cru. In: Anais da 10a Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX; 2010; Recife. Recife: UFRPE; 2010.
5. Ribeiro MER, Petrini LA, Aita MF, Balbinotti M, Stumpf Jr W, Gomes JF, et al. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do rio grande do sul. Rev Bras Agrocienc. 2003;9(3):287-90.
6. Fagundes H, Oliveira CAF. Infecções intra-mamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. Cienc Rural. 2004;3(4):1315-20.
7. Schreiner DA, Ruegg PL. Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis. J Dairy Sci. 2003;86(11):3460-5.
8. Manzi MP, Nobrega DB, Faccioli PY, Troncarelli MZ, Menozzi BD, Langoni H. Relationship between teat-end condition, udder cleanliness and bovine subclinical mastitis. Res Vet Sci. 2011;93(1):430-4.

9. Neijenhuis F, Barkema HW, Hogeveen H, Noordhuizen JPTM. Classification and longitudinal examination of callused teat ends in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2000;83(12):2795-804.
10. Schreiner DA, Ruegg PL.. Effects of tail docking on milk quality and cow cleanliness. *J Dairy Sci.* 2002;85(10):2503-11.
11. Schalm OW, Noorlander D. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *J Am Vet Med Assoc.* 1957;130(5):199-204.
12. Xia SZ. The rheology of gel formed during the California Mastitis Test [dissertation]. Hamilton: The University of Waikato; 2006.
13. Blowey R, Edmondson P. Mastitis control in dairy herds. 2nd ed. Winslow: Butler Tanner e Dennis; 2010.
14. Blowey R, Edmondson P, Davis J. Bacterial counts in bulk milk - an update. In *Practice* 1999; 21:531-535.
15. Radostits M, Gay C, Blood C, Hinchcliff W. Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. 9a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.
16. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA, Kobayashi GS. Microbiologia médica. 4a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
17. Moura RA, Purchio A, Wada CS, Almeida TV. Técnicas de laboratório. 3a ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2006.
18. Frazier WC, Westhoff DC. Microbiologia de los alimentos. 4a ed. Zaragoza: Acribia; 2000.
19. Ávila CR, Gallo CR. Pesquisa de *Salmonella* spp. em leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo "minas frescal" comercializados no município de Piracicaba – SP. *Sci Agric.* 1996;53(1).
20. Nojimoto ITI, Souza SR, Valadão LM. Ocorrência de *Listeria* spp em crianças da cidade de Goiânia-Goiás. *Rev Bras Anal Clin.* 1997;29(2):73-4.
21. Franco BDGH, Landgraf M. Microbiologia de alimentos. São Paulo: Atheneu; 1996.
22. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Color atlas and textbook microbiology. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Company; 1997.
23. Franco BDGM. Microbiologia dos alimentos. 2a ed. São Paulo: Atheneu; 2003.
24. Schukken YH, Wilson DJ, Welcome F, Garrison-Tikofsky L, Gonzalez RN. Monitoring udder health and milking quality using somatic cell counts. *Vet Res.* 2003;34(5):579-96.

25. Vieira LC, Kaneyoshi CM, Freitas H. Qualidade do leite. In: Veiga, J.B. da., Criação de gado leiteiro na zona Bragantina. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2005.
26. Martins JLS, Martins IS. Inibidores bacterianos no leite tipo “B” comercializado no município de São Paulo, SP (Brasil). Rev Saude Publica. 1985;19(5):421-30.
27. Ministério da Agricultura (BR). Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília: Ministério da Agricultura; 1981. v.2, p.1-5.
28. Milagres MP. Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação da concentração real de ácido láctico em leite por cromatografia líquida de alta eficiência: exclusão de íons [dissertação]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2008.
29. Castanheira ACG. Manual básico de controle de qualidade de leite e derivados. São Paulo: Cap Lab; 2010.
30. Decreto 30.691, de 7 de Julho de 1952. Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA). Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União. 7 Jul 1952; Sec 1, p.10785.
31. BRASIL. Ministério da Agricultura. Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: II-Métodos físico-químicos**. Brasília: Ministério da Agricultura, 1981. 174 p.
32. Venturini KS, Sarcinelli MF, Silva LC. Características do leite. Bol Tec PIE-UFES. 2007:01007.
33. Rodrigues R, Fonseca LM, Souza MR. Acidez do leite. Cad Tec Esc Vet UFMG. 1995;13:63-72.
34. Prata LF. Fundamentos de ciência do leite. Jaboticabal: FUNEP/UNESP; 2001.
35. Feltrin CW, Mello AMS, Santos JGR, Marques MV, Seibel NM, Fontoura LAM. Sulfadimethoxyne quantification in milk by high performance liquid chromatography. Quim Nova [Internet]. 2007 [cited 2008 Feb 5];30(1):80-2. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=S01004042200700010008&Ing=en&nrm=iso>.

36. Nascimento GGF, Maestro V, Campos MSP. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. Rev Nutr. 2001;14(2):119-24.
37. Cavalcanti ERC. Fatores que interferem na qualidade do leite [Internet]. Urutaí: CEFET; 2006 [cited 2011 Sept 30]. Available from: http://www.ifgoiano.edu.br/urutai/documentos/publicacoes/artigo_leite.pdf.

Recebido em: 13/10/2015

Aceito em: 15/01/2017

UTILIZAÇÃO DA RADIOTERAPIA NA MEDICINA DE ANIMAIS SELVAGENS: UM ESTUDO FUNDAMENTADO EM CASOS OBTIDOS DA LITERATURA

Michel de Campos Vettorato¹
Marco Antonio Rodrigues Fernandes²
Luis Carlos Vulcano³

RESUMO

O câncer é uma neoplasia que acomete tanto humanos como animais e é responsável pelo maior número de casos de mortalidade no mundo. Em animais selvagens, o câncer é uma problemática encontrada na maioria das vezes em animais de zoológicos. Desse modo os veterinários oncologistas têm pesquisado e desenvolvido abordagens terapêuticas para muitos tipos de câncer ao longo dos anos em ambas as terapias curativas e paliativas, incluindo nelas a aplicação da radioterapia. O princípio básico da radioterapia é o efeito da radiação ionizante sobre as células tumorais, levando-as à morte. No entanto, a sua aplicação dentro da medicina veterinária para animais selvagens ainda não é muito relatada na literatura, especialmente no Brasil. Dessa forma, esse estudo teve objetivo de descrever e comparar algumas aplicações da radioterapia em diferentes espécies de animais selvagens procurando melhorar o conhecimento dela dentro da medicina veterinária por meio de uma breve pesquisa bibliográfica. Depois das descrições e comparações, conclui-se que apesar do número de casos avaliados no presente estudo, todos os casos mencionados tiveram resultados satisfatórios utilizando a radioterapia e forneceram informações relevantes que podem orientar futuros pesquisadores nessa área, melhorando assim o conhecimento sobre esta terapia além de melhorar a qualidade de vida dos animais.

Palavras-chave: radioterapia, animais selvagens, neoplasia.

RADIATION THERAPY USING THE WILDLIFE MEDICINE: A REASONED OBTAINED STUDY IN CASES OF LITERATURE

ABSTRACT

The cancer is the kind of tumor that affects both humans and animals and is responsible for more deaths worldwide. In wildlife, cancer is a problem found most often in zoo animals. Thus veterinary oncologists have researched and developed therapeutic approaches to many types of cancer over the years in both curative and palliative therapies including therein the application of radiation. The basic principle of radiotherapy is the effect of ionizing radiation on the tumor cells, causing them to death. However, its application in veterinary medicine for wildlife is not much reported in the literature, especially in Brazil. This study aims to describe and compare some of radiotherapy applications in different species of wildlife looking to improve her knowledge in veterinary medicine through a brief literature review. After the descriptions and comparisons, it is concluded that despite the number of cases taken for this study, all the cases mentioned had satisfactory results using radiation therapy and all the presented cases provided relevant information that can guide future researchers in this area, thus improving knowledge of this therapy and improve the quality of life of animals.

Keywords: radiotherapy, wildlife, neoplasia.

¹ Mestrando em Biotecnologia Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu – FMVZ UNESP

² Docente do Departamento de Dermatologia e Radioterapia da Faculdade de Medicina da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” de Botucatu (Unesp).

³ Docente da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu (FMVZ)

RADIOTERAPIA USO DE LA MEDICINA DE ANIMALES SALVAJES: UN ESTUDIO OBTENIDO EN CASOS DE LITERATURA

RESUMEN

El cáncer es el tipo de tumor que afecta a los seres humanos y animales y es responsable de más muertes en todo el mundo. En la vida silvestre, el cáncer es un problema encontrado con mayor frecuencia en los animales del zoológico. Por lo tanto los oncólogos veterinarios han investigado y desarrollado enfoques terapéuticos para muchos tipos de cáncer en los últimos años en terapias tanto curativa y paliativa, incluyendo en el mismo la aplicación de radiación. El principio básico de la radioterapia es el efecto de la radiación ionizante en las células tumorales, haciendo que la muerte. Sin embargo, su aplicación en la medicina veterinaria para la fauna no es mucho en la literatura, especialmente en Brasil, debido a esto, este estudio tiene como objetivo describir y comparar algunas de las aplicaciones de radioterapia en diferentes especies de vida silvestre que buscan mejorar su conocimiento en medicina veterinaria a través de una breve revisión de la literatura. Después de las descripciones y comparaciones, se concluye que a pesar del pequeño número de muestras tomadas para el levantamiento de este estudio todos los casos mencionados tenido resultados satisfactorios utilizando la terapia de radiación y todos los casos que se presentan como información pertinente que pueda guiar a los futuros investigadores en esta área, lo que mejora conocimiento de esta terapia y mejorar la calidad de vida de los animales.

Palabras clave: radioterapia, fauna, neoplasia.

INTRODUÇÃO

Após a descoberta do raio-X em 1895, o físico francês Antonie Henri Becquerel descobriu a radioatividade que, desde então, passou a ser utilizada para fins terapêuticos e de diagnóstico (1).

Cem anos depois, a radioterapia tem sido firmemente estabelecida como um dos principais métodos de tratamento do câncer e é usada em mais de 50% de pacientes humanos com esta doença. Na medicina veterinária, o uso da radioterapia tem sido relativamente raro quando comparado com a cirurgia e quimioterapia. Porém, o uso limitado da radioterapia deve-se mais à falta de financiamentos e perícia do que a falta de indicação médica (2,3).

Animais selvagens em cativeiro tendem a viver muito mais tempo do que na própria natureza e como consequência disso, muitos zoológicos são considerados uma coleção de animais geriátricos. Como resultado, o câncer é um problema comum encontrado por veterinários de zoológicos (4). O câncer é uma neoplasia que acomete tanto humanos como os animais, sendo responsável por uma alta mortalidade (5).

Em uma pesquisa informal em um grande zoológico, observou-se que quase metade de todos os mamíferos que foram submetidos à necropsia apresentou algum tipo de câncer. Desse modo, os veterinários oncologistas têm pesquisado e desenvolvido abordagens terapêuticas para muitos tipos de câncer ao longo dos anos em ambas as terapias curativas e paliativas, incluindo nelas a aplicação da radioterapia (4).

A radioterapia é uma modalidade eficaz de tratamento do câncer em animais e seres humanos, entretanto a sua utilização na medicina veterinária ainda é limitada pelo pequeno número de centros de tratamento radioterápico no país (6).

O princípio básico da radioterapia é o efeito da radiação ionizante sobre as células, levando-as à morte. Há vários tipos de radioterapia, como a teleterapia (na qual a radiação é administrada por meio de um feixe externo) e a braquiterapia (em que uma fonte radioativa é implantada dentro ou próxima ao tumor) (7).

Na medicina veterinária, a radioterapia teve início no ano de 1927, desde então, essa modalidade oncológica vem crescendo pelo mundo (8). No entanto, a sua aplicação dentro da medicina veterinária para animais selvagens, tanto com intenções curativas quanto paliativas, ainda não é muito relatada na literatura. Esse estudo teve por objetivo descrever e comparar algumas aplicações da radioterapia em diferentes espécies de animais selvagens procurando melhorar o conhecimento dela dentro da medicina veterinária.

Foi realizada uma breve pesquisa bibliográfica utilizando-se sites de busca como Google Acadêmico e Scielo, abordando temas relacionados à área do estudo, localizados com as palavras-chave: radioterapia, animais selvagens, neoplasias.

Foram encontrados cinco tipos de casos em periódicos publicados recentemente, relatando sobre o uso de radioterapia em diferentes espécies e neoplasias. Foram selecionados dados relevantes para cada caso, comparados e discutidos posteriormente. As publicações são todas descritas em língua inglesa e de ocorrência fora do nosso território.

DESCRIÇÃO DOS CASOS

O primeiro caso foi descrito por Stoskopf et al. (4). Trata-se de um gorila (*Nautilus*) de planície ocidental, fêmea, de 36 anos de idade. Ela foi examinada pelos veterinários no Parque Zoológico da Carolina do Norte por um sangramento vaginal intermitente, que ao exame radiográfico não se detectou alteração, porém, a vaginoscopia revelou mucosa vaginal espessa e na biópsia diagnosticou-se carcinoma de células escamosas diferenciado.

Na ultrassonografia abdominal, visibilizou-se massa hiperecótica de 7 cm de diâmetro na área do corpo do útero e as radiografias torácicas não mostraram evidências de metástases. Foi realizada tomografia computadorizada de abdômen, pélve, tórax com o paciente deitado em um dispositivo de posicionamento Vac-Lok para facilitar o posicionamento repetitivo (Figura 1a). A tomografia não distinguiu os ovários e revelou uma massa localmente invasiva envolvendo o corpo uterino e os cornos que se apresentavam distendidos caudalmente através do colo do útero e da vagina (Figura 1b). Não havia sinais de metástase e foi tomada a decisão de prosseguir com a radioterapia paliativa, usando um software de planejamento de tratamento computadorizado baseado no exame de tomografia (Figura 1c).

O primata foi anestesiado em cada tratamento. Uma dose total de 16 Gray (Gy), foi aplicada em quatro frações de 4 Gy, administradas duas vezes ao dia com intervalo de 6 horas, durante dois dias consecutivos. Após o tratamento, o animal apresentou diminuição do apetite e letargia por cerca de duas semanas, mas evoluiu de forma favorável. A reavaliação do tumor por análise da tomografia depois de oito semanas indicou uma pequena resposta à terapia e sem evidência de metástase. Optou-se por administrar novo esquema de radioterapia paliativa. O animal apresentou maior tolerância ao tratamento, ou seja, não apresentou sinais de inapetência ou de letargia. O animal viveu por alguns meses sem sinais clínicos e foi mantida exposição naturalista no parque, sendo monitorado diariamente pela qualidade de vida. Depois de vários meses, a condição do animal começou a deteriorar-se e foi eutanasiado.

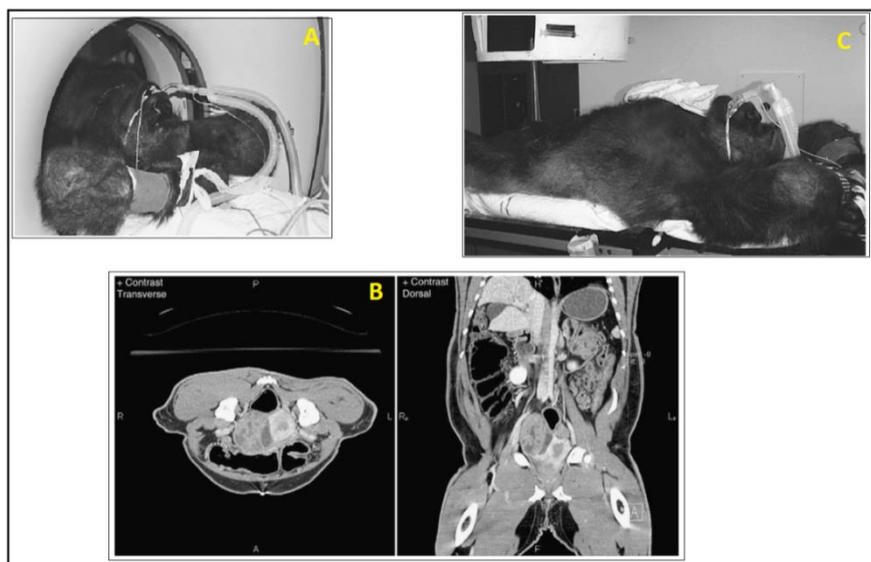


Figura 1. Ilustração do primata sendo posicionado antes da imagem para orientar o design de sua radioterapia (A), imagens de tomografia computadorizada do animal em corte transversal e dorsal com meio de contraste iodado (B), onde visibiliza-se uma massa cavitária se estende para a direita a partir do corpo uterino, a qual é invadida pelo tumor perto do colo do útero. O mesmo animal sendo posicionado para radioterapia (C) (4).

O segundo caso refere-se ao tratamento de um furão (*Mustela putorius*) com suspeita de adenocarcinoma no saco anal com realização de radioterapia localizada, descrito por Nakata et al. (9). Animal com sete anos, macho castrado, com peso 1-3 kg, foi encaminhado para o Centro Médico Veterinário da Universidade de Tóquio com massa perianal recorrente. Seis meses antes, tinha sido atendido por um médico veterinário local para investigação de uma massa ulcerada na região perianal direita (Figura 2), que não respondeu ao tratamento com antibióticos e foi removida cirurgicamente. No entanto, 3 a 5 meses mais tarde, a recorrência da massa no lado direito e uma nova massa no lado esquerdo foram notadas.

As massas foram removidas cirurgicamente, mas novamente a excisão completa não foi alcançada devido a um sangramento excessivo. O diagnóstico por meio de exame histopatológico da massa tumoral resultou adenoma no saco anal.

Dada à rápida recidiva das massas e a associação íntima com o reto, concluiu-se que a excisão cirúrgica completa poderia impactar negativamente a função do esfíncter anal. Desta forma, optou-se pela utilização da radioterapia, que foi iniciada em um protocolo único para reduzir o volume da massa. Foram agendadas doses de irradiação de 4 Gy duas vezes por semana (com um total de 48Gy) usando uma unidade de ortovoltagem (MS-320R-2; Hitachi Medical) centrado-se sobre as massas. O furão foi mantido sedado para a radioterapia, utilizando-se a dose de 30 µg/kg medetomidine e 3 mg/kg de midazolam, por via intramuscular.

A sedação foi revertida por injeção intramuscular de 120 µg/kg de atipamezole imediatamente após a irradiação. O animal foi observado em um período de três dias após a primeira irradiação. Quando completo, no sexto dia da irradiação (dose total de 24 Gy), as massas já não eram externamente visíveis, mas eram palpáveis, com 1 cm de diâmetro (Figura 2). Os sinais clínicos também melhoraram e não foram observados efeitos adversos da irradiação ou sedação repetida.

No entanto, dois dias após o sexto dia de irradiação, ocorreram súbita perda de apetite, sinais de dispneia e tosse. A radiografia torácica revelou efusão pleural sem metástase pulmonar e o furão foi medicado novamente. Sua condição clínica melhorou com estes tratamentos.

No quinquagésimo dia, após a primeira admissão, reapareceram sinais de disquesia e derrame pleural e abdominal. Foi administrado 1 mg/kg de furosemida, 1 mg/kg de prednisolona, 20 mg/kg cephaloxin e misoprostol por via oral a cada 12 horas. No

quinquagésimo sétimo dia, foram realizadas irradiação localizada (6 Gy) e remoção de derrame pleural (15 ml) e abdominal (35 ml), sob anestesia utilizando-se o mesmo protocolo. As citologias do líquido pleural e abdominal revelaram mesotelioma. Os sinais clínicos permaneceram inalterados durante 10 dias, apesar do tamanho do tumor estável. A irradiação foi interrompida devido ao risco de desconforto respiratório sob sedação. O animal morreu em casa no septuagésimo dia e a necropsia não pôde ser realizada.



Figura 2. Aparência das lesões perianal, sendo a primeira imagem identificada na parte ventral (*) e na dorsal (seta) regiões perianal e superfícies ulceradas (A) e após o sexto dia da radioterapia, a massa não pôde ser reconhecido macroscopicamente (B) (9).

O terceiro caso, descrito por Goodnight et al. (10), trata-se de um cuscus da terra (*Phalanger gymnotis*), de um zoológico da cidade Oakland no estado da Califórnia (EUA), com 15 anos, com aproximadamente 3,7 kg, que desenvolveu uma lesão aguda de pele de 2 cm de diâmetro, 1 mm de espessura no tórax lateral direito sentido caudal até o cotovelo. Inicialmente, foi diagnosticada como lesão traumática e tratada com antisséptico tópico uma vez por dia. Embora clinicamente o animal se apresentava estável, a lesão progrediu. Por volta do décimo segundo dia, a lesão era de aproximadamente 3 cm de diâmetro, profundamente ulcerada, expondo tecido muscular esquelético (Figura 3), no qual foi colhido amostras para a biopsia e também sangue para o hemograma.

Três radiografias foram feitas e não revelaram evidências de neoplasia disseminada. Contudo o exame histopatológico revelou tecido linfóide neoplásico com infiltração presente em toda a derme, interpretados dessa forma como possível malignidade linfóide (epitheliotropic) e a quimioterapia foi realizada no animal. Quatro meses após o diagnóstico inicial, várias amostras de biópsia da pele foram colhidas no local do tumor original e o animal não demonstrou sinais de doenças associadas. O exame histopatológico forneceu o diagnóstico de linfoma cutâneo persistente. O animal foi submetido a quimioterapia e após à radioterapia.

A radioterapia foi iniciada seguindo como base o protocolo padrão para cães e gatos domésticos. A lesão foi irradiada a 8 Gy até uma profundidade de 12 mm, foi utilizado fótons de elétrons a 5 mega-elétron volts (MeV) em um campo de 10x10 cm, realizados com um equipamento acelerador linear da Siemens. Esta dose foi administrada a cada sete dias para um total de quatro tratamentos resultando em uma dose total de 32 Gy.

Houve mudanças na lesão durante a radioterapia após 85 dias da dose inicial. Apesar de não haver evidência da lesão no local inicial, uma nova lesão maior apareceu na parte ventral do abdômen aproximadamente 120 dias após a radiação. Neste momento, o animal tornou-se letárgico, a lesão passou a ser mais agressiva e a disseminação sistêmica foi considerada provável. O animal não respondia corretamente a quimioterapia e por consequência aos fatos acontecidos, o animal foi eutanasiado.

O animal viveu mais de oito meses com boa qualidade de vida, conforme evidenciado pela falta de mudanças comportamentais, bom apetite, e manutenção do peso. Quando a lesão voltou agressivamente e foi considerado refratário aos medicamentos, a radioterapia levou à segunda lesão. Apesar da neoplasia responder pobremente aos tratamentos, não houve efeito adverso sistêmico importante para o animal.

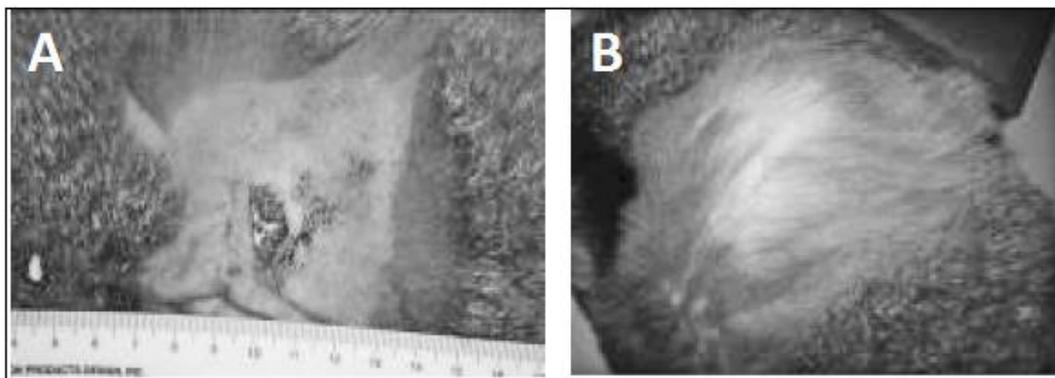


Figura 3. Alterações na lesão cutânea no linfoma do cuscus da terra, sendo no pré-tratamento (A) e oitenta e cinco dias após a radioterapia inicial (B) (10).

O quarto caso se refere a um urso malaio fêmea (*Helarctos malayanus*) selvagem, capturado, de 45 kg com aproximadamente seis anos de idade, descrito por Mylniczenko et al. (11). Foi recebido no Lincoln Park Zoo, na cidade de Chicago, estado de Illinois (EUA), apresentando em janeiro de 2001, um aumento de volume na gengiva ao longo da superfície lingual dos incisivos inferiores, com um diâmetro de dois centímetros, vermelho e liso. A suspeita inicial foi de uma lesão inflamatória secundária causada por uma lasca de madeira. Nas semanas seguintes, o aumento de volume ficou 50% maior e se seguiu de ptialismo.

O animal foi anestesiado e mantido com inalatória para avaliar a massa, a qual foi localizada em uma área da língua e da mandíbula, era friável e sangrava facilmente. Media 5 cm de comprimento e se estendia por toda a superfície lingual da mandíbula. Os incisivos adjacentes à massa foram extraídos, pois estavam soltos.

Ao exame radiográfico, foi observado osteólise severa da porção rostral da mandíbula e amostras foram tiradas para exame citológico e histopatológico. A citologia sugeriu uma reação inflamatória com resposta neutrofílica degenerativa e a suspeita de adenocarcinoma. A histopatologia confirmou carcinoma de células escamosas, e diagnosticou como sendo a ressecção cirúrgica incompleta. As radiografias de tórax não revelaram qualquer evidência de doença metastática.

O tratamento inicial foi projetado para limitar os eventos da doença, portanto, a cirurgia radical e quimioterapia foram consideradas mais adequadas para a situação. A recuperação do urso foi notável dentro de 24 horas após a cirurgia. E como a ressecção cirúrgica não foi eficiente, associou-se quimioterapia e radioterapia, que começaram duas semanas após.

A imobilização e os procedimentos de monitoramento foram semelhantes aos usados na cirurgia. A radioterapia da mandíbula foi realizada utilizando um acelerador linear (Varian Clinac 2500) a 4 Gy (2 Gy em áreas paralelas opostas) para uma dose total de 8 Gy com as laterais esquerda e direita, usando fótons de 6 Megavolts (Mv). O tamanho do campo foi de 6 x 6 cm com rotação colimador. Três sessões de radioterapia adicionais foram realizadas em intervalos de uma semana. As complicações incluíram uma miosite suave que desenvolveu uma rânula por via sublingual no local da mandibulectomia logo após o segundo tratamento com radiação.

Seis meses após o diagnóstico inicial, foi realizada uma avaliação geral. As radiografias torácicas e das mandíbulas não mostraram evidência de lise óssea. Parâmetros sanguíneos e de urina estavam dentro dos limites da normalidade e a citologia dos linfonodos submandibular

também estavam normais. O animal foi avaliado periodicamente pelo exame oral voluntário utilizando técnicas de condicionamento operante e os resultados foram satisfatórios.

O quinto caso se refere a um ouriço de Madagascar conhecido como Tenrec (*Echinops telfairi*) de 15 anos, macho que apresentava uma massa caudal na orelha direita, relatado por Harrison et al. (12). Animal do zoológico Potter Park, no sul da Pensilvânia (EUA). Foi realizada a citologia a qual mostrou características de sarcoma, após isso, foi feita a tentativa de remoção cirúrgica da massa. Após a remoção, a histologia foi consistente com sarcoma de tecidos moles.

Após 331 dias à cirurgia, a massa retornou e foi iniciada a radioterapia. A tomografia computadorizada foi utilizada para armazenamento temporário em conjunto com software de planejamento de tratamento tridimensional computadorizado, para permitir a localização precisa da lesão e poupar os tecidos normais adjacentes. Em seguida, foi distribuída uma dose total de 6480 cGy, administrada em 24 frações ao longo de 46 dias. Durante o decorrer da radioterapia houve o desenvolvimento de uma paresia transitória nos membros pélvicos, mas foi resolvida após sete dias de tratamento com prednisona.

Os efeitos da radiação aguda foram mínimos e a massa respondeu com uma redução de 90% do volume. O animal teve uma sobrevida de 266 dias a partir do início do segundo tratamento. Na necropsia, uma pequena massa com tecidos granulados foi encontrada no local da neoplasia inicial, indicando um bom controle regional do tumor; no entanto, extensas metástases no fígado e baço estavam presentes. O diagnóstico final foi melanoma amelanótico metastático.

A Tabela 1 resume os dados relevantes para cada caso de radioterapia descrito a partir dos dados da literatura. Alguns dados não são mencionados nas publicações o que está representado na tabela como “ND” (não descrito).

Tabela 1. Apresentação resumida dos cinco casos descritos que utilizaram a radioterapia, com o número de informações.

CASOS DESCRITOS	1 (4)	2 (9)	3 (10)	4 (11)	5 (12)
Animal	<i>Nautilus</i>	<i>Mustela putorius</i>	<i>Phalanger gymnotis</i>	<i>Helarctos malayanus</i>	<i>Echinops telfairi</i>
Espécie	Mamífero	Mamífero	Mamífero	Mamífero	Mamífero
Sexo	Fêmea	Macho	ND	Fêmea	Macho
Idade	36 anos	7 anos	15 anos	6 anos	15 anos
Tipo de câncer	Carcinoma de células escamosas (diferenciado)	Adenocarcinoma no saco anal	Linfoma cutâneo (persistente)	Carcinoma de células escamosas (mandibular)	Melanoma amelanótico metastático
Tratamento	Radioterapia paliativa	Cirurgia, quimioterapia e radioterapia paliativa	Quimioterapia e radioterapia paliativa	Cirurgia, quimioterapia e radioterapia curativa	Cirurgia, quimioterapia e radioterapia paliativa
Planejamento	Tomografia computadorizada em conjunto com software de planejamento	ND	Protocolo padrão para cães e gatos	ND	Tomografia computadorizada em conjunto com um software de planejamento tridimensional
Dose total	16 Gy	48 Gy	32 Gy	16 Gy (8 Gy em cada lado da mandíbula)	6480 cGy
Dose diária	4 Gy	4 Gy	8 Gy	4 Gy (2 Gy em cada lado da mandíbula)	270 cGy
Fracionamento (seções)	4 frações, duas por dia a cada 6 horas	Dois vezes por semana	4 frações administrada a cada 7 dias	ND, associada a três sessões de radioterapia adicionais realizadas em intervalos de uma semana	24 frações ao longo de 48 dias
Tamanho do campo	ND	ND	10 x10 cm	6 x 6 cm	ND
Equipamento	ND	Unidade de ortovoltagem	Acelerador linear	Acelerador linear	ND
Tipo de energia	ND	Raio X	Fótons de elétrons (5 MeV)	Fótons (6 MV)	ND
Imobilização	Sedação e anestesia geral	Sedação e anestesia geral	Sedação e anestesia geral	Sedação e anestesia geral	Uso de sedação e anestesia geral
Local (país)	Estados Unidos	Japão	Estados Unidos	Estados Unidos	Estados Unidos
TOTAL DE INFORMAÇÕES	12	13	13	13	12

DISCUSSÃO

Na comparação dos dados obtidos, cada caso refere-se a diferentes animais selvagens, sendo todos mamíferos, o que não significa que na medicina de animais selvagens a radioterapia é empregada apenas em mamíferos, pelo contrário, segundo Filippich (7), essa modalidade tem muita aplicação em aves.

A radioterapia demonstrou ser uma ferramenta utilizada em associação à cirurgia e à quimioterapia no tratamento das neoplasias citadas em quase todos os casos. Nota-se também que a radioterapia é mais utilizada de forma paliativa do que curativa. Isso se deve ao fato de todos os animais selecionados pertencerem a zoológicos e, de acordo com Stoskopf (4), animais de zoológicos que vivem em cativeiro tendem a viver muito mais tempo do que soltos na natureza. Nota-se também que, na maioria dos casos, os animais são geriátricos, o que predispõem ainda mais as chances do desenvolvimento de alguma neoplasia.

Percebe-se que a maioria dos casos é dos Estados Unidos e que todos os animais foram sedados e anestesiados para os procedimentos. Contudo, não é possível dizer por esse estudo se os Estados Unidos tem o maior número de animais selvagens tratados por radioterapia, ou se apresenta o maior número de neoplasias do que os outros países.

Observa-se que a dose total nos casos tratados varia de 16 a 48 Gy e que a dose diária é de 2 a 8 Gy, sendo os limites das doses diárias bem próximos e os limites da dose total bastante dispersos. Sobre as seções de tratamento, na maioria dos casos relatados, utilizou-se o hipofracionamento de dose, ou seja, foram empregadas altas doses diárias, com poucas seções de tratamento, aproximadamente de dois a cinco dias por semana, com alguns intervalos entre as seções, reduzindo assim o número de aplicações da sedação e da anestesia durante os procedimentos.

Quanto à ausência de informação, percebe-se que alguns autores não mencionam o tipo de planejamento do tratamento (casos: 2, 3 e 4), o tipo de equipamento utilizado (casos: 1 e 5),

o tipo de energia utilizada (casos: 1 e 5) e o tamanho do campo tratado (casos: 1, 2 e 5). Somente em dois casos foi mencionado o uso da tomografia computadorizada combinado com um software específico para o planejamento do tratamento (casos: 1 e 5), apenas três descrevem o tipo de equipamento utilizado (casos: 2, 3 e 4), apenas três mencionam o tipo de energia utilizada (casos: 2, 3 e 4) e somente dois descrevem o tamanho do campo utilizado no tratamento (casos 3 e 4), dificultando a replicação do método para empregá-los em outros casos.

Considerando o número de informações conforme a Tabela 1, os autores dos casos 2, 3 e 4 forneceram maior número de informações do que os autores dos casos 1 e 5, que demonstraram restringir as informações em suas publicações. É importante salientar que esses dados são relevantes e precisam ser mencionados em qualquer trabalho científico, pois pode servir como base inicial a outros pesquisadores em estudos futuros.

COMENTÁRIOS FINAIS

Como animais geriátricos são predominantes em zoológicos, tem-se a ocorrência de aumento de neoplasias em muitas espécies e alternativas para tratamentos paliativos precisam ser avaliadas. A quimioterapia minimamente invasiva e a radioterapia adjuvante foram as opções de tratamento viáveis e devem ser consideradas para o tratamento de neoplasias em outras espécies animais.

Apesar do pequeno número de casos avaliados no levantamento desse estudo bibliográfico, todos eles apresentaram resultados satisfatórios utilizando a radioterapia na medicina de animais selvagens, e forneceram informações relevantes que podem orientar inicialmente futuros pesquisadores nessa área, melhorando assim o conhecimento sobre o tema como também a qualidade de vida dos animais.

REFERÊNCIAS

1. Okuno E, Yoshimura EM. Físicas das radiações. In: Okuno E, Yoshimura EM. Desintegração nuclear [Internet]. São Paulo: Oficina de textos; 2010 [citado 2015 Sep 23]. p.69-74. Available from: http://www.ofitexto.com.br/conteudo/deg_418789.pdf.
2. Andrade LA, Fernandes MR. Braquiterapia em medicina veterinária. In: Jericó MM, Neto AJP, Kogika MM. Tratado de medicina interna de cães e gatos. São Paulo: Roca; 2014. p.560-83.
3. McNiel E. Introduction to radiation therapy [Internet]. East Lansing, Michigan: Michigan State University; 2009 [citado 2015 Sep 23]. p.126-9. Available from: <http://landofpuregold.com/cancer/thepdfs/intro-radiationtherapy.pdf>.
4. Stoskopf MK, Brown J, Devoe R. Imaging in zoological medicine practice. *J Radiol Nurs*. 2012;31(3):81-90.
5. Moretto AJG, Corrêa FG. Radioterapia para carcinomas em animais domésticos. *Rev Cient Eletrônica Med Vet, Garça* [Internet]. 2013 [citado 2015 Oct 6];11(20). Available from: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/mcMIQhIjR6u eiY8_2013-6-21-15-37-39.pdf.
6. Cunha SCS. Radioterapia: as radiações do bem. *Revista Pulo do Gato* [Internet]. 2013 [citado 2015 Oct 6]. Available from: <http://www.revistapulodogato.com.br/materias/ler-materia/70/radioterapiaas-radiacoes-do-bem>.

7. Filippich LJ. Tumor control in birds. *Sem Avian Exotic Pet Med.* 2004;13(1):25-43.
8. Burk RL, King GK. *The Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice – Radiation Oncology.* Philadelphia: WB Saunders Company;1997.
9. Nakata M, Miwa Y, Nakayamaz H, Sakai T, Sasaki TN. Localised radiotherapy for a ferret with possible anal sac apocrine adenocarcinoma. *J Small Anim Pract.* 2008;49(1):447-76.
10. Goodnight AL, Couto CG, Green E, Barrie M, Myers G. Chemotherapy and radiotherapy for treatment of cutaneous lymphoma in a ground cuscus (*phalanger gymnotis*). *J Zoo Wildl Med.* 2008;39(3):472-5.
11. Mylniczenko ND, Manharth AL, Clayton LA, Feinmehl R, Robbins M. Successful treatment of mandibular squamous cell carcinoma in a malayan sun bear (*helarctos malayanus*). *J Zoo Wildl Med.* 2005;36(2):346-8.
12. Harrison TM, Dominguez P, Hanzlik K, Sikarskie JG, Agnew D, Bergin I, et al. Treatment of an amelanotic melanoma using radiation therapy in a Lesser Madagascar Hedgehog Tenrec (*Echinops telfairi*). *J Zoo Wildl Med.* 2010;41(1):152-7.

Recebido em: 15/01/2016

Aceito em: 16/01/2017

REAVALIAÇÃO DE POSICIONAMENTOS RADIOGRÁFICOS PARA O DIAGNÓSTICO DA DISPLASIA COXOFEMORAL EM CÃES – REVISÃO DE LITERATURA

Michel Campos Vettorato¹
Raquel Sartor Marcelino²
Rejane Lima Silva²

RESUMO

As articulações que constituem o sistema osteoarticular são responsáveis pela locomoção do corpo, especialmente as de grandes movimentos, como a articulação coxofemoral. Como métodos de estudo de imagem dessa articulação, a radiografia simples é o padrão inicial utilizado para avaliação de patologia do sistema osteoarticular. Entre elas a mais comum em cães é a displasia coxofemoral, o que acarreta alta incidência de exames de raios X com diferentes posicionamentos radiográficos para o diagnóstico, necessitando de conhecimento específico para a realização dos exames. Esse trabalho teve como objetivo descrever e comparar as técnicas de posicionamento radiográfico utilizadas para a avaliação da displasia coxofemoral em cães. Para esse estudo, foram realizadas pesquisas por meio de sites e publicações científicas dos últimos anos nos bancos de dados da BIREME, Google Acadêmico e Scielo, além de livros das bibliotecas da FATEC e UNESP de Botucatu. Entre as técnicas, verifica-se que a projeção com compressão e distração (método PennHIP) com a mensuração do ID é o melhor posicionamento para avaliação da displasia em cães, embora o CBRV ainda adote para o diagnóstico de displasia o posicionamento VD com o AN. Apesar da eficácia da técnica apresentada conforme a literatura analisada, ela não é a mais utilizada na rotina e, por isso, é importante que o veterinário ou tecnólogo em radiologia possua o conhecimento necessário para poder avaliar a situação que se apresenta e escolher a melhor técnica a ser aplicada.

Palavras-chave: cães, displasia coxofemoral, posicionamento radiográfico.

REVALUATION OF RADIOGRAPHIC POSITIONING FOR THE DIAGNOSIS OF HIP DYSPLASIA IN DOGS - LITERATURE REVIEW

ABSTRACT

The joints that constitute the musculoskeletal system are responsible for transportation of the body, especially the big moves as the articulation of the hip. As methods of imaging study that joint, plain radiography is the standard used for initial evaluation of musculoskeletal pathology system, including the most common in dogs is hip dysplasia, which causes high incidence of sinus X-rays with different positions for radiographic diagnosis, requiring specific knowledge for the exams, so this study aimed to describe and compare the radiographic positioning techniques used for the assesment of hip dysplasia in dogs. Survey research for this study was conducted through websites and scientific publications of recent years in the area of BIREME database, Google Scholar and Scielo, besides books of the library of FATEC and UNESP-Botucatu. Among the techniques, we find that the projection with compression and distraction (PennHip method) with the measurement of the ID is the best positioning for evaluating dysplasia in dogs, although CBRV still adopt for the diagnosis of dysplasia VD positioning with AN . Despite the technical efficiency presented according to the literature review, it is not

¹ Mestrando em Biotecnologia Animal (FMVZ de Botucatu). Correspondência: m_vettorato@hotmail.com

² Docente da Faculdade de Tecnologia de Botucatu.

the most used in the routine and so it is important that the veterinarian or technologist in radiology have the knowledge necessary to assess the situation at hand and choose the best technique to be applied.

Keywords: dogs, hip dysplasia, radiographic positioning.

REEVALUACIÓN DEL POSICIONAMIENTO RADIOGRÁFICA PARA EL DIAGNÓSTICO DE DISPLASIA DE CADERA EN PERROS - REVISIÓN DE LITERATURA

RESUMEN

Las articulaciones que constituyen el sistema músculo-esquelético son responsables del transporte del cuerpo, especialmente los grandes movimientos como la articulación de la cadera. Como métodos de estudio por imágenes que conjunta, la radiografía simple es el estándar utilizado para la evaluación inicial del sistema de la patología musculoesquelética, incluyendo los más comunes en los perros es la displasia de cadera, lo que causa una alta incidencia de los senos paranasales, rayos X con diferentes posiciones para el diagnóstico radiográfico, requiriendo específica el conocimiento de los exámenes, por lo que este estudio tuvo como objetivo describir y comparar las técnicas de posicionamiento radiográficas utilizadas para la evaluación de la displasia de cadera en los perros. La investigación por encuesta para este estudio se llevaron a cabo a través de sitios web y publicaciones científicas de los últimos años en el área de la base de datos de BIREME, Google Scholar y SciELO, además de libros y FATEC UNESP-Botucatu. Entre las técnicas, nos encontramos con que la proyección con la compresión y distracción (método PennHip) con la medición de la ID es el mejor posicionamiento para la evaluación de la displasia en los perros, aunque todavía CRBV adoptar para el diagnóstico de la displasia de posicionamiento VD con AN. A pesar de la eficiencia técnica presentada como la revisión de la literatura, no es el más utilizado en las rutinas y por lo tanto es importante que el veterinario o tecnólogo en radiología tienen los conocimientos necesarios para evaluar la situación actual y elegir la mejor técnica para ser aplicada

Palabras clave: perros, displasia de cadera, posicionamiento radiográfico.

INTRODUÇÃO

As articulações que constituem o sistema osteoarticular, especialmente as de grandes movimentos, como a articulação coxofemoral, são protegidas por uma cápsula articular que contém no seu interior líquido sinovial, que atua na lubrificação e na facilitação dos movimentos (1).

Ao se tratar de métodos de imagem para estudo da articulação coxofemoral, a radiografia simples é o padrão inicial utilizado para avaliação de patologia do sistema osteoarticular (2).

Em cães, a patologia mais comum é a displasia coxofemoral (DCF), que é um desenvolvimento anormal na articulação, que começa com uma frouxidão e se desenvolve para uma doença articular degenerativa. Pode ser causada por diversos fatores como: a nutrição, o ambiente em que vivem e a própria genética do animal, que na maioria das vezes afeta raças de médio e grande porte, apresentando sinais de dificuldade locomotora nos membros pélvicos (3-5).

Constata-se, portanto, que as patologias do sistema osteoarticular são muito frequentes em cães, principalmente na articulação coxofemoral, o que acarreta alta incidência de exames de raios X com diferentes posicionamentos radiográficos para o diagnóstico nessa espécie, necessitando de conhecimento específico para a realização dos exames. Dessa forma, o presente

estudo de revisão teve como objetivo descrever e comparar as técnicas de posicionamento radiográfico utilizadas para a avaliação da displasia coxofemoral em cães.

Trata-se de uma revisão de literatura sobre as técnicas de posicionamento radiográfico para avaliação de displasia coxofemoral em cães, por meio de um levantamento em pesquisas de sites e publicações científicas dos últimos 15 anos na área no banco de dados da BIREME, Google Acadêmico e Scielo, além de livros das bibliotecas da FATEC e da UNESP de Botucatu. Foram utilizadas as palavras-chave: posicionamento, displasia coxofemoral, raios X. Os textos foram selecionados por categorias e analisados conjuntamente.

Encontrou-se que as técnicas utilizadas na avaliação da articulação coxofemoral normalmente são realizadas em um chassi com tamanho adequado para o paciente, geralmente 35x43 cm, levando-se em consideração o tamanho do animal e a sua raça, em que na prática é realizado em uma DFF de 91 a 102 cm. O tecnólogo deve ter em mente que todo animal, por mais tranquilo que seja, pode causar acidentes graves quando é indevidamente contido e manipulado. O mais comum das restrições físicas em cães é o uso de mordanças de acrílico ou até mesmo de couro com tamanhos variados. Geralmente, as projeções requerem o uso de sedação ou anestesia de curta duração e até mesmo a contenção do animal para melhor qualidade dos exames (6-8).

As projeções mais comuns para avaliação da articulação coxofemoral em cães são: a projeção ventrodorsal (VD) estendida, VD flexionada (Frog-leg), lateral, lateral oblíqua, dorsoventral (DV) e a projeção com compressão e distração (Método PennHIP) (6,9,10).

Para o posicionamento da projeção VD estendida, o paciente é colocado em decúbito dorsal, os membros pélvicos são aduzidos e estendidos, de modo que a cabeça do fêmur seja rotacionada medialmente e o raio central (RC) é direcionado na linha mediana dos trocanteres (Figura 1). Recomenda-se que a cauda do animal seja estendida e que os membros pélvicos sejam amarrados por uma fita adesiva ou agarrados com firmeza por um acompanhante ou um profissional do setor, com o uso de mão de luvas de chumbo. Na extensão e abdução dos membros pélvicos ocorrerá uma resistência fisiológica do animal que poderá ser evitada com a utilização dos acessórios descritos anteriormente (6,9-11).

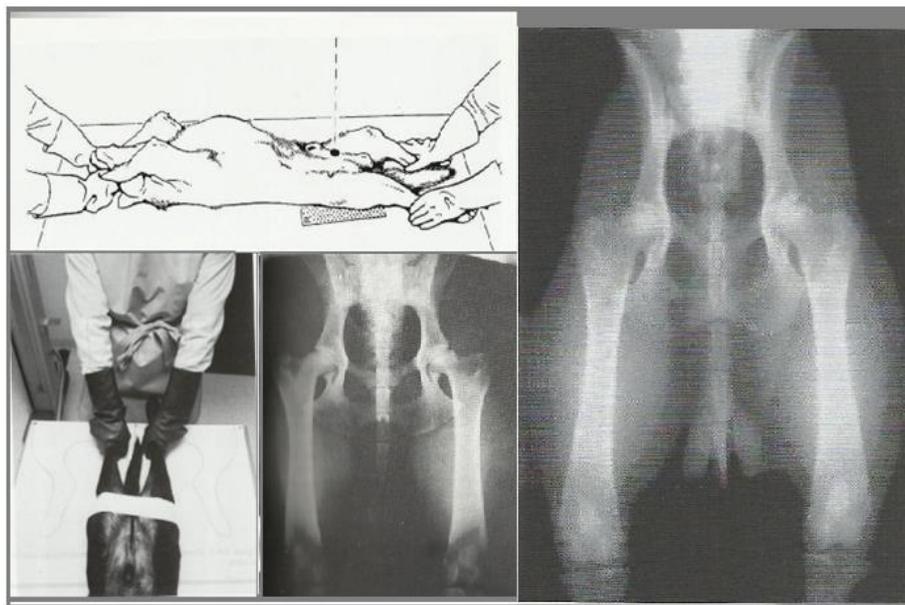


Figura 1. Posicionamento VD com os membros estendidos demonstrando a extensão da cauda e dos membros com a ajuda da fita e do acompanhante; ao lado direito observa-se a radiografia correta sem rotações desse posicionamento com a sobreposição das patelas, a extensão da cauda e os forames obturados na mesma altura em ambos os lados como imagem em espelho (6,11,12).

Na projeção Frog-Leg, o paciente é colocado em decúbito dorsal, os membros pélvicos são colocados na posição fisiológica, de modo que os fêmures estejam em um ângulo de 45 graus em relação à coluna. Para facilitar essa angulação, sacos de areia podem ser colocados na articulação do tarso do animal, mas, para isso, as articulações do joelho e da perna devem estar flexionadas e abduzidas adequadamente (Figura 2), o RC é direcionado na linha mediana do nível do púbis (9,11).

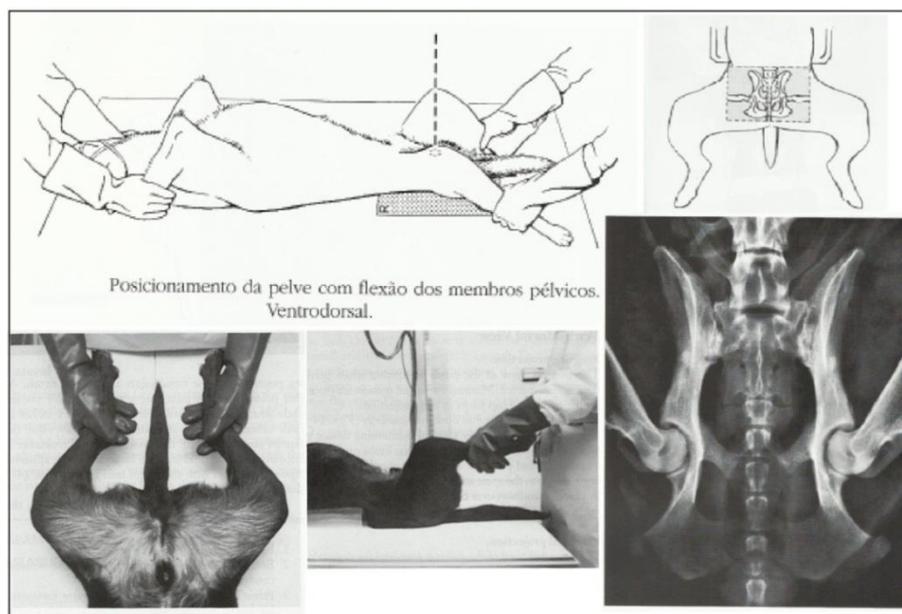


Figura 2. Posicionamento Frog-Leg ao lado esquerdo com a flexão e abdução dos membros pélvicos com a ajuda de acompanhantes e a retirada da cauda do campo de visão; ao lado esquerdo a radiografia referente ao posicionamento adequado, observa-se a simetria do acetábulo nos dois lados sem rotações (9,11).

Na projeção lateral, pode ser realizado decúbito lateral direito ou lateral esquerdo, com o lado de interesse próximo do bucky e a cauda deve ser desviada da projeção. Uma cunha de espuma pode ser colocada entre as pernas (debaixo do membro oposto e acima do lado de interesse) e debaixo do esterno para facilitar o posicionamento, aliviando da rotação e assegurando que os dois lados não sejam sobrepostos. A parte mais próxima do cassete deve ser puxada cranialmente e a parte superior puxada caudalmente (Figura 3). Para esse posicionamento, o RC é direcionado para o trocanter maior na parte superior do membro e incidir perpendicular ao chassi (9,11).

A radiografia lateral deve ser obtida acompanhada de uma VD de forma rotineira. Quando se tem uma fratura única e o paciente não suporta a projeção VD estendida, uma projeção VD com o membro flexionado por ser realizada. A mesma situação ocorre na avaliação de uma luxação, pois na maior parte dos casos ela não é vista em uma projeção VD, optando assim a utilização da projeção lateral como uma radiografia complementar (8).

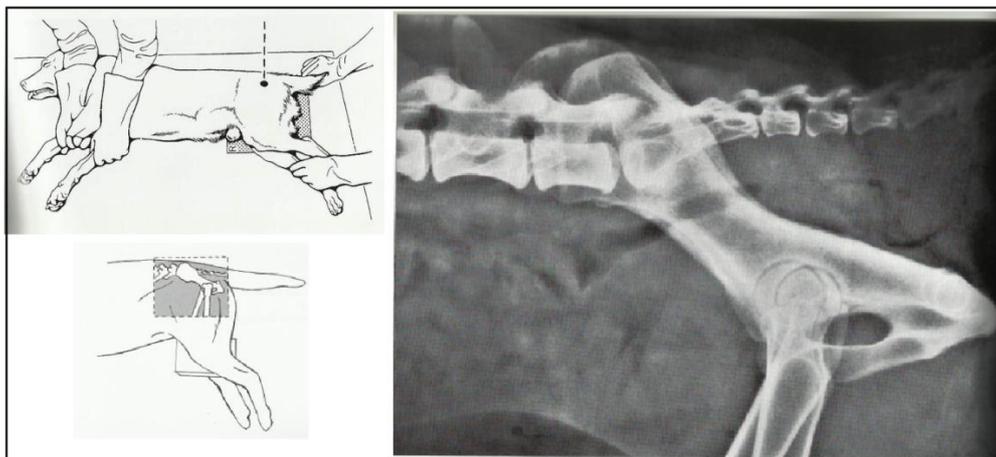


Figura 3. Posicionamento correto da projeção lateral ao lado esquerdo demonstrando a retirada da cauda durante o posicionamento e a ajuda dos profissionais, ao lado direito a radiografia pertencente a esse posicionamento (9,11).

Para a realização da projeção lateral oblíqua, segue-se o mesmo padrão da anterior, o que muda é apenas a angulação do corpo, ou seja, o paciente é colocado em decúbito lateral direito ou lateral esquerdo com o membro de interesse puxado cranialmente e identificado, um apoio de espuma é colocado para elevar a porção dorsal da pelve em um ângulo de aproximadamente 20 graus da mesa, de modo que não tenha sobreposição da articulação (Figura 4). O RC é direcionado na mesma altura que o posicionamento anterior (6).

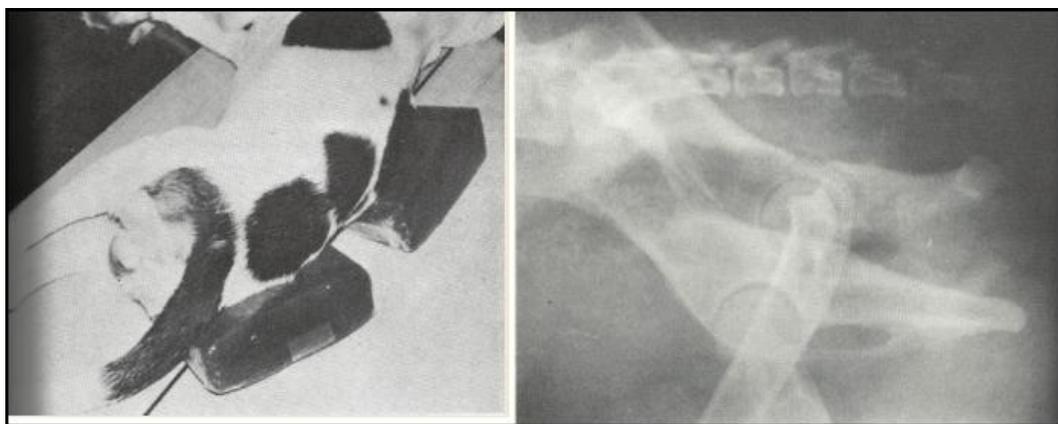


Figura 4. Posicionamento em lateral oblíqua ao lado esquerdo com a utilização de acessórios para facilitar a angulação do corpo e ao lado direito a radiografia correta correspondente a essa projeção (6).

A projeção DV é opcional e utilizada quando não é possível a realização da projeção VD, ou seja, quando a abdução dos membros é inevitável, o que torna a movimentação difícil e dolorosa por causa da doença. Recomenda-se, então, a realização da projeção DV. O paciente é colocado em decúbito ventral, o plano mediano do tronco deve estar perpendicular ao chassi, onde os membros pélvicos devem ser abduzidos de modo que o assoalho pélvico seja levado o mais próximo do chassi (Figura 5). O RC é direcionado na linha mediana no nível da primeira vértebra caudal e deve incidir perpendicularmente ao chassi sem angulação. Nesse posicionamento, ocorrerá o aumento da distância objeto filme (DORI ou DOF) e a distorção da imagem e, para evitar, recomenda-se o aumento da DFF para compensar o aumento da DORI (9).

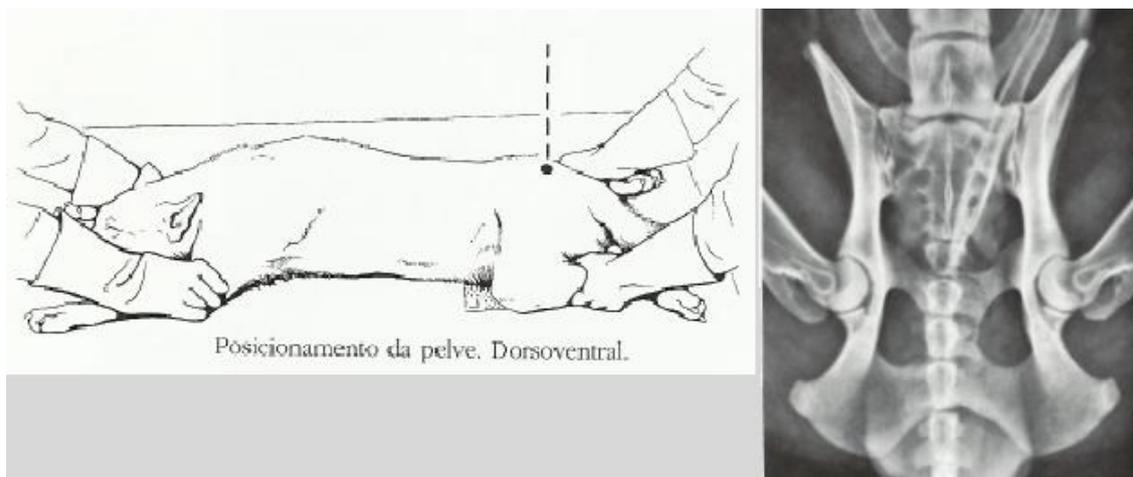


Figura 5. Posicionamento correto da projeção DV à esquerda e à direita radiografia resultante (9).

Para o diagnóstico da DCF, utiliza-se duas técnicas para a avaliação, a projeção VD com a aplicação do ângulo de Norberg (AN) e pela projeção com compressão e distração (método PennHIP) (3,5,13).

O AN é usado para avaliar a lassidão articular, e é definido por duas linhas retas, uma que une o centro da cabeça do fêmur e a outra iniciando da própria cabeça e passando pela borda cranial do acetábulo (Figura 6) (14). O ângulo formado pelas duas linhas não deve ser menor que 105 graus, qualquer medida constatada inferior a 105 graus mostra uma relação inadequada entre a cabeça do fêmur e o acetábulo, demonstrando sinais de subluxação ou luxação, o que pode ser caracterizado como DCF (13,15,16).

A medida do AN adotado no método radiográfico convencional, em idade precoce, pode ser útil para determinar o grau de subluxação coxofemoral em idade adulta (3-10).

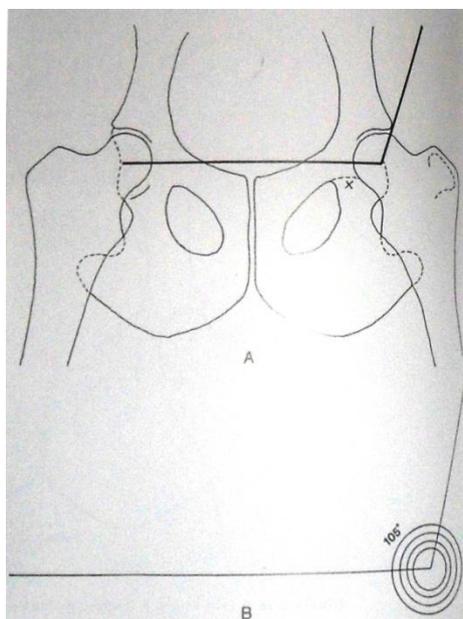


Figura 6. Modelo de aplicação do AN apontando um ângulo de 105 graus na articulação do quadril (16).

No diagnóstico conforme o AN se obtém as classificações das articulações coxofemorais, as quais são divididas em cinco categorias (Figura 7), variando de acordo com suas características encontradas:

- **Grau A:** articulações coxofemorais normais (cabeça femoral e acetábulo congruentes) com um AN de aproximadamente 105 graus;
- **Grau B:** articulações coxofemorais próximas da normalidade (acetábulo e cabeça femoral são ligeiramente incongruentes) com AN de aproximadamente 105 graus;
- **Grau C:** DCF leve (acetábulo e cabeça femoral são incongruentes) onde o AN é de aproximadamente 100 graus;
- **Grau D:** DCF moderada (a evidência de sinais de subluxação entre a cabeça femoral e do acetábulo, ambos apresentando incongruência) onde AN é de aproximadamente 95 graus;
- **Grau E:** DCF grave (sinais de luxação, achatamento da borda acetabular cranial, deformação da cabeça femoral e outros sinais de osteoartrite e osteoartrose) onde o AN é menor que 90 graus (13,14,17).

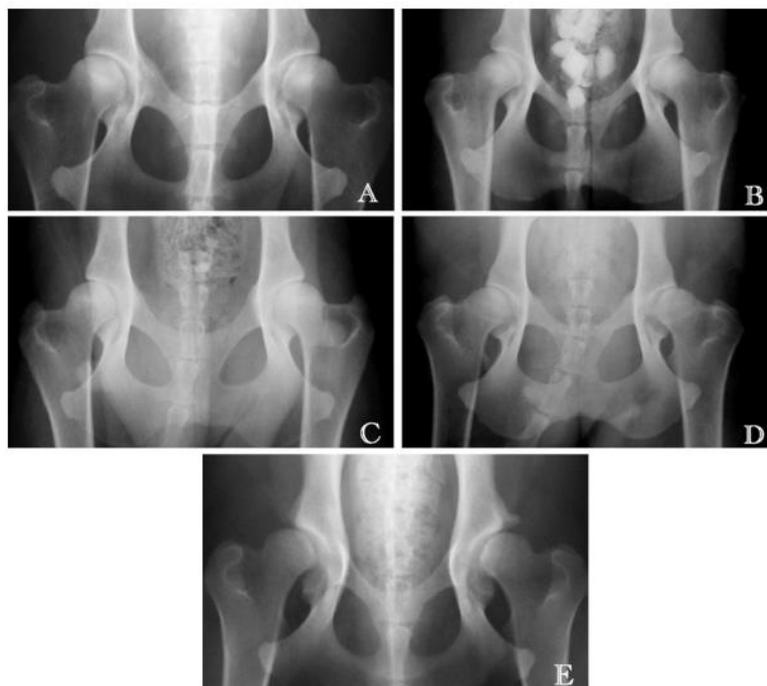


Figura 7. Categorias da articulação coxofemoral em radiografias (graus de A até E) (14).

A outra técnica de diagnóstico para DCF é o método de distração radiográfica (PennHIP), que teve início na década de 1980, onde o Dr. Gail Smith e uma equipe de pesquisadores da Universidade de Medicina Veterinária da Pensilvânia (University of Pennsylvania School of Veterinary Medicine) iniciaram uma investigação científica para determinar um fenótipo mais confiável para prever DCF. O resultado denominado como PennHIP (Pennsylvania Hip Improvement Program) refere-se à uma técnica específica de diagnóstico, com o fornecimento de uma base de dados de uma frouxidão no quadril. Esse método fornece uma indicação mais viável e reproduzível da frouxidão passiva do quadril de um cão, que não é possível avaliar adequadamente com os processos mais utilizados, como as projeções convencionais: a projeção estendida, a projeção flexionada e a projeção lateral (3,10,11).

Na obtenção da radiografia em distração, utiliza-se um distrator PennHIP (um acessório semelhante a uma calha de metal), que é colocada entre os membros posteriores (Figura 8), atuando como um fulcro empurrando a cabeça do fêmur lateralmente e também exercendo uma pressão medial e na radiografia em compressão os fêmures são empurrados lateralmente, contra

os posicionadores de compressão, o que favorece a congruência articular possibilitando radiografias de boa qualidade (14).

O método de PennHIP consiste na mensuração do ID, trata-se de um valor numérico que é obtido por um mensuramento entre a distância do centro da cabeça femoral até o centro do acetábulo e depois divide o valor pela distância do raio formado pela cabeça femoral. Se o resultado for menor que 0,3 o animal é considerado normal e se este índice for maior que 0,3 o animal é considerado displásico. Este resultado indica o quanto em porcentagem à cabeça do fêmur sai da junção, e é representado pela fórmula $ID = d/r$, onde:

- **ID**: índice de distração;
- **d**: distância entre o centro do acetábulo e o centro da cabeça do fêmur;
- **r**: raio da cabeça do fêmur (10,13,15).

Na ausência de uma doença degenerativa, a flacidez é o componente mais importante para a confirmação da DCF em cães (4). O tecnólogo ou veterinário que adotar o método de PennHIP deve passar por treinamento especializado (11).



Figura 8. Equipamentos específicos PennHIP e um exame com distrator articular (10,14,15).

CONSIDERAÇÕES NOS POSICIONAMENTOS RADIOGRÁFICOS

O diagnóstico mais aceito para DCF é o exame radiográfico, e recomenda-se que o exame seja feito em cães com idade mínima de 12 meses em raças de grande e médio porte. Para melhor avaliação utiliza-se o método radiográfico convencional e o radiográfico por distração, conhecida também como método de PennHIP (Figura 9) (10).

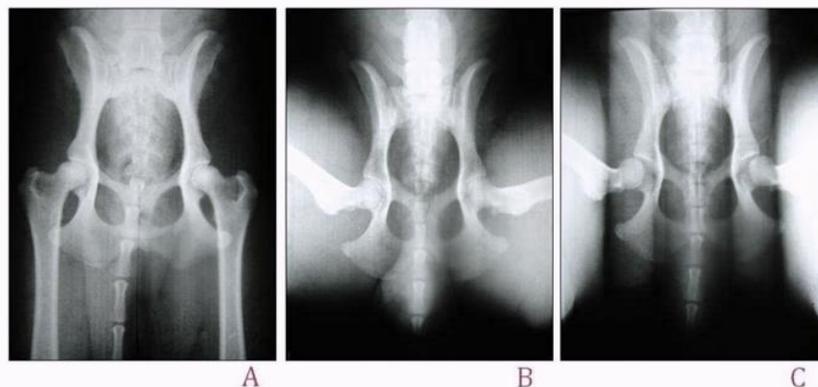


Figura 9. Diagnóstico radiográfico do quadril (A: técnica convencional VD, B: Frog-leg e C: técnica de distração) (10).

Segundo os resultados obtidos nos estudos comparativos entre os métodos radiográficos convencional e por distração, realizados por Torres et al. (10), os estudiosos Rocha e Tôres (3) e Melo et al. (13), baseando-se nesses resultados, compararam os métodos radiográficos com a ultrassonografia, e demonstraram que a imagem ultrassonográfica permite a visualização anatômica das estruturas articulares e pode ser utilizada para avaliar alterações morfológicas comuns na articulação coxofemoral, porém, o exame não é sensível, e na detecção precoce da frouxidão da articulação coxofemoral de cães não deve substituir os métodos radiográficos realizados anteriormente.

As projeções VD estendida, VD flexionada (Frog-leg) e a projeção lateral são as mais usadas na rotina. Contudo, as projeções adicionais, como a lateral oblíqua realizada em casos específicos, assim como a projeção DV, recomendada como opcional quando o paciente não consegue fazer o posicionamento VD devido à patologia do quadril, ao serem usadas em conjunto com as de rotina, demonstram grande eficácia para o diagnóstico. Observa-se de acordo com a literatura compulsada que, em quase todos os posicionamentos realizados em cães, a colocação e o desvio da cauda na hora de radiografar são importantes.

A aplicação do AN nas radiografias de pacientes com suspeita de DCF na rotina mostra grande importância para o estudo da articulação coxofemoral, principalmente em sua classificação, pois, assim, pode-se diferenciar uma articulação com displasia leve, moderada ou severa de uma articulação com normalidade, comparando a angulação da cabeça do fêmur em relação do acetábulo, melhorando assim o diagnóstico preciso dessa patologia.

A Figura 10 demonstra uma radiografia de um mesmo animal em dois métodos diferentes. Na avaliação convencional com a aplicação do AN (do lado esquerdo) o animal é considerado normal e no método de PennHIP (ao lado direito) mostra o mesmo animal com uma frouxidão articular, considerando assim um falso negativo em relação a técnica convencional utilizada.



Figura 10. Comparação das técnicas em radiografia, a esquerda método de PennHIP e a direita aplicação do AN (10).

Tendo a DCF como a principal patologia no quadril em cães, a utilização do método de PennHIP nos posicionamentos radiográficos com a mensuração do ID, segundo a literatura compulsada, é o melhor procedimento, pois, além de calcular se o animal é displásico ou não, utiliza-se apenas uma radiografia, ou seja, diminui o número de exposições comparando as outras projeções e a que o AN utiliza, porém, essa técnica ainda não é usada com muita frequência na rotina hospitalar. Apesar das projeções em VD serem as padrões conforme o Colégio Brasileiro de Radiologia Veterinária (CBRV) e também importantes no diagnóstico da DCF, a técnica utilizada no PennHIP, de acordo com a literatura, apresenta maior eficácia com uma radiografia de boa qualidade, entretanto, é uma novidade em medicina veterinária e não é utilizada ainda nos procedimentos no Brasil, devido ao alto custo pela necessidade de curso de treinamento especializado realizado fora do país para a melhor aplicação da técnica, sendo ainda utilizada apenas em países mais desenvolvidos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Existem várias técnicas que são utilizadas para a avaliação de patologias da articulação coxofemoral em cães. Entre elas, verifica-se que a projeção com compressão e distração (método PennHIP) com a mensuração do ID é o melhor posicionamento para avaliação de displasia em cães, embora o CBRV ainda adote para o diagnóstico de displasia o posicionamento VD com o AN. Apesar da eficácia da técnica apresentada conforme a literatura compulsada, ela não é a mais utilizada na rotina e, por isso, é importante que o veterinário e o tecnólogo em radiologia possuam o conhecimento necessário para poder avaliar a situação do animal e escolher a melhor técnica a ser aplicada.

REFERÊNCIAS

1. Martini FH, Timoons MJ, Tallitschr B. Anatomia humana. 6a ed. Porto Alegre: Artmed; 2009.

2. Domingues RC, Domingues RC, Brandão LA. Imagenologia do quadril. Radiol Bras [Internet]. 2001 [cited 2013 Sept 7];34(6):347-367. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/%0D/rb/v34n6/7668.pdf>.
3. Rocha BD, Tôrres RCS. Ultrasonic and radiographic study of laxity in hip joints of young dog. Arq Bras Med Vet Zootec [Internet]. 2007 [cited 2015 Mar 18];59(1):90-6. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352007000100016&script=sci_arttext.
4. Iamaguti P, Iamaguti LS, Sartor R. Acetabular deepening in the treatment of severe canine hip dysplasia. Botucatu. Pesqui Vet Bras [Internet]. 2009 [cited 2015 Jan 27];29(2):163-6. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v29n2/a14v29n2.pdf>.
5. Santana LA, Rahal SC, Estanislau CA, Lorena SERS, Machado VMV, Doiche DP, et al. Avaliação radiográfica de cães com displasia coxofemoral tratados pela sinfisiodese púbica. Arq Bras Med Vet Zootec [Internet]. 2010 [cited 2014 Jan 13];62(5):1102-8. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v62n5/12.pdf>.
6. Ticer JW. Técnicas radiológicas na medicina veterinária. 2a ed. São Paulo: Roca; 1987.
7. Kolber M. Radiologia em medicina veterinária. In: Nobrega AL. Tecnologia radiológica e diagnóstico por imagem. 4a ed. São Caetano do Sul: Difusão; 2010. p.185-200.
8. Thrall DE. Diagnóstico de radiologia veterinária. 6a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2014.
9. Schebitz H, Wilkens H. Atlas de anatomia radiográfica do cão e do gato. 5a ed. São Paulo: Manole; 2000.
10. Tôrres RCS, Araújo RB, Rezende CMF. Distrator articular no diagnóstico precoce da displasia coxofemoral em cães. Arq Bras Med Vet Zootec [Internet]. 2005 [cited 2013 Nov 13];57(1):27-34. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/%0D/abmvz/v57n1/a04v57n1.pdf>.
11. Lavin LM. Radiography in veterinary technology. 4a ed. Hardcover: Elsevier Science Health Science Division; 2007.
12. Farrow CS. Veterinária: diagnóstico por imagem do cão e gato. São Paulo: Roca; 2005.
13. Melo DG, Leite CAL, Neves CC, Feliciano MAR. Radiografia e ultrassonografia da displasia coxofemoral em cães – revisão de literatura. Rev Cient Eletrônica Med Vet [Internet]. 2012 [cited 2015 Apr 28];10(19):1-10. Available from: <https://www.yumpu.com/pt/document/view/12833686/radiografia-e-ultrassonografia-da-displasia-coxofemoral-em-caes>.
14. Ginja MMD, Pena MOL, Ferreira AJA. Diagnóstico, controlo de prevenção da displasia da anca no cão. Rev Port Cienc Vet [Internet]. 2005 [cited 2014 Jan 13];100(555-556):147-161. Available from: http://www.fmv.utl.pt/spcv/PDF/pdf6_2005/100_147-161.pdf.
15. Froes TR, Garcia DAA, Schumidlim PC, Parchen HD, Souza ACR. Estudo comparativo e análise interobservador entre dois métodos de avaliação da displasia coxofemoral em cães. Arch Vet Sci. 2009 [cited 2014 Jan 13];14(4):187-97. Available from: <http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs/index.php/veterinary/article/view/13761/11558>.

16. Kealy JK, Mcallister H, Graham L. Radiologia e ultrassonografia do cão e gato. 5a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2012.

17. Chagas BB, Vaz DP. Métodos por imagem no diagnóstico da displasia coxofemoral canina. Rev Metodo Saber [Internet]. 2012 [cited 2014 Apr 25]. Available from: http://famesp.com.br/novosite/wp-content/uploads/2011/12/Artigo_Radiologia_nov2012.pdf.

Recebido em: 16/09/2015

Aceito em: 08/01/2017

ASPECTOS ULTRASSONOGRÁFICOS DA GLÂNDULA TIREOIDE EM EQUINOSGustavo Fernandes Viana¹Alessandre Hataka²José Nicolau Próspero Puoli Filho³Vânia Maria de Vasconcelos Machado⁴**RESUMO**

Tireopatias em equinos são pouco relatadas na rotina clínica, pois apresentam evolução silenciosa, evidenciando-se quando há um considerável aumento de volume na região proximal ventrolateral do pescoço. Neoformações da tireoide podem comprometer estruturas adjacentes à glândula, como a traqueia, ocasionando estridor respiratório, intolerância ao exercício e, nos casos mais graves, sufocamento. Na medicina humana e veterinária de pequenos animais, o exame ultrassonográfico já é utilizado com frequência para melhor caracterizar alterações importantes em casos de doenças da glândula tireoide (GT). Entretanto, existem poucos estudos relacionados ao emprego da ultrassonografia (USG) como método de avaliação da GT em cavalos. Esta revisão de literatura tem como objetivo reunir informações sobre importância do uso da USG como recurso no diagnóstico de afecções tireodianas em equinos.

Palavras-chave: ultrassonografia, lobos tireoidianos, cavalo.

ULTRASONOGRAPHIC FEATURES OF THE THYROID GLAND IN HORSES**ABSTRACT**

Thyroid disorders in horses have been little reported in clinical practice because they present silent evolution, showing clearly when there is an increase in volume of ventrolateral proximal region of the neck. This event increases the possibility of the involvement of structures adjacent to the thyroid gland (TG), as the trachea, causing respiratory stridor, exercise intolerance and, in severe cases, suffocation. In human and small animals veterinary medicine the ultrasonography (US) is already used to better characterize important changes in cases of TG diseases. However, there are few studies related to the use of the US as an evaluation method of the TG in horses. This literature review aims to gather information on importance of using US as a resource in the diagnosis of thyroid disorders in horses.

Keywords: ultrasound, thyroid lobes, equine.

ASPECTOS ECOGRÁFICOS DE LA GLÂNDULA TIROIDES EN CABALLOS**RESUMEN**

Desórdenes de la tiroides en los caballos han sido poco reportado en la práctica clínica porque presentan evolución silenciosa es evidente cuando hay un aumento considerable en el volumen en la región proximal ventro lateral del cuello. Neoformaciones tiroides pueden comprometer las estructuras adyacentes a la glándula, como la tráquea, causando estridor respiratorio,

¹ Pós-graduando do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da FMVZ - Unesp/Botucatu. Correspondência: gustavofv@fmvz.unesp.br

² Docente do Departamento de Clínica Veterinária da FMVZ –Unesp/Botucatu

³ Docente do Departamento de Produção Animal da FMVZ –Unesp/Botucatu

⁴ Docente do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da FMVZ –Unesp/Botucatu

intolerancia al ejercicio y, en casos graves, la asfíxia. En la medicina humana y veterinaria de los pequeños animales, la ecografía ya se utiliza con frecuencia para caracterizar mejor los cambios importantes en los casos de enfermedades de la glândula tiroide (GT). Sin embargo, hay pocos estudios relacionados con el uso de la ultrasonografía (USG) como un método de evaluación de la GT en caballos. Esta revisión de literatura tiene como objetivo reunir información sobre la importancia de la utilización del ultrasonido como un recurso en el diagnóstico de los trastornos de la tiroide en caballos.

Palabras clave: ecografía, lóbulos tiroideos, caballo.

INTRODUÇÃO

Aspectos anatômicos, histológicos e fisiológicos da glândula tireoide

A glândula tireoide do cavalo, localizada entre o terceiro e o sexto anel traqueal, é constituída por dois lobos imediatamente caudais à laringe, unidos normalmente por um estreito istmo fibroso. Existem variações na distância de cada lobo quanto à sua localização em relação à parte caudal da laringe (1). No equino adulto, os lobos apresentam contorno oval e medem aproximadamente de 1,5 a 2,5 cm de altura, por 2 a 3 cm de largura e por 4 a 6 cm de comprimento (2). O polo cranial da tireoide geralmente é largo e arredondado, enquanto o polo caudal é menor, alinhando-se em forma de cauda que é contínua com o istmo. Não é incomum se observar um istmo desenvolvido, exercendo atividade glandular no cavalo adulto. Variações ocorrem no modo como o istmo se liga a cada lobo e na área traqueal que está cruzando. A posição aproximada dos lobos tireoidianos é indicada pelo ângulo de junção das veias maxilar e linguofacial. A superfície externa é convexa e coberta pela porção cervical da glândula parótida, músculo esternocéfálico e omohioideo. Sua porção média cranial está próxima do músculo cricoaritenóideo lateral, cricolaríngeo e cricotireoideo. A superfície interna está ligada pela fâscia cervical profunda e anéis traqueais. (1,3,4).

A tireoide é altamente vascularizada, recebendo sangue da artéria tireoidea cranial (ATC), o maior ramo da artéria carótida comum. A ATC se direciona para a extremidade cranial do lobo tireoidiano, emitindo diversos ramos. Um dos principais é o laríngeo caudal que emite ramificações para os músculos extrínsecos da laringe e para os músculos constritores da faringe. A ATC se anastomosa com seu ramo principal e, por isso, também é denominada de artéria tirolaríngea. A artéria tireoidea caudal é um pequeno e inconstante vaso que surge da artéria carótida comum a uma distância variável caudal à ATC. Pode também se originar a partir da ATC, ou da artéria parotídea. A artéria tireoidea caudal se ramifica para dentro da porção caudal da glândula tireoide, traqueia e músculos adjacentes (1,5,6) (figura 1).

O peso das glândulas avaliado pela relação gramas de tecido tireóideo por quilo de peso corpóreo é maior para os fetos e potros (média, 0,28g/kg; variação de 0,12 a 0,56) e diminui progressivamente com a idade. A relação do peso para adultos é, em média, 0,08g/kg (variação de 0,04 a 0,15) (7).

Com base nas técnicas imunohistoquímicas, distinguem-se três tipos celulares nas tireoides dos equinos. O primeiro é composto de células indiferenciadas e não reage a anticorpos; o segundo consiste em células parafoliculares (células C), que apresentam grânulos secretores positivos para calcitonina, e o terceiro tipo é constituído de células epiteliais foliculares positivas para tireoglobulina (8).

As células epiteliais da tireoide produzem tireoglobulina, uma glicoproteína que contém múltiplos resíduos de tirosina. O iodo é concentrado na glândula, oxidado, e ligado à tirosina para formar monoiodotirosina (MIT) e Diiodotirosina (DIT). Essas iodotirosinas em seguida se unem para formar a tiroxina (T4) e triiodotironina (T3), que permanecem ligadas à tireoglobulina e são armazenadas dentro dos folículos. A secreção do hormônio da tiroide é

estimulada pela tirotrófina (hormônio estimulante da tireoide [TSH]) a partir da glândula pituitária anterior que, por sua vez, é regulada pelo hormônio libertador de tireotrofina (TRH) a partir do hipotálamo. O TSH também tem efeitos tróficos sobre a glândula tireoide, aumentando o tamanho e a atividade das células epiteliais (folicular). Tais efeitos potencializam a captação de iodeto, a secreção de tireoglobulina no coloide, a síntese de MIT, DIT, T4 e T3, e a recaptação de coloide nas células foliculares por endocitose (9).

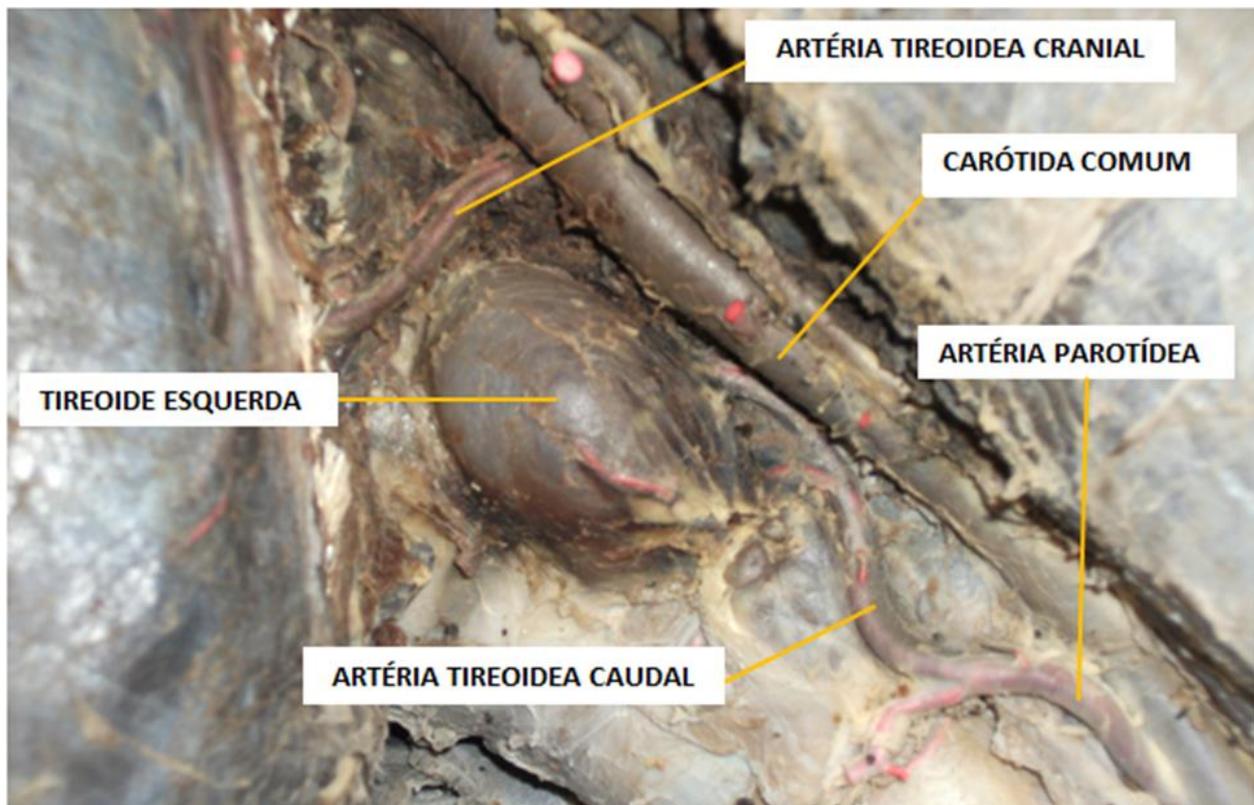


Figura 1. Vista lateral esquerda da região cervical cranial de um equino, destacando as principais artérias relacionadas com glândula tireoide.

Alterações da glândula tireoide

Tireopatias em equinos não são frequentemente relatadas na rotina clínica, pois apresentam evolução silenciosa, evidenciando-se quando há um considerável aumento de volume na região proximal ventrolateral do pescoço. Neoformações da tireoide podem comprometer estruturas adjacentes à glândula, como a traqueia, ocasionando estridor respiratório, intolerância ao exercício e, nos casos mais graves, sufocamento (10,11).

Dados epidemiológicos obtidos por exames de necropsia mostraram que, de 38 glândulas examinadas a partir de cavalos com mais de 10 anos, 12 continham nódulos tireoidianos no parênquima, uma taxa global de ocorrência de 31,6%. Com relação ao padrão racial, nove eram puro-sangue inglês, dois eram anglo-árabes e um cavalo era de raça desconhecida. Desses animais, seis eram garanhões, quatro éguas e dois eram machos castrados. A taxa de ocorrência em cavalos com mais de 20 anos foi de 75,0%. Além disso, os autores concluíram que, tumores de tireoide, são comumente encontrados em cavalos de idade mais avançada e derivam em sua maioria de adenomas de células parafoliculares (células C) (12).

O adenoma é a neoplasia mais comum em equinos. Apresenta-se em sua maioria em cavalos mais velhos e geralmente é unilateral. (13). Um estudo realizado com equinos portadores de adenoma tireoidiano ou hipofisário sugeriu que estas alterações interferem no metabolismo da glicose e do cortisol, pois esses animais responderam exageradamente à

insulina após o teste de tolerância oral à glicose e deixaram de responder a supressão do cortisol 24 horas após o teste de supressão por dexametasona. (14).

Neoplasias malignas são menos frequentes. Na maioria dos relatos de neoformações, as concentrações séricas de hormônios tireoidianos mantiveram-se normais, embora, em alguns casos, desencadearam o hipotireoidismo e hipertireoidismo (15).

Relatos de carcinoma medular (Células C) também são encontrados. Os equinos acometidos apresentavam tumoração evidente em um dos lados do pescoço. Manifestações clínicas que levassem a suspeita de hipo ou hipertireoidismo não foram observadas, embora testes de função tireoidea não tenham sido realizados (11,16).

Recentemente, um estudo relatou um caso de um cavalo de 15 anos com aumento significativo do lobo tireoidiano esquerdo. Realizou-se exame histopatológico após excisão cirúrgica e foi diagnosticado o primeiro caso de um carcinoma misto microfolicular de células C. Clinicamente, o animal apresentava-se com moderado aumento de volume da região ventrolateral do pescoço e inapetência (17).

Existem poucos relatos de casos publicados de cavalos que foram realmente documentados como hipotireoidismo. Os sinais clínicos foram principalmente letargia e intolerância ao exercício. Em três casos de adenocarcinoma, um equino era eutireoideo e dois eram hipotireoideos com base nas concentrações séricas de T3 e T4 (18,19,20). Foi também descrito um caso de um equino com diagnóstico de carcinoma e de adenoma na mesma glândula, onde o nível baixo de T3 constatado era resultante da síndrome do eutireoideo doente, uma vez que a resposta ao estímulo por TSH foi normal (21). Há um relato de ceratoconjuntivite seca em um cavalo com hipotireoidismo associado (22).

Entretanto, pesquisadores constataram no exame post-mortem que 156 (25%) de 622 cavalos apresentavam glândulas grosseiramente anormais. Em 125 dos 156 casos, a aparência histológica foi consistente de uma doença semelhante à tireoidite de Hashimoto (hipotireoidismo), incluindo variações em tamanho e forma do folículo, rarefação de coloide e de infiltração linfocítica e fibrose (23).

Pelos conhecimentos que vêm se acumulando ao longo dos anos, sugere-se que muitos dos sinais clínicos tradicionalmente associados ao hipotireoidismo em cavalos (letargia, intolerância ao exercício e distúrbios dermatológicos) são na realidade resultantes de manifestações clínicas da Síndrome Metabólica Equina (SME) (15).

A SME é caracterizada principalmente por intolerância ao exercício, resistência à insulina, aumento dos marcadores inflamatórios, alteração da função reprodutiva, predisposição à obesidade e redução dos níveis séricos de T4 (24,25).

Por outro lado, encontramos mais casos relatados de bócio e hipotireoidismo em potros associados à ingestão de quantidades excessivas de iodo em rações suplementadas com algas marinhas (26,27,28).

Existem também poucos casos documentados de hipertireoidismo. No primeiro relato, um cavalo manifestou a disfunção associada a um adenocarcinoma (29). Em outro caso, um equino apresentou alargamento unilateral da tireoide, associado a um adenoma endocrinologicamente ativo (30). Por último, pesquisadores relataram um caso de uma égua com emagrecimento, polifagia, hiperexcitabilidade, polidipsia e taquicardia e aumento bilateral da região proximal do pescoço. O diagnóstico final foi de adenocarcinoma em lobo esquerdo e adenoma funcional hipofisário, associados ao hipertireoidismo (31).

ASPECTOS ULTRASSONOGRÁFICOS DA GLÂNDULA TIREOIDE EQUINA

Doenças do hipotálamo, da glândula pituitária, pâncreas e glândula adrenal são relativamente raras em cavalos e não são facilmente identificadas por técnicas de diagnóstico

por imagem. Entretanto, a tireoide é uma estrutura superficial encontrada na região da laringe e pode ser acessada com facilidade pelo exame ultrassonográfico (32).

A ultrassonografia da tireoide em modo B em equinos deve ser realizada com frequência elevada para melhor caracterizar a glândula. O uso de álcool sobre a região a ser analisada é indicado e eficaz para eliminar o ar entre os pêlos. O transdutor deve ser posicionado na glândula em planos opostos (transversal e longitudinal) para assegurar a varredura de toda estrutura (32) (figura 2 A e B).

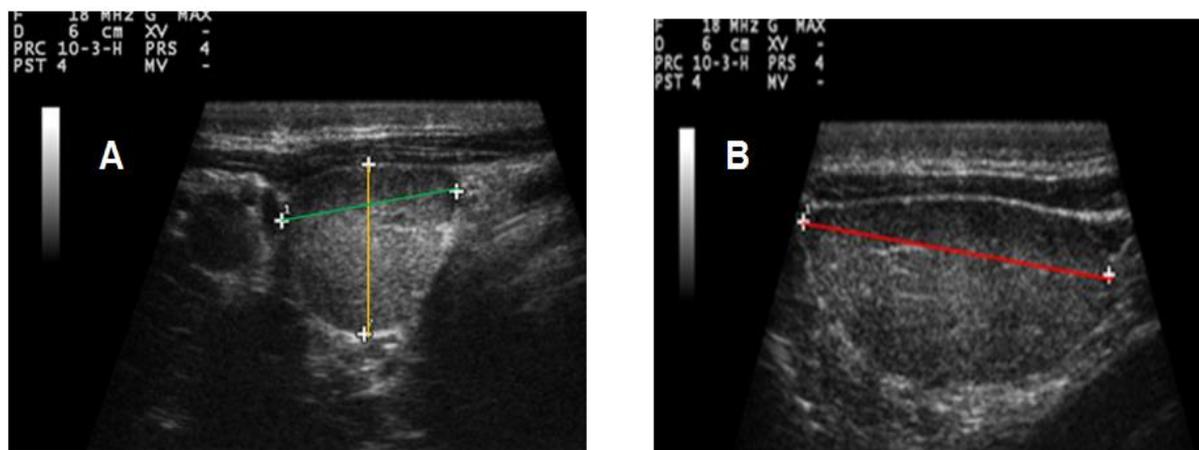


Figura 2. Em A, é indicado a mensuração da largura (linha verde) e altura (linha amarela) no plano transversal do lobo tireoidiano. Em B, a mensuração do comprimento (linha vermelha) no plano longitudinal.

As medições da glândula e todas as estruturas internas devem ser realizadas e as imagens armazenadas para futuras análises e comparações. Ao exame ultrassonográfico, a tireoide normal apresenta uma textura homogênea, fina e "pontilhada". Em secção transversal, a artéria carótida e a parede da laringe podem ser vistas contactando a glândula (32).

Ao exame ultrassonográfico de casos de adenoma benigno, a glândula apresenta-se uniformemente aumentada e pode ter pequenas estruturas císticas no parênquima. Geralmente não há vascularização importante. A visualização de múltiplos pequenos cistos leva a suspeita dessa neoformação (32).

Lesões malignas podem aumentar o volume da glândula e também estar associadas a massas presentes na região cervical cranial, como os adenocarcinomas. São descritos também hiperplasia da tireoide (bócio) associada ao hipotireoidismo em potros (32).

Em um relato de caso, os autores evidenciaram a sensibilidade do exame ultrassonográfico como método de avaliação da doença tireoidiana na espécie equina, visibilizando aumento de ambos os lobos, onde o lobo esquerdo apresentava ecogenicidade mista com áreas de estrias hiperecogênicas distribuídas difusamente pelo parênquima. Observou-se também presença de regiões císticas com finos septos internos. O lobo direito também apresentava ecogenicidade mista, mas era mais ecogênico e possuía poucas regiões císticas, se comparado ao lobo esquerdo. O exame histopatológico evidenciou adenocarcinoma em lobo esquerdo e resultado inconclusivo para o lobo direito (31).

Em outro relato de caso, um equino foi diagnosticado com carcinoma misto de células C microfolicular. As imagens ultrassonográficas indicaram que o lobo tireoidiano esquerdo apresentava-se proeminente, com abaulamento da cápsula. O parênquima revelou-se periféricamente hipoecogênico e região central hiperecogênica heterogênea. Vascularização central e radial foi evidente utilizando-se Doppler. Para estes autores, a ultrassonografia provou ser uma modalidade de imagenologia útil para a caracterização da neoformação. A técnica determinou com precisão o tamanho e marginação do tumor, bem como o fornecimento de informações dinâmicas de perfusão vascular (17).

Em um estudo envolvendo o exame ultrassonográfico da glândula tireoide, o volume, ecogenicidade e presença de nódulos foram avaliados em cavalos clinicamente normais para tireopatias. Entre quatorze lobos de equinos idosos, a média do volume total foi de 37,85 ($\pm 10,04$) cm³. Cinco apresentaram nódulos. Com relação à ecogenicidade, dez lobos apresentaram-se hiperecogênicos e quatro isoecogênicos, com relação ao músculo esternocéfálico (33).

Em Medicina humana, a ultrassonografia em modo B associada ao método Doppler (DUPLEX), tem sido utilizada para o diagnóstico de doenças difusas e nodulares da tireoide como um método de avaliação do fluxo sanguíneo (34). Esta técnica pode fornecer uma precisão diagnóstica de mais de 90% em carcinoma da tiroide, especialmente carcinoma papilar (35). É considerado um método útil para avaliação da progressão de doenças autoimunes da tireoide, tais como a doença de Graves e tireoidite de Hashimoto (36).

Quatro principais artérias são observadas em ambos os lobos tireoidianos em humanos, que incluem duas artérias tireoideas superiores (ATs) e duas artérias tireoideas inferiores (ATIs) (36). A AIT está abaixo da base da tiroide e é mais evidente e fácil de ser verificada que a AST na prática clínica. Pela AIT, é possível avaliar o índice de pulsatilidade (IP), o índice de resistência (IR), velocidade do pico sistólica (VPS). O padrão de fluxo em cores do parênquima (PFCP) da glândula tireoide também pode ser analisado e classificado (tabela 1).

Dois trabalhos realizados em medicina humana evidenciaram a importância desses métodos, detectando o aumento significativo da VPS, IP, IR e PFCP em seres humanos que apresentaram hiper e hipotireoidismo (34,36).

Em medicina veterinária, os estudos ultrassonográficos pela metodologia Doppler ainda são escassos na glândula tireoide, limitando-se à função power Doppler para avaliar a vascularização em alguns relatos de casos de neoplasias tireoidianas (17,31,37).

Tabela 1. Classificação do padrão do fluxo em cores do parênquima (PFCP) da glândula tireoide em humanos (38).

PFCP 0	Fluxo sanguíneo limitado para as artérias periféricas da tireoide e o fluxo do parênquima ausente
PFCP 1	Fluxo sanguíneo levemente aumentado no parênquima com distribuição desigual irregular
PFCP 2	Aumento de fluxo em cores com distribuição irregular
PFCP 3	Aumento de fluxo em cores com destaque homogêneo em todo parênquima (também chamado de "inferno da tireoide")

OUTROS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA ALTERAÇÕES TIREOIDIANAS

Exames laboratoriais e patológicos

Para a consecução do correto diagnóstico das disfunções tireoidianas, é necessário que se alie os dados de anamnese com os achados dos exames físicos e laboratoriais, os quais incluem: dosagens séricas de colesterol e de triglicérides e, principalmente, as mensurações dos hormônios tireoidianos. A determinação da relação das concentrações de T4 total, T4 livre e níveis séricos de TSH aumentam significativamente a acurácia da elucidação dos distúrbios da tireoide (39,40).

Em medicina humana, mensurações de concentrações de T3, T4 e TSH, embora simples de executar, nem sempre são considerados os indicadores mais confiáveis de função da glândula. Uma variedade de medicamentos, bem como estados fisiológicos ou fisiopatológicos, pode levar a redução dos valores de concentração de seus hormônios, mesmo quando a própria

glândula tireoide está normal, pois podem alterar a ligação desses hormônios com as proteínas do sangue, tais como: globulinas, transferinas e albuminas (9).

No cavalo, alguns desses fatores incluem jejum, fenilbutazona ou administração de corticosteroides, exercício extenuante, dietas ricas em energia, proteína, zinco e cobre, e doenças extratireoidianas. Por isso, é importante que as mensurações dos hormônios da tireoide sejam realizadas em cavalos que não receberam qualquer medicação durante, pelo menos, quatro semanas antes dos testes. Deste modo, torna-se mais seguro medir a fração livre de T4 no sangue desses animais, sendo o método de diálise de equilíbrio o recurso mais propenso a refletir o verdadeiro estado da tireoide em animais doentes em comparação com outros métodos de medição da concentração do T4 livre (15).

A punção aspirativa por agulha fina (PAAF) tem sido utilizada como um bom método para esclarecer o diagnóstico primário de doenças da tireoide (41,42). É indicado inicialmente o diagnóstico pré-operatório da suspeita de alterações tireoidianas pela PAAF e depois a utilização do estudo histológico da peça cirúrgica correspondente, uma vez que este exame é considerado padrão-ouro no diagnóstico da maioria das doenças da glândula tireoide (43-45).

Um relato de caso de carcinoma misto microfolicular de células C de tireoide em equino, diagnosticado por exame histopatológico, apresentou os seguintes achados na citologia: aglomerados de células anaplásicas com anisocitose, anisocariose, cromatina grosseira e proeminente e múltiplos núcleos (17).

Técnicas avançadas de diagnóstico por imagem

Técnicas avançadas de diagnóstico por imagem vêm sendo utilizadas tanto na medicina humana como na veterinária para auxiliar no diagnóstico de alterações tireoidianas. A tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética (RM) fornecem importantes referências anatômicas adjuvantes nas tireopatias, especialmente na avaliação de carcinomas em estágios avançados. Esses métodos são essenciais para a avaliação da extensão da doença tireoidiana para a musculatura adjacente do pescoço, esôfago, traqueia / laringe, e para a veia jugular (8,46).

Em equinos, poucos casos descrevem o uso da TC como técnica de análise da glândula tireoide. Nesses casos, a TC foi de extrema importância para avaliação das características e extensão das alterações, contribuindo desse modo para determinar a conduta terapêutica e planejamento cirúrgico (17,31). Não existem trabalhos demonstrando o uso da RM no estudo da tireoide em equinos.

Existem também estudos que descrevem a aplicação da cintilografia na avaliação da tireoide em equinos. Em um desses trabalhos, os autores avaliaram a técnica em animais clinicamente saudáveis para alterações de tireoide (33) e em outros dois, utilizaram a metodologia para o estudo de uma neoplasia tireoidiana (17,31).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pelos estudos e relatos de casos descritos, a ultrassonografia se mostrou uma metodologia diagnóstica eficiente para caracterizar a glândula tireoide equina. Apesar de estudos descrevendo alguns parâmetros de normalidade dos lobos tireoidianos pela ultrassonografia (dimensões e características do parênquima), estes dados se mostram escassos para uma avaliação mais precisa das tireopatias em equinos. Valores adicionais para contornos e formato, assim como vascularização arterial principal e do parênquima tireoidiano ainda não foram definidos. Devido ao processo de evolução das alterações tireoidianas em cavalos, estágios avançados de neoplasias são mais frequentemente diagnosticados. O estudo mais amplo dos parâmetros de normalidade da glândula tireoide estabelecido pelo exame ultrassonográfico possibilitaria melhor avaliação da progressão dessas afecções na espécie equina.

REFERÊNCIAS

1. Venzke WG. Endocrinologia. In: Sisson S, Grossman JD. Anatomia dos animais domésticos. 5a Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1986.
2. Reef VB. Ultrasonographic evaluation of small parts. In: Reef VB. Equine diagnostic ultrasound. Philadelphia: WB Saunders Company; 1998. p.480-7.
3. Sojka JE. Hypothyroidism in horses. *Compend Contin Educ Pract Vet.* 1995;17(6):845-52.
4. König HE, Liebich H. Glândulas Endócrinas. In: König HE, Liebich, H. Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido. 4a Ed. São Paulo: Artmed; 2011. p.583-7.
5. Ghoshal NG. Coração e artérias. In: Sisson S, Grossman JD. Anatomia dos animais domésticos. 5a Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1986. p.5135-536.
6. Ashdown RR, Done S. Cabeça. In: Ashdown RR, Done S. Atlas colorido de anatomia veterinária: equinos. 2a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2012. p.27-31.
7. Dimock WW, Westerfield C, Doll ER. The equine thyroid in health and disease. *J Am Vet Med Assoc.* 1944;104:313-7.
8. Taeymans O, Peremans K, Saunders JH. Thyroid imaging in the dog: current status and future directions. *J Vet Intern Med.* 2007;21(4):673-84.
9. Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks H. The thyroid gland. In: Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks H. Ganong's review of medical physiology. New York: McGraw-Hill; 2010. p.301-14.
10. Elce YA, Ross MW, Davidson EJ, Tulleners EP. Unilateral thyroidectomy in 6 horses. *Vet Surg.* 2003;32(2):187-90.
11. Lucke VM, Lane LG. C-cell tumors of the thyroid in the horse. *Equine Vet J.* 1984;16(1):28-30.
12. Ueki H, Kowatari Y, Oyamada T, Oikawa M, Yoshikawa H. Non-functional C-cell adenoma in aged horses. *J Comp Pathol.* 2004;131(2-3):157-65.
13. Dalefield RR, Palmer DN. The frequent occurrence of thyroid tumours in aged horses. *J Comp Pathol.* 1994;110(1):57-64.
14. Ralston SL, Nockels CF, Squires EL. Differences in diagnostic test results and hematologic data between aged and young horses. *Am J Vet Res.* 1988;49(8):1387-92.
15. Breuhaus BA. Disorders of the equine thyroid gland. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2011;27(1):115-28.
16. Van Der Velden MA, Meulenaar H. Medullary thyroid carcinoma in a horse. *Vet Pathol.* 1986;23(5):622-4.

17. Saulez MN, Kafka MN, Martinez LR, Wilpe EV, Steyl J. The use of nuclear imaging for a mixed C cell microfollicular carcinoma of the thyroid gland in a mature horse. *Equine Vet Educ.* 2013;25(3):118-25.
18. Joyce JR, Thompson RB, Kyzar JR, Hightower D. Thyroid carcinoma in a horse. *J Am Vet Med Assoc.* 1976;168(7):610-2.
19. Held JP, Pastton CS, Toal RL, Geiser DR. Work intolerance in a horse with thyroid carcinoma. *J Am Vet Med Assoc.* 1985;187(10):1044-5.
20. Hilldige CJ, Sanecki RK, Theodorakis MC. Thyroid carcinoma in a horse. *J Am Vet Med Assoc.* 1982;181(7):711-4.
21. Hovda LR, Shaftoe S, Rose ML, Clemmons LH. Mediastinal squamous cell carcinoma and thyroid carcinoma in an aged horse. *J Am Vet Med Assoc.* 1990;197(9):1187-9.
22. Schwarz BC, Sallmutter T, Nell B. Keratoconjunctivitis sicca attributable to parasympathetic facial nerve dysfunction associated with hypothyroidism in a horse. *J Am Vet Med Assoc.* 2008;233(11):1761-6.
23. Perillo A, Passantino G, Passantino L, Cianciotta A, Mastrosimini AM, Lacovazzi P, et al. First observation of an Hashimoto thyroiditis-like disease in horses from eastern Europe: histopathological and immunological findings. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2005;27(2):241-53.
24. Frank N. Equine metabolic syndrome. *J Equine Vet Sci.* 2009;29(5):259-67.
25. Johnson PJ, Wiedmeyer CE, Lacarrubba A, Ganjam VK, Messer NT. Laminitis and the equine metabolic syndrome. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2010;26(2):239-55.
26. Driscoll J, Hintz HF, Schryver HF. Goiter in foals caused by excessive iodine. *J Am Vet Med Assoc.* 1978;173(7):858-9.
27. Conway DA, Cosgrove JS. Equine goiter. *Irish Vet J.* 1980;34:29-32.
28. Baker JR, Wyn-jones G, Eley JL. Case of equine goitre. *Vet Rec.* 1983;112(17):407-8.
29. Ramirez S, McClure JJ, Moore RM, Wolfsheimer KJ, Stephen D, Gaunt SD, et al. Hyperthyroidism associated with a thyroid adenocarcinoma in a 21-year-old gelding. *J Vet Intern Med.* 1998;12(6):475-7.
30. Alberts MK, McCann JP, Woods PR. Hemithyroidectomy in a horse with confirmed hyperthyroidism. *J Am Vet Med Assoc.* 2000;217(7):1051-4.
31. Tan RHH, Davies SE, Crisman MV, Coyle L, Daniel GB. Propylthiouraci l for treatment of hyperthyroidism in a horse. *J Vet Intern Med.* 2008;22(5):1253-8.
32. Rantanen NW. Ultrasound of the endocrine system. In: Ratanen NW, McKinnon AO. *Equine diagnostic ultrasonography.* Baltimore: Williams and Wilkins; 1998. p.645-7.

33. Davies S, Barber D, Crisman M, Tan R, Larson M, Daniel G. Quantitative pertechnetate thyroid scintigraphy and the ultrasonographic appearance of the thyroid gland in clinically normal horses. *Vet Radiol Ultrasound*. 2010;51(6):674-80.
34. Turgut AT, Erman Ç, Kosar U, Kosar P, Demirbas B, Aral Y. Maximum systolic velocity of inferior thyroid artery and thyroideal color doppler flow pattern in hypothyroid subjects before and after treatment. *J Med Ultrasound*. 2009;17(1):44-51.
35. Fukunari N. Thyroid ultrasonography B-mode and color-Doppler. *Biomed Pharmacother*. 2002;56 Suppl 1:55-9.
36. Chiou SC, Peng YS, Chen PY, Ho C, Yeh HY, Lin JD. Color doppler ultrasonography of inferior thyroid artery and its relation with thyroid functional state. *J Med Ultrasound*. 2006;14(3):51-7.
37. Taeymans O. Thyroid ultrasound in dogs: a review. *Ultrasound*. 2009;17(3):137-43.
38. Schulz SL, Seeberger U, Hengstmann JH. Color doppler sonography in hypothyroidism. *Eur J Ultrasound*. 2003;16(3):183-9.
39. Kemppainen RJ, Behrend EN. CVT update: interpretation of endocrine diagnostic test results for adrenal and thyroid disease. In: Bonagura JD, Kirk RW. *Kirk's current veterinary therapy: small animal practice*. Philadelphia: WB Saunders; 2000. v.12, p.321-3.
40. Ramsey IK, Evans H, Herrtage ME. Thyroid-stimulating hormone and total thyroxine concentrations in euthyroid, sick euthyroid and hypothyroid dogs. *J Small Anim Pract*. 1997;38(12):540-5.
41. Cap J, Ryska A, Rehorkova P, Hovorkova E, Kereks Z, Pohnetalova D. Sensitivity and specificity of the fine needle aspiration biopsy of the thyroid: clinical point of view. *Clin Endocrinol*. 1999;51(4):509-15.
42. Gutman PD, Henry M. Fine needle aspiration cytology of the thyroid. *Clin Lab Med*. 1998;18(3):461-82.
43. Galloway JW, Sardi A, Deconti RW, Mitchell WT, Bolton JS. Changing trends in thyroid surgery 38'experience. *Am Surg*. 1991;57(1):18-20.
44. Giuffrida GK, Gharib H. Controversies in the management of cold, hot and occult thyroid nodules. *Am J Med*. 1995;99(6):642-50.

45. Montironi R, Braccismi A, Scarpelli M, Matera G, Alberti R. Value of quantitative nucleolar features in the preoperative cytological diagnosis of follicular neoplasias of the thyroid. *J Clin Pathol*. 1991;44(6):509.
46. Gotway MB, Higgins CB. MR imaging of the thyroid and parathyroid glands. *Magn Reson Imaging*. 2000;8(1):163-82.

Recebido em: 24/07/2015

Aceito em: 10/01/2017

**CONTROLE POPULACIONAL DE ESPÉCIES SILVESTRES INVASORAS POR
MEIO DE LAQUEADURA E VASECTOMIA EM PRIMATAS *CALLITHRIX
PENICILLATA*: RELATO DE CASO**

Davi Fragôso da Silva^{1*}
Elisângela Barboza da Silva¹
André Preturlon Terra²

RESUMO

Saguis-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*) são consideradas espécies invasoras em regiões do sul e sudeste do Brasil. Espécies invasoras interferem com a dinâmica do ecossistema em áreas nas quais foram introduzidas. A hibridização, a competição e a predação de outros animais são alguns dos problemas causados por estes calitriquídeos. A esterilização de primatas que se encontram em Centros de Recuperação para Animais Silvestres é um procedimento necessário que visa o controle populacional da espécie quando são destinadas para soltura. Técnicas como a de laqueadura e vasectomia, que preservam as glândulas sexuais que são imprescindíveis nestes primatas, pois necessitam de sua produção hormonal para se estabelecer e viver em grupos na natureza. Sendo assim, objetivou-se descrever a técnica cirúrgica de esterilização de um macho e uma fêmea da espécie *C. penicillata*.

Palavras-chave: cirurgia veterinária, controle populacional, espécies invasoras, sagui-de-tufo-preto.

**POPULATION CONTROL OF INVASIVE WILD SPECIES THROUGH TUBAL
LIGATION AND VASECTOMY IN PRIMATES *CALLITHRIX PENICILLATA*: CASE
REPORT**

ABSTRACT

Black-tufted marmosets (*Callithrix penicillata*) are considered invasive species in the regions of Southern and Southeast of Brazil. Invasive species interfere with the dynamics of ecosystem in areas which they were introduced. The hybridization, the competition and the predation of other animals are some of the problems caused by callitrichids. The sterilization of primates that are in wildlife rehabilitation centers is a necessary procedure because it is intended to control the population growth from species destined to reintroduction into the wild. Technics like tubal ligation and vasectomy that maintain the sexual glands are essential to these primates since they need their hormones production to be able to live in groups in the wild. Therefore the aim of this work is to describe in details the sterilization technique of a male and a female of *C. penicillata*.

Keywords: black-tufted marmoset, invasive species, populacional control, veterinary surgery.

¹ Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, UESC. Ilhéus- BA, Brasil.

² Médico Veterinário, ortopedia e cirurgia veterinária.

* Contato principal para correspondência: davifragosodasilva@msn.com

CONTROL DE LA POBLACIÓN DE ESPECIES SILVESTRES INVASORAS MEDIANTE LIGADURA DE TROMPAS Y VASECTOMÍA EN PRIMATES *CALLITHRIX PENICILLATA*: INFORME DEL CASO

RESUMEN

Los títes de Pincel Negro (*Callithrix penicillata*) son considerados especies invasoras en las regiones del sur y el surdeste de Brasil. Las especies invasoras interfieren con la dinámica de los ecosistemas en las áreas en las que fueron introducidas. La hibridación, la competencia y la depredación de otros animales son algunos de los problemas causados por estos callitricidos. La esterilización de los primatas que se encuentran en Centros de Recuperación de Animales Silvestres es un procedimiento necesario dedicado a controlar la población de la especie destinada a su liberación. Técnicas como la ligadura de trompas y la vasectomía, las cuales preservan las glándulas sexuales, son imprescindibles para estos primatas ya que necesitan su producción hormonal para establecerse y vivir en grupos en la naturaleza. Por tanto, este estudio tiene como objetivo describir la técnica quirúrgica de esterilización de un macho y una hembra de la especie *C. penicillata*.

Palabras clave: cirugía veterinaria, control de población, especies invasoras, tití de pincel negro.

INTRODUÇÃO

As espécies de primatas mais conhecidas do gênero *Callithrix* costumam viver em grupos familiares. A espécie *Callithrix penicillata* é endêmica do nordeste e centro-oeste predominante em áreas da caatinga, cerrado e mata atlântica. Reproduzem-se durante todo o ano e possuem uma dieta rica e bem variada consumindo desde exsudatos, sementes, flores, frutos, néctar, além de artrópodes, moluscos, filhotes de aves e mamíferos, anfíbios e pequenos lagartos (1).

Segundo o Ministério do meio ambiente (2) as espécies *C. penicillata* e *C. jacchus* são consideradas invasoras em diversas regiões do Brasil, dando destaque para regiões do sul e sudeste. Espécies invasoras estatisticamente são causadoras da segunda maior perda de biodiversidade no planeta. Ao serem introduzidas em um novo ambiente, muitas dessas espécies não sobrevivem devido as diferentes condições do seu novo habitat, porém, aquelas que conseguem se adaptar possuem grandes chances de se estabelecer causando um potencial perigo de extinção às espécies nativas (3).

Segundo Vale e Prezoto (4) o processo de invasão de animais em novos ambientes é dividido em etapas. A primeira fase é caracterizada pelo período de introdução da espécie no novo habitat. A fase de colonização acontece em seguida, após as superações das barreiras encontradas pela espécie invasora. Caso sobreviva, segue-se pela fase de naturalização onde a nova espécie efetiva sua reprodução conseguindo dispersar seus genes e por fim a fase de impacto onde os danos, sejam ecológicos ou econômicos, ocorrem. Estes processos podem ocorrer tanto de maneira linear como simultânea.

De acordo com Levacov et al. (5), os primatas *C. jacchus*, *Cebus apella*, *C. penicillata* e *Callithrix geoffroyi* são alvos do tráfico interestadual e mais frequente em Centros de Recuperação e Triagem de Animais Silvestres. Sendo os animais retirados de biomas das regiões do norte, nordeste e centro-oeste. Demonstrando assim uma grande quantidade de espécies exóticas e potencialmente invasoras trazidas para região sul e sudeste.

Devido a grande flexibilidade adaptativa das espécies *C. penicillata* e que ao serem introduzidas em áreas não endêmicas onde não possuem predadores e/ou parasitos no ecossistema, geralmente se tornam consumidores do topo da cadeia (6), aumentando os problemas causados devido ao grande aumento da população.

Mais um problema gerado pelas invasões é o do declínio da fauna ornitológica pela predação de ninhos por *Callithrix* spp. Além das aves, mamíferos também são ameaçados pela invasão biológica por calitriquídeos. Como o sagui-da-serra-escuro (*C. aurita*) e o sagui-da-serra (*C. flaviceps*) pela sua capacidade de reprodução e hibridização com estas espécies, por conseguinte, causa o seu desaparecimento devido à perda genética (7).

Outra espécie que corre riscos com a invasão de *C. penicillata* é o mico-leão-dourado (*Leontopithecus rosalia*) a qual já se encontra ameaçada pela grande perda de seu habitat, remanescendo em fragmentos da mata atlântica. Além disso, estudos demonstraram que *C. penicillata* invasores, possuem maior capacidade de adaptação em áreas degradadas em comparação com espécies do gênero *L. rosalia* prejudicando ainda mais as condições de conservação do mico-leão-dourado (4).

RELATO DE CASO

Um sagui macho e uma fêmea da espécie *C. penicillata*, foram escolhidos aleatoriamente dentre os 27 exemplares de *Callithrix* spp. presentes em um centro de recuperação de animais silvestres. Os animais hígdos foram então conduzidos para o centro cirúrgico objetivando-se executar o procedimento de esterilização para a posterior soltura destes animais.

Os primatas foram levados em caixas de transportes onde ficaram em jejum hídrico e alimentar por três horas até o momento do procedimento cirúrgico. Por serem animais com alta velocidade metabólica foi administrado 0,2-0,5 ml de glicose 50% via oral antes da indução anestésica evitando uma queda acentuada de glicose no organismo e o aparecimento de sintomas de hipoglicemia, sendo frequente, os animais apresentarem convulsões.

A indução anestésica foi realizada cobrindo-se a caixa de transporte com material plástico e bloqueando todas as saídas de ar ficando apenas uma abertura para entrada da mangueira pela qual o anestésico volátil era infiltrado, sendo utilizado o agente isoflurano a 5%. O animal então era observado até o momento de decúbito e o tempo médio variou de 5-10 minutos.

O primeiro animal uma fêmea, adulta, pesava 0,334 kg que após a indução anestésica foi mantida com o agente inalatório isoflurano em sistema aberto do tipo Baraka, com utilização de máscara não sendo necessária sua intubação. Durante o trans-cirúrgico, as concentrações do isoflurano variaram de 0,2 – 1,0%.

O animal foi posicionado na mesa em decúbito dorsal para realização da tricotomia e antisepsia habituais. Logo então, uma pequena incisão mediana retroabdominal de aproximadamente 3 cm foi feita objetivando-se acessar a cavidade e o sistema reprodutor feminino. Foram expostos e identificados o útero, os cornos uterinos como também os ovários, para então, dar início ao procedimento de dupla ligadura na região dos ístimos tubários (Figura 1).

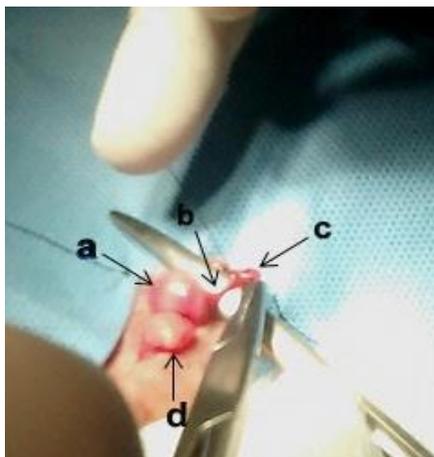


Figura 1. Posicionamento anatômico dos órgãos do sistema reprodutor feminino (a)útero (b) corno uterino esquerdo direito (c) ovário esquerdo (d) bexiga.

Estes foram duplamente pinçados em ambos os lados, direito e esquerdo, deixando uma pequena região da tuba uterina entre as duas pinças onde, aproximadamente 1 cm foi excisado. Em seguida fez-se a ligadura da porção cranial e caudal das tubas. A ligadura foi feita com fio de nylon 3-0 em ambos os lados. O procedimento foi repetido na tuba uterina contralateral.

Não havendo sangramento durante o procedimento, os órgãos foram reposicionados na cavidade para prosseguir com a síntese. Foi utilizado o fio poliglactina 910 3-0 para a sutura da musculatura e subcutâneo utilizando os padrões simples contínuo e zig-zag, respectivamente e para a síntese da pele foi utilizado cola cirúrgica a base de 2-octil-cianoacrilato.

Terminada a cirurgia da fêmea, o macho, também do gênero *C. penicillata* com 0,304kg, foi conduzido para o procedimento de vasectomia. Seu preparo, indução e manutenção foram realizados da mesma maneira que a fêmea.

Uma incisão mediana ventral foi feita acima da sínfise púbica pretendendo-se alcançar o funículo espermático e seus ductos e em seguida foi feita a localização destas estruturas (Figura 2), divulsionou-se os ductos deferentes da fâscia espermática como também da veia e artéria presentes no funículo espermático para então pinçá-los. Foram pinçadas duas porções do ducto, cranialmente e caudalmente deixando um pequeno espaço entre as pinças que foi excisado (Figura 3), em seguida realizou-se a ligadura das duas extremidades.

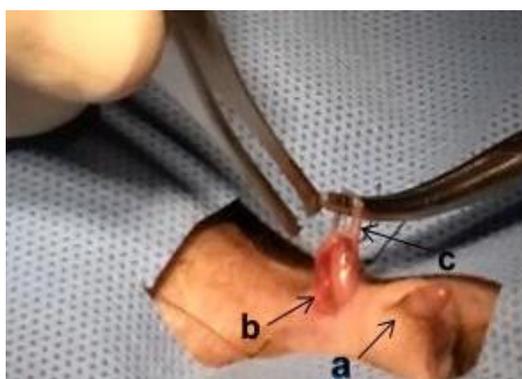


Figura 2. Exposição do ducto deferente para realização da vasectomia (a) pênis (b) funículo espermático direito (c) ducto deferente.

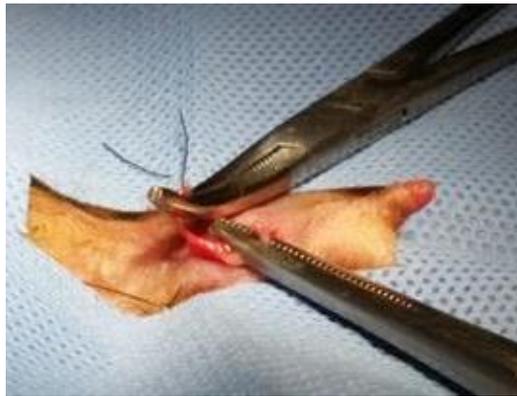


Figura 3. Ducto deferente seccionado aguardando a ligadura das porções cranial caudal.

Utilizou-se o fio nylon3-0 para ligadura dos ductos. O procedimento foi realizado no ducto deferente direito e esquerdo. Após o reposicionamento das estruturas em seu local de origem, a síntese da pele foi feita com cola cirúrgica.

Durante o transcirúrgico os animais apresentaram-se estáveis com padrões fisiológicos normais para a espécie, frequência respiratória 20-40 rpm e temperatura entre 38 – 39,0 °C. Devido a alta frequência cardíaca da espécie, foi analisado com o estetoscópio apenas a regularidade dos batimentos, sendo os valores de referência para a espécie de: 38 – 39,7 °C, 20 – 50 rpm e 240 – 350 bpm.

Logo ao término da cirurgia foram administrados pela via intramuscular cloridrato de tramadol 3mg/kg e penicilina 20.000 UI/kg para prolongamento da analgesia e profilaxia antibiótica respectivamente em ambos os animais.

No pós-cirúrgico, os animais ficaram em observação no centro de recuperação onde eram alimentados e medicados. Foi prescrito para os saguis a administração de enrofloxacina 5mg/kg e dipirona 10mg/kg via oral, uma vez ao dia durante 7 dias. Para receber a medicação, os animais eram retirados do recinto com luvas de raspa evitando-se possíveis mordidas.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O procedimento de vasectomia em machos e laqueadura em fêmeas é recomendando para animais silvestres que são destinados para o retorno a natureza. A esterilização de calitriquídeos diminui a ocorrência de efeitos negativos comparados à castração, visto que esses animais convivem em grupos e a produção hormonal pelas suas glândulas sexuais interfere enormemente no comportamento social e sexual dos indivíduos (8).

Primatas de pequeno porte como os da espécie *Callithrix*, necessitam realizar jejum alimentar em reduzido período de tempo comparado com outras espécies, devido a sua alta taxa metabólica. É recomendando o jejum de 6-8 horas antes da cirurgia. Entretanto, não existe ainda estabelecido um intervalo ideal para espécie *Callithrix penicillata* (9).

Durante o procedimento de esterilização, optou-se pela indução com anestesia inalatória com isoflurano, agente comumente usado em pequenos primatas, pois são facilmente induzidos com anestesia volátil, seja usando máscaras ou caixas para indução. Os animais foram induzidos em suas próprias caixas de transporte devido à praticidade, além de evitar a manipulação dos saguis e conseqüente estresse e fuga pelo local. Este método teve funcionalidade semelhante à utilização de caixas para indução anestésica em pequenos animais (9,10).

A manutenção anestésica foi realizada com o isoflurano devido aos baixos riscos de mortalidade nestes primatas, além de possuir uma baixa CAM de 1,2% (9). Os animais não foram intubados, porém em cirurgias de longa duração, esse procedimento é aconselhado visando à proteção das vias aéreas e correto fornecimento de oxigênio. A intubação

endotraqueal de primatas com peso menor que 500g pode ser de difícil realização, podendo ser necessária à adaptação de sondas utilizando-se, por exemplo, cateteres ou sondas uretrais (10).

Os procedimentos de esterilização foram baseados em técnicas cirúrgicas realizadas em humanos devido à semelhança anatômica entre as espécies. Na laqueadura foi utilizada a técnica de Parkland de salpingectomia parcial bilateral a qual é frequentemente usada na medicina humana (11).

A mesma técnica de dupla ligadura foi utilizada para a vasectomia dos machos a qual também se assemelha com a humana (12). Esta técnica já foi realizada com sucesso e descrita em um sagui da espécie *Callithrix jacchus* por Morris e David (13).

Animais do gênero *Callithrix* assim como outros primatas são conhecidos pela sua grande curiosidade (14). Conhecendo estas características comportamentais da espécie, optou-se pela utilização de cola cirúrgica para sutura da pele ao invés da tradicional síntese com fio de nylon, pois os fios de sutura poderiam estimular os saguis a removerem os pontos causando novas lesões, prejudicando o pós-operatório.

No pós-cirúrgico os animais foram medicados com dipirona sódica via oral e enrofloxacin via oral, uma vez ao dia pretendendo-se promover uma analgesia e profilaxia de infecções bacterianas respectivamente. Estes medicamentos foram adotados devido ao seu amplo uso e baixos efeitos adversos em animais silvestres e exóticos sendo inclusive recomendado para primatas da espécie *C. penicillata* (15).

Conclui-se então que a laqueadura e vasectomia de primatas *Callithrix penicillata* é um procedimento simples com baixos riscos aos animais e que deve ser realizado devido a sua função no controle populacional destas espécies. Amenizando os impactos causados no ecossistema advindo dos processos de invasões e proliferação permitindo o seu retorno à natureza. A descrição da técnica cirúrgica nestes primatas também colabora fornecendo informações sobre a clínica e cirurgia de animais silvestres da fauna brasileira área em constante desenvolvimento e que sempre necessita de novos dados.

REFERÊNCIAS

1. Verona CED, Pissinatti A. Primates: primatas do novo mundo (Sagui, Macaco-Prego, Macaco-Aranha, Bugio e Muriqui). In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL. Tratado de animais selvagens. 2a ed. São Paulo: Rocca; 2014. p.723-30.
2. Ministério do Meio Ambiente (BR). Estratégia nacional sobre espécies exóticas invasoras. Brasília; 2009.
3. Pessato RD, Dechoum MS. Invasões biológicas: uma ameaça invisível [Internet]. Recife: AMANE - Associação para Proteção da Mata Atlântica do Nordeste; 2010 [cited 2017 Apr 10]. Available from: <http://www.terrabrasil.org.br/ecotecadigital/images/Invasoes%20Biologicas.pdf>
4. Vale CA, Prezoto F. Invasões biológicas: o caso do mico estrela *Callithrix penicillata*. CES Rev. 2015;29:58-76.
5. Levacov D, Jerusalinky L, Fialho MS. Levantamento dos primatas recebidos em centros de triagem e sua relação com o tráfico de animais silvestres no Brasil. In: Anais do 1o Congresso Brasileiro de Primatologia; 2011; Belo Horizonte. Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Primatologia; 2011.

6. Traad RM, Leite JCM, Weckerlin P, Trindade S. Introdução das espécies exóticas *Callithrix penicillata* (Geoffroy, 1812) e *Callithrix jacchus* (Linnaeus, 1758) em ambientes urbanos (Primates Callithrichidae). *Rev Meio Ambient Sustentabilidade*. 2012;2:9-23.
7. Begott RA, Landesmann LF. Predação de ninhos por um grupo híbrido de Saguis (*Callithrix jacchus/penicillata*) introduzidos em área urbana: implicações para a estrutura da comunidade. *Neotrop Primates*. 2008;15:28-9.
8. European Association of Zoos and Aquaria. Husbandry guidelines for Callithrichidae. 2a ed. Saint Aignan sur Cher: Beauval Zoo; 2010.
9. Ølberg RA. Monkeys and gibbons In: West G, Heard D, Caulkett N. Zoo animal and wildlife - immobilization and anesthesia. Ames: Wiley Blackwell; 2007. p.375-84.
10. Longley LA. Anaesthesia of exotic pets. 1a ed. Philadelphia: Saunders; 2008. p.103-10.
11. Campagnolo IM. Avaliação da cauterização completa da luz tubária com diferentes potências de eletrocoagulação bipolar para esterilização feminina [dissertação]. Porto Alegre: Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2012.
12. Leal JWB, Câmara PAD. Ligadura tubária. In: Halbe HW. Tratado de ginecologia. 3a ed. São Paulo: Roca; 2000. v.2, p.873-83.
13. Morris TH, David CL. Illustrated guide to surgical technique for vasectomy of common marmoset. *Lab Anim*. 1993;27:381-4.
14. Milagres AP. Caracterização dos sítios de dormida de saguis híbridos *Callithrix* sp. (Mammalia, Primates), em um fragmento florestal urbano [dissertação]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2015.
15. Valverde CR. Primates. In: Carpenter JW. Exotic animal formulary. 3a ed. St. Louis: Saunders; 2005. p.495-527.

Recebido em: 29/09/2016

Aceito em: 03/04/2017

OSTEOPATIA HIPERTRÓFICA ASSOCIADA À METÁSTASE INTRATORÁCICA DE TUMOR MAMÁRIO CANINO: RELATO DE DOIS CASOS

Lianna Ghisi Gomes¹
Izabela Cristina da Silva Martins²
Paulo Roberto Spiller¹
Gleicieli Monteiro Pereira²
Camila Calvi Menegassi²
Douglas Rodrigo Mattei²
José Léo Queiroz da Silva Júnior²
Kalinne Stephanie Bezerra²
Roberto Lopes de Souza³

RESUMO

A osteopatia hipertrófica é um distúrbio de osteoprodução generalizada do periósteo que acomete os ossos longos, sendo geralmente secundária a alguma doença intratorácica, como doença cardiopulmonar ou neoplasia. A maioria das lesões são bilaterais e simétricas, podendo ocorrer nos quatro membros. O presente trabalho tem como objetivo relatar dois casos de osteopatia hipertrófica associada à metástase pulmonar de carcinoma mamário e os achados clínico patológicos destes cães foram estudados.

Palavras-chave: carcinosarcoma, carcinoma de células fusiformes, cão.

HYPERTROPHIC OSTEOPATHY ASSOCIATED WITH INTRATHORACIC METASTASIS OF MAMMARY TUMOR CANINE: TWO CASES REPORT

ABSTRACT

Hypertrophic osteopathy is a generalized bone production disorder the periosteum that affects the long bones, usually secondary to some intrathoracic disease, such as cardiopulmonary disease or cancer. Most lesions are bilateral and symmetrical and can occur in all four limbs. This study aims to report two cases of hypertrophic osteopathy associated pulmonary metastasis of breast carcinoma and the clinical and pathological findings of these dogs were studied.

Keywords: carcinosarcoma, spindle cell carcinoma, dog.

¹ Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Mato Grosso - Campus Cuiabá. Correspondência: liannaghisi@gmail.com

² Residente do Programa de Residência Uniprofissional em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso - Campus Cuiabá.

³ Professor Doutor do Departamento de Clínica Médica Veterinária da Universidade Federal do Mato Grosso – Campus Cuiabá.

OSTEOPATÍA HIPERTRÓFICA ASOCIADA CON METÁSTASIS INTRATORÁCICA CANINA DE TUMOR DE MAMA: DOS CASOS DE INFORME

RESUMEN

Osteopatía hipertrófica es un trastorno generalizado osteoproducción del periostio que afecta a los huesos largos, generalmente secundaria a alguna enfermedad intratorácica, como la enfermedad cardiopulmonar o cáncer. La mayoría de las lesiones son bilaterales y simétricas, que se producen en las cuatro extremidades. Este estudio tiene como objetivo reportar dos casos de la osteopatía hipertrófica asociada con se estudiaron las metástasis pulmonares de carcinoma de mama hallazgos clínicos y patológicos de estos perros.

Palabras clave: carcinosarcoma, carcinoma de células fusiformes, perro.

INTRODUÇÃO

O aparecimento de um tumor resulta de uma série de fatores, gerando células que não respondem aos mecanismos naturais de controle (1). As glândulas mamárias são o local mais comumente afetado por neoplasias em cadelas (2), com uma incidência estimada em 50% de todas as neoplasias na espécie, das quais cerca de 60% são benignas e 40% malignas. A metastização nos tumores mamários caninos pode ocorrer por via linfática ou venosa, sendo diagnosticadas em 15,9% dos tumores malignos (3). Metástases à distância tendem a ocorrer primeiramente a nível pulmonar, podendo depois surgir a nível dos linfonodos pré-escapulares, esternais ou inguinais profundos e/ou a nível hepático, renal e, menos frequentemente, ósseo, cardíaco ou na pele (4).

Casos de processos neoplásicos primários ou metastáticos intratorácicos são observados na osteopatia hipertrófica (OH), uma rara doença osteoproliferativa periosteal generalizada, resultando na neoformação de tecido ósseo ao redor dos ossos longos. A maioria das lesões são bilaterais e simétricas e podem ocorrer nos quatro membros (5). A patogenia da OH não está totalmente esclarecida, uma hipótese é a produção de moléculas tóxicas por neoplasia que são liberadas na circulação. Essas moléculas provocam o aumento do fluxo de sangue, favorecem o desenvolvimento de anastomoses arteriovenosas, e comprometem microcirculação. Ainda, estão associadas congestão venosa passiva das zonas afetadas e estimulação da atividade do periosteio adjacente (6). O prognóstico para a OH é dependente da causa (7).

O objetivo deste trabalho foi relatar dois casos de OH associados à neoplasia metastática intratorácica em cadelas.

RELATO DOS CASOS

Foram atendidas no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT *Campus* Cuiabá, duas cadelas, sem raça definida, ambas com nove anos de idade. A paciente I, pesando 30 Kg, apresentava neoformação nas mamas abdominais caudais e inguinais da cadeia direita, com espessamento de pele, eritema, ulceração, secreção sanguinolenta, e aumento da temperatura local, com aproximadamente dois meses de evolução, crescimento lento e progressivo. Ao exame físico mostrava-se alerta, sem características de desidratação, mucosas normocoradas e temperatura retal de 37,8°C. A conduta adotada foi excisão cirúrgica local e o envio do material coletado para análise histológica, porém, por opção do proprietário, a amostra não foi processada. Após seis meses da realização do procedimento cirúrgico, o animal retornou apresentando alterações na deambulação e dificuldade em se levantar,

extremidades distais dos quatro membros edemaciadas, apatia, anorexia, vômito, emagrecimento progressivo, desidratação e intolerância ao exercício.

Foi realizada radiografia simples do tórax e membros, esofagograma, ultrassonografia abdominal, hemograma e perfil bioquímico (ureia, creatinina, albumina e alanino-amino-transferase), que se encontravam dentro dos valores de referência para a espécie. Ao exame ultrassonográfico os rins encontravam-se simétricos, com perda da arquitetura anatômica devido à presença de formações nodulares de limites pouco definidos, heterogêneas e de ecogenicidade variável, ocupando as regiões cortical e medular, bilateralmente. Na radiografia simples do tórax (Figura 1A) foi possível observar presença de formações nodulares com radiopacidade de tecidos moles, de limites bem definidos e tamanhos variados em todos os campos pulmonares. No esofagograma, após a administração do meio de contraste (Figura 1B), observou-se retenção do mesmo em lúmen de esôfago torácico e deslocamento dorsal do lúmen esofágico após sua passagem pela silhueta cardíaca, sugerindo a presença de neoplasia pulmonar nesta região. As imagens radiográficas dos membros (Figura 1C) revelaram intensa reação periosteal osteoproliferativa de aspecto paliçada em toda a extensão de múltiplos ossos do esqueleto apendicular (OH).



Figura 1. Radiografia latero-lateral simples de tórax mostrando formações nodulares de limites bem definidos em todos os campos pulmonares (A) e com a administração do contraste, ficou visível o deslocamento dorsal do lúmen esofágico após passagem pela silhueta cardíaca (B). Radiografia crânio-caudal de membros torácicos de cão com OH, com reação periosteal osteoproliferativa de aspecto paliçada, ao longo do rádio, ulna, metacarpianos e falanges (C).

A paciente II foi encaminhada para reavaliação, tendo já realizado um exame ultrassonográfico com laudo de neoformação esplênica acentuada e suspeita de massa nos rins. Segundo o proprietário, foram observados episódios de hemoptise, seguidos de agonia respiratória e hiporexia. Ao exame físico, a temperatura retal era de 39°C, as mucosas encontravam-se hipocoradas e palparam-se diversos nódulos localizados nas mamas abdominais craniais e caudais esquerda e abdominal caudal e inguinal direita, pouco móveis e de contornos irregulares. Foram realizados exames radiográficos de membros e tórax, onde foi visualizada uma formação nodular de radiopacidade de tecidos moles e limites relativamente definidos em campo pulmonar direito e as imagens dos membros evidenciaram as mesmas alterações de OH encontradas na paciente I.

Diante do caso e prognóstico reservado, ambos os proprietários optaram pela eutanásia dos animais e os cadáveres foram encaminhados ao Laboratório de Patologia Veterinária da UFMT para realização de necropsia e exames histológicos. Durante a necropsia da paciente I, a avaliação macroscópica dos ossos revelou grande formação periosteal perpendicular a cortical, a qual permanecia íntegra. No baço, três nódulos arredondados de diferentes tamanhos invadiam a superfície e ambos os rins apresentavam nódulos de vários tamanhos, distribuídos de forma multifocal, invadindo a superfície cortical, assim como a musculatura intercostal (Figura 2). O material foi coletado e fixado em formalina neutra tamponada, e submetido aos procedimentos de rotina para inclusão em parafina. Os cortes com espessura de 4 a 5µm foram

corados pelos métodos de Hematoxilina-Eosina e Tricrômio de Masson. O diagnóstico histológico evidenciou OH associada à metástase pulmonar de carcinoma de células fusiformes de mama, com metástase também em rins, pulmão, baço, intestino delgado e músculo intercostal.

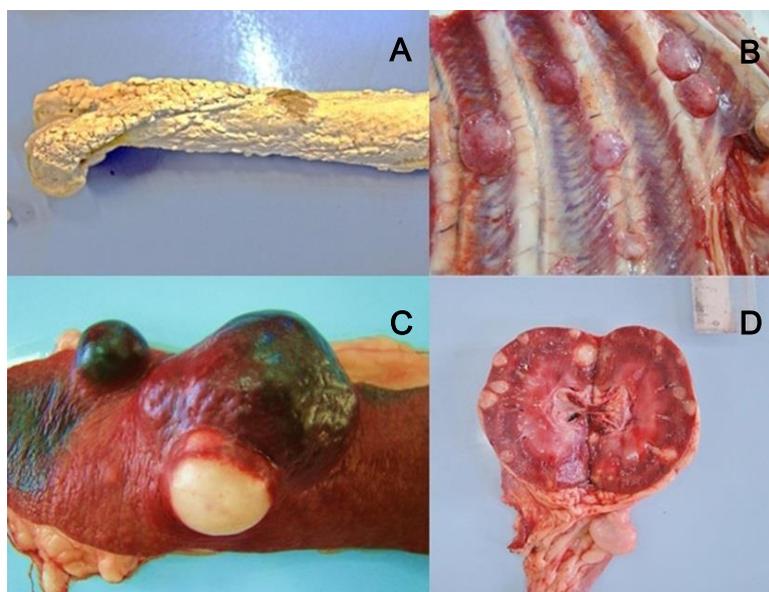


Figura 2. Aspecto macroscópico de osso após maceração (A), musculatura intercostal (B), baço (C) e rim (D).

Durante a necropsia da paciente II, ambos os rins apresentaram a superfície irregular e formação de vários nódulos. Ao corte, massa de coloração vermelha escuro com áreas brancacentas, circundando a superfície cortical. O fígado apresentava vários nódulos pequenos de coloração brancacenta e distribuição difusa, conferindo um aspecto nodular. Na porção final do intestino delgado, um nódulo avermelhado, de superfície irregular, medindo 3cm de diâmetro foi observado. Múltiplos ossos do esqueleto apendicular apresentavam lesões osteoproliferativas. O diagnóstico histológico foi de carcinosarcoma de mama, com metástase em pulmão, coração, intestino delgado, fígado e rins.

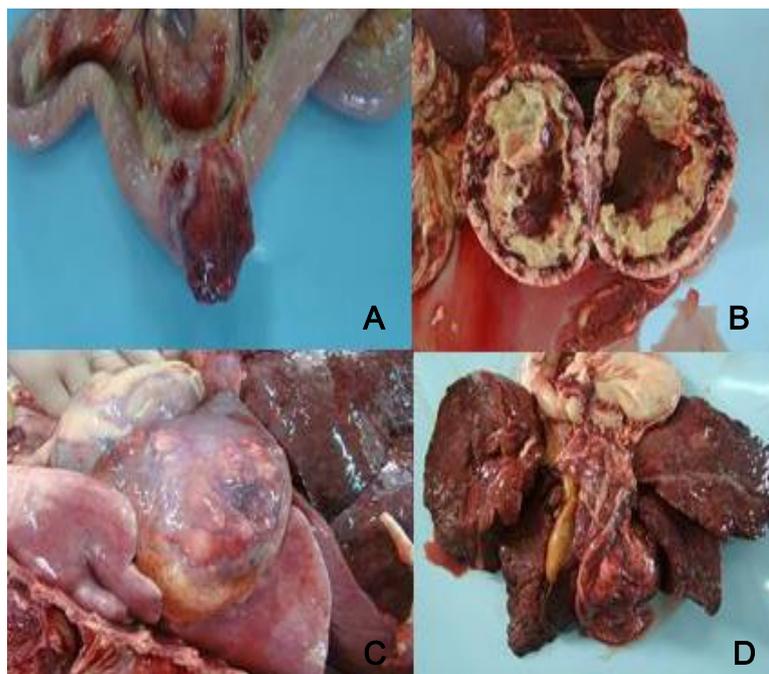


Figura 3. Aspecto macroscópico de intestino delgado (A), rim (B), fígado (C) e pulmão (D), no qual se visualiza massas tumorais metastáticas.

DISCUSSÃO

No presente relato as pacientes eram fêmeas e com nove anos de idade, faixa etária em que os tumores mamários são comuns, assim como descrito por Brearley (8). Misdorp et al. (9) e Lana et al. (4) estabeleceram um diagnóstico de malignidade exclusivamente com base no aspecto macroscópico da neoplasia, com algumas características que podem ser usadas como indicadores de um comportamento maligno: crescimento rápido, margens mal definidas, fixação à pele e aos tecidos adjacentes, ulceração e inflamação intensa, linfadenomegalia regional e dispneia. A presença de um ou mais destes sinais indica um risco acrescido de se tratar de uma neoplasia maligna (4). Assim como o encontrado em ambos os casos, foram observados ao menos duas destas características citadas, e a malignidade dos tumores foram confirmadas por exame histopatológico, sendo diagnosticado carcinoma de células fusiformes e carcinossarcoma, para as pacientes I e II, respectivamente.

Carcinoma de células fusiformes tem sido relatado mais frequentemente no lábio, mucosa oral, e laringe (10). Embora raro, pode ocorrer na mama, como foi o caso da paciente I. Gersell e Katzenstein (11) sugeriram que o prognóstico para este tumor seja semelhante ao do carcinoma da mama "típico". Por se tratarem de tumores muito agressivos, sendo comum metástase local e distante, resultam em uma alta taxa de mortalidade. Já os carcinossarcomas são tumores malignos extremamente raros que possuem na sua constituição componentes epiteliais (carcinomatosos) e de tecido de conexão (sarcomatosos) (4), apresentando-se na maioria dos casos, como lesões bem circunscritas e com períodos de sobrevivência pós-cirúrgico prolongados (em média 18 meses). Misdorp et al. (9), afirmaram que estes tumores têm uma elevada tendência para metastizar, aproximando-se a taxa de mortalidade de 100%, assim como apresentado no caso da paciente II.

A OH ocorre em associação a uma ampla variedade de doenças, sendo a maioria delas de natureza neoplásica. Dessa forma, a população de cães acometida por esta condição é considerada heterogênea quando os aspectos como faixa etária, raça e sexo são analisados (7).

Os sinais clínicos e radiográficos observados são característicos de OH, e as pacientes apresentavam também neoformação intratorácica. Os achados de necropsia de microscopia são condizentes com o quadro clínico que o animal apresentava, exceto pela lesão renal. A dosagem de uréia e creatinina sérica mostrou-se dentro dos padrões de normalidade, mas as lesões degenerativas tubulares e o processo inflamatório revelaram comprometimento da função renal, que não foi detectado pelos exames laboratoriais empregados, corroborando com Fossum (12), pois neoplasias renais podem causar alterações locais que não levam ao quadro de azotemia.

CONCLUSÃO

A OH é uma patologia incomum descrita em associação aos processos neoplásicos com características malignas ou não. Contudo, o prognóstico e sucesso do tratamento são dependentes da causa, devendo ser instituídos protocolos terapêuticos para o alívio das alterações secundárias. Os dados obtidos conforme o histórico de neoplasia mamária, conseqüente metástase pulmonar, sinais clínicos e alterações características ao exame radiográfico, tornou possível o diagnóstico de OH, porém, atualmente, ainda há dificuldade no tratamento, pois as medidas terapêuticas para ambos os casos seriam somente cuidados paliativos pelo diagnóstico de neoplasia mamária metastática.

REFERÊNCIAS

1. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Patologia estrutural e funcional. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.
2. Slatter D. Oncologia do sistema reprodutivo. In: Slatter D. Manual de cirurgia de pequenos animais. 2a ed. São Paulo: Manole; 1998. v.2, p.2575-80.
3. De Oliveira LO, Oliveira RT, Loretto AP, Rodrigues R, Driemeier D. Aspectos epidemiológicos da neoplasia mamária canina. Acta Sci Vet. 2003;31:105-10.
4. Lana SE, Rutteman GR, Withrow SJ. Tumors of the mammary gland. In: Withrow SJ, Vail DM. Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology. 4a ed. St. Louis: Saunders Elsevier; 2007. p.619-36.
5. Trost ME, Kommers GD, Silva TM, Irigoyen LF, Figuera RA, Barros CSL, et al. Osteopatia hipertrofica em sete cães. Pesqui Vet Bras. 2012;32:424-9.
6. Daleck CR, Rocha NS, Furlani JM, Cesar JRF. Mastocitoma. In: Daleck CR, De Nardi AB, Rodaski S. Oncologia em cães e gatos. 1a ed. São Paulo: Roca; 2009. p.282-91.
7. Johnson RL, Lenz SD. Hypertrophic osteopathy associated with a renal adenoma in a cat. J Vet Diagn Invest. 2011;23:171-5.
8. Brearley MJ. Mammary gland tumours in the dog. Practice. 1989;11:248-53.
9. Misdorp W. Veterinary cancer epidemiology. Vet Q. 1996;18:32-6.
10. Battifora H. Spindle cell carcinoma. Ultrastructural evidence of squamous origin and collagen production by tire tumor cells. Cancer. 1976;37:2275-82.

11. Gersell DJ, Katzenstein A-LA. Spindle cell carcinoma of the breast. A clinicopathologic and ultrastructural. Hum Pathol. 1981;12:550-61.
12. Fossum T. Cirurgia de pequenos animais. São Paulo: Roca; 2001.

Recebido em: 06/10/2015

Aceito em: 30/03/2017

CARCINOMA INDIFERENCIADO DE PÂNCREAS EXOCRINO EN PERRO: DESCRIPCIÓN DE CASO

Sabrina Oliveira dos Santos¹
Priscila Pavini Cintra²
Carlos Fonseca-Alves³
Oscar Rodrigo Sierra Matiz⁴
Geórgia Modé Magalhães⁵
Ângelo de Sousa Jorge¹
Sabryna Gouveia Calanzans²

RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo describir un caso de carcinoma de páncreas exocrino en un paciente canino, macho, raza Poodle de 10 años de edad. El motivo de la consulta fue orina oscura e ictericia. El animal presentaba sintomatología inespecífica junto con hallazgos físicos inconclusos. En ecografía abdominal se logró visualizar un nódulo en cuerpo de páncreas que fue confirmado bajo laparotomía exploratoria. El diagnóstico se corroboró con biopsia del tejido pancreático y marcación inmunohistoquímica. El tejido fue negativo para insulina, glucagón, somastatina y vimentina; y positivo para citoqueratina (AE1/AE3) y citoqueratina 19. El diagnóstico fue de carcinoma de páncreas exocrino. El paciente evidenció una respuesta clínica desfavorable que lo llevo a la muerte siete días después. En la necropsia se observó un notable cambio estructural en páncreas y evidencia de metástasis en órganos adyacentes no antes percibidos en la laparotomía demostrando así la agresividad de este tipo de tumor.

Palabras clave: neoplasia, inmunohistoquímica, citoqueratina, metástasis.

CARCINOMA INDIFERENCIADO DE PÂNCREAS EXÓCRINO EM CÃO: RELATO DE CASO

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo descrever um caso de carcinoma de pâncreas exócrino em um paciente canino, macho, da raça Poodle de 10 anos de idade. A queixa principal foi de urina escura e icterícia. O animal apresentava sinais inespecíficos além de achados físicos inconclusivos. No ultrassom abdominal conseguiu-se observar um nódulo no corpo do pâncreas que foi confirmado na laparotomia exploratória. O diagnóstico foi feito por biopsia do tecido pancreático e marcação imuno-histoquímica. O tecido foi negativo para insulina, glucagon, somastatina e vimentina, e positivo para citoqueratina (AE1/AE2) e citoqueratina 19. O diagnóstico foi de carcinoma de pâncreas exócrino. O paciente desenvolveu uma resposta clínica desfavorável e foi a óbito após sete dias da cirurgia. Na necropsia foi observada uma acentuada mudança estrutural no pâncreas como também evidencia de metástase em órgãos adjacentes não antes percebidos na laparotomia exploratória, demonstrando assim, a agressividade deste tipo de tumor.

¹ Médico Veterinário autônomo.

² Universidade de Franca (UNIFRAN).

³ Pós-doutorando do Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu.

⁴ Doutorando em Medicina Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal.

⁵ Docente do Instituto Federal Sul de Minas- Muzambinho.

Palavras-chave: neoplasia, imuno-histoquímica, citoqueratina, metástase.

UNDIFFERENTIATED CARCINOMA OF THE EXOCRINE PANCREAS IN DOG: CASE REPORT

ABSTRACT

The aim of this article is to describe a case of carcinoma of the exocrine pancreas in a 10 year old, male, Poodle dog. The main complaint informed by the owner was dark urine and icterus. The animal was presented with an unspecified symptomatology and physical exam inconclusive. On abdominal ultrasound a nodule in the pancreas body was seen and confirmed under exploratory laparotomy. Final diagnosis was confirmed by biopsy of the tissue and immunohistochemistry evaluation. The tissue was negative for insulin, glucagon, somastatin and vimentin; and positive for cytokeratin (AE1/AE3) and cytoqueratin 19. Final diagnosis was carcinoma of the exocrine pancreas. The dog had a poor clinical response and died after seven days post-surgery. On necropsy a remarkable structural change of pancreas and regional metastatic disease were revealed; these findings were not seen on previously exploratory surgery, describing the aggressiveness of this type of tumor.

Keywords: neoplasia, immunohistochemistry, cytoqueratins, metastasis.

INTRODUCCIÓN

Las neoplasias de páncreas exocrino son extremadamente raras, representando menos de un 0,5% de todas las neoplasias malignas en perros. Existe mayor afección de animales adultos y de edad avanzada, sin predilección de sexo (1,2). Las razas más frecuentemente afectadas son el Cocker Spaniel, Airdale Terrier, Boxer y Labrador Retriever (2,3). Los factores de riesgo relacionados con la incidencia de tumores pancreáticos en perros no están bien esclarecidos (3). Sin embargo, en los humanos, la pancreatitis crónica puede representar un riesgo elevado para el desarrollo de esta neoplasia (4,5), al igual que en gatos, la diabetes mellitus puede ser un factor predisponente (6).

Las neoplasias del páncreas exocrino son de origen epitelial (3), clasificados como adenomas o carcinomas, siendo mayor la incidencia de carcinomas (2). La metástasis es una característica sobresaliente de las neoplasias malignas pancreáticas, siendo más frecuentes las metástasis en peritoneo, mesenterio, órganos gastrointestinales adyacentes, pulmones e hígado (1,2,7,8).

La mayoría de los pacientes no presentan síntomas en estadios iniciales del tumor, dificultando el diagnóstico precoz (9). A medida que evoluciona la enfermedad, los pacientes manifiestan dolor abdominal, pérdida de peso, vómito, anorexia, letargia y depresión (1,7).

En la mayoría de casos el diagnóstico es dado a partir de laparotomía exploratoria, la cual permite tanto la visualización del tumor primario y su metástasis, como la obtención de muestras para el examen histopatológico e inmunohistoquímico (2,3). Los marcadores tumorales son ampliamente utilizados en medicina humana, ayudando al diagnóstico precoz y al seguimiento de pacientes con tumores pancreáticos (4). Algunos marcadores como el antígeno CA 19-9 y mutaciones del gen Kras han estado presentes en más de un 90% de carcinomas pancreáticos y en lesiones metastásicas (4,5,10).

Este trabajo describe un caso de carcinoma pancreático exocrino de rápida evolución en un perro de raza Poodle que requirió confirmación inmunohistoquímica para el diagnóstico final.

DESCRIPCIÓN DEL CASO

Un perro de raza Poodle, macho, de 10 años de edad, fue atendido en una clínica veterinaria privada por presentar orina oscura durante siete días. Durante la anamnesis y evaluación clínica, se evidenció ictericia en piel y mucosas. Se realizaron exámenes sanguíneos como hemograma completo, bioquímica sérica (alanino aminotransferasa - ALT, aspartato aminotransferasa - AST, bilirrubina total, fosfatasa alcalina (ALP), glicemia, urea y creatinina), serología para hemoparásitos (Erliquiosis y Babesiosis), urianálisis y ecografía abdominal.

Se encontraron alteraciones en los niveles de enzimas hepáticas (ALT: 193,2 UI/l, AST: 186,1 UI/l, ALP: 132 UI/l) y bilirrubina (bilirrubina total: 13,9 mg/dl), junto con la visualización de cristales de bilirrubina en la orina. En la ecografía abdominal se observó la vesícula biliar distendida con paredes engrosadas, con presencia de ducto cístico y colédoco dilatado y tortuoso. En el cuerpo del páncreas fue visualizada un área heterogénea de contorno mal definido de 2 x 1,5 cm. Se indica la realización de una laparotomía exploratoria para corroborar la existencia de una masa tumoral. Previo al procedimiento, se realizaron radiografías torácicas con el fin de descartar la posible presencia de metástasis pulmonar.

Fue realizada laparotomía exploratoria encontrándose un nódulo blanquecino en porción medial de páncreas midiendo aproximadamente 1,5 x 1,5 cm con presencia de nódulos en mesenterio de aproximadamente 2 a 4 mm (Figura 1). No fue posible la remoción total del nódulo, por lo que solo se recolectaron muestras de páncreas y mesenterio para posterior estudio histopatológico. En el periodo pos operatorio el paciente permaneció con parámetros estables, sin embargo debido a complicaciones clínicas el animal falleció siete días después de la cirugía. Se realizó posteriormente necropsia del animal.

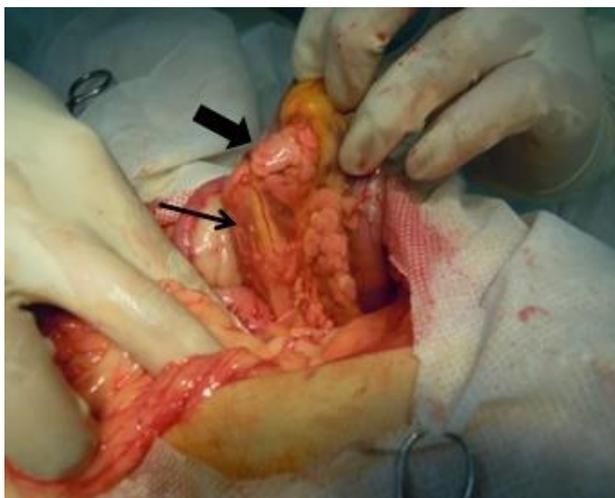


Figura 1. Imagen fotográfica de laparotomía exploratoria, perro. Se observa la presencia de nódulo en páncreas (flecha gruesa) de coloración blanquecina y de nódulos redondeados sobre el omento (flecha delgada).

Durante el procedimiento de necropsia se encontró una masa en páncreas de aproximadamente seis cm de diámetro la cual se extendía por todo el órgano, presentando múltiples nódulos irregulares de consistencia firme (figura 2A). Adicionalmente, se visualizaron puntos de necrosis e ictericia en todo el tejido pancreático (figura 2B). La vesícula biliar se evidenció distendida debido a la obstrucción provocada por la neoplasia. En hígado se encontraron nódulos de apariencia similar a los descritos en mesenterio. Se recolectó tejido de hígado y mesenterio para estudio histopatológico.

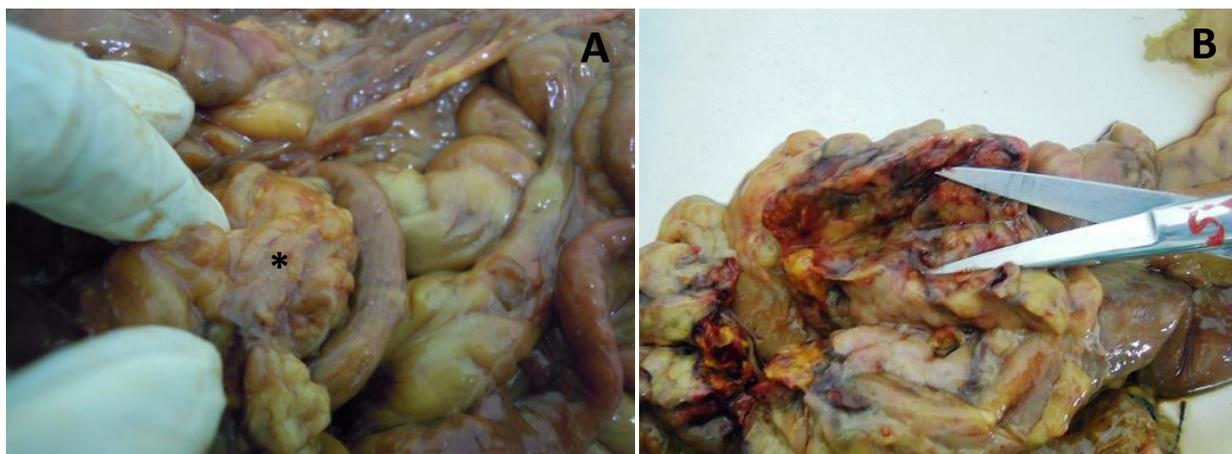


Figura 2. Imagen fotográfica de necropsia. (A) Se evidencia nódulo irregular de aproximadamente seis cm de aspecto friable en tejido pancreático (*). Nótese el exagerado crecimiento con respecto al nódulo de la figura 1. (B) Pieza de la región pancreática extraída del cadáver. Se observa mismo nódulo en páncreas de la figura anterior que al corte longitudinal evidencia áreas necróticas e ictericas en todo el parénquima.

Todos los tejidos obtenidos fueron fijados en formol al 10% y procesados de manera rutinaria por el método de Hematoxilina & Eosina. Al corte histopatológico del páncreas se evidenciaron numerosos acinos pancreáticos poco diferenciados y de aspecto predominantemente sólido con una pequeña área de tejido conjuntivo invadida por nidos y cordones de células epiteliales (Figura 3A). Características celulares similares fueron encontradas en el mesenterio e hígado. Estas células son poliédricas, polimórficas, con citoplasma escaso, ocasionalmente vacuolizado, con elevada relación núcleo: citoplasma, núcleo grande, ovoide, cromatina dispersa y múltiples nucléolos visibles; además de presentar moderada actividad mitótica (1 a 3 figuras de mitosis por campo de gran aumento). Para mejor identificación del origen de esta neoplasia, se realizó examen inmunohistoquímico del tejido pancreático con citoqueratina AE1/AE3, vimentina, insulina, glucagón, somastatina y citoqueratina 19 (CK19).

Los cortes histológicos fueron incubados con el anticuerpo primario contra las proteínas pan-citoqueratina (AE1/AE3, Invitrogen), citoqueratina 19 (Dako cytomation), insulina (Dako Cytomation), glucagon (Abcam), somatostatina (Sigma) y vimentina (V9, Invitrogen) en diluciones de 1:300, 1:100, 1:50, 1:100, 1:100, 1:400 respectivamente durante 18 horas (overnight). Posteriormente los anticuerpos se incubaron con el polímero Envision (Dako, Carpinteria, CA, USA) por 60 minutos. La coloración se obtuvo utilizando 3,3' diaminobenzidine tetrachloride (DakoCytomation, Carpinteria, USA). Finalmente los cortes fueron contrastados usando hematoxilina Harris. El tejido mostró positividad para citoqueratina, ausencia de marcación para insulina, glucagón, somastatina y vimentina; y marcación en más de un 50% de células para CK19 (Figura 3B, 3C y 3D).

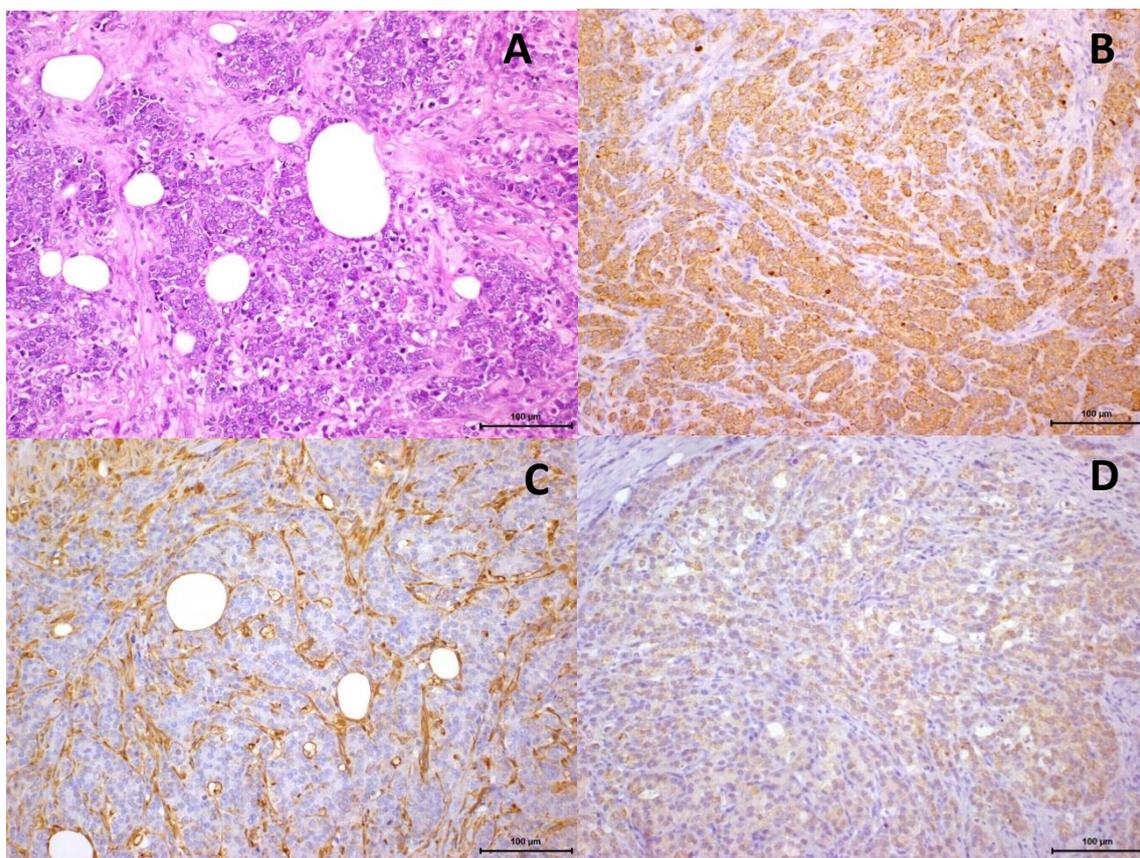


Figura 3. Fotomicrografía de carcinoma de páncreas en perro. Marcación inmunohistoquímica: (A) Carcinoma pancreático exocrino. Nótese los nichos celulares y el aspecto celular en bloque sólido. H&E, 20x. (B) Marcación positiva para AE1/AE3, (C) Ausencia de marcación para Vimentina, (D) Marcación positiva para CK19. Envision, DAB, contra coloración con hematoxilina de Harris, 20x.

El caso aquí descrito trata de un canino de 10 años de la raza Poodle que presentó carcinoma de páncreas exocrino, tumor que según Head et al. (1) afecta animales adultos y de edad avanzada, sin predilección racial ni de sexo.

Para algunos autores (2,3) la presentación clínica de tipo inespecífica dificulta el diagnóstico pudiendo mimetizar signos derivados de pancreatitis. El signo clínico principal descrito en este caso fue ictericia debida a obstrucción de ducto biliar que concuerda con otros reportes (11). El aumento en la actividad de enzimas hepáticas e hiperbilirrubinemia fueron hallazgos relevantes encontrados en este caso; los cuales, son comúnmente observados en casos de obstrucción de ducto biliar y en metástasis hepática (3). Alteraciones hematológicas diferentes como anemia y neutrofilia tienden a ser descritas en algunos animales (2), sin embargo estas alteraciones no se evidenciaron en este paciente.

En el caso relatado, el examen ecográfico fue esencial para el direccionamiento de la conducta clínica, puesto que al examen físico no fue detectado ningún tipo de masa, aumento de volumen o dolor. Para el caso de tumores pancreáticos los métodos de diagnóstico por imagen son ampliamente utilizados ya que como es bien descrito en caninos, muchos tumores pueden no ser palpables en el examen físico (2,3,7).

Muchas veces la sospecha de tumor en páncreas se confirma solo en el momento de la laparotomía exploratoria (3), hecho que ocurrió en el caso descrito, donde adicionalmente a la masa en el cuerpo del páncreas, fueron encontradas metástasis en mesenterio e hígado. La descripción histopatológica es coincidente con lo descrito por Head et al. (1) al referirse a carcinoma pancreático poco diferenciado; quienes además describen características de bordes poco diferenciados y presencia de núcleos amontonados que tienden a ser irregulares y de

variados tamaños, estas últimas características no fueron visualizadas en este estudio histopatológico, sin embargo la ausencia de estos cambios celulares no alteró el diagnóstico.

Algunos autores definen los tumores pancreáticos bien diferenciados cuando las células presentan citoplasma eosinofílico con gránulos de zimógeno, núcleo de tamaño uniforme, con pocas figuras de mitosis y con baja relación núcleo: citoplasma (1,8), lo que no se observó en el tejido evaluado. Dentro de los principales diagnósticos diferenciales que fueron descartados se encontraron los carcinomas de origen endocrino, los cuales se descartaron con técnicas de inmunohistoquímica, de igual forma, el carcinoma de ductos biliares o colangiocarcinoma fue tenido en cuenta por presentar curso agresivo y por alterar enzimas hepáticas y causar signos clínicos parecidos con los descritos en este caso. Sin embargo, histológicamente el colangiocarcinoma es caracterizado por estructuras lineares con células cuboidales y con presencia de estroma difuso y fibroso que separa las estructuras glandulares (12), características que no fueron identificadas en el caso descrito. Adicionalmente, el patrón de metástasis del colangiocarcinoma es hacia pulmones y nódulos linfáticos en hasta un 88% de los casos y no hacia páncreas (13), lo que no explicaría en este caso el tumor pancreático.

El diagnóstico histopatológico fue de carcinoma pancreático indiferenciado con metástasis a mesenterio e hígado, órganos ya descritos como sitios frecuentes de metástasis (1). Existen pocas informaciones disponibles sobre el origen de tumores pancreáticos en perros, sin embargo, Withrow (3) sugiere que gran parte sean de tipo epitelial de células acinares exocrinas.

La positividad para citoqueratina (AE1/AE3) y la ausencia de marcación para vimentina confirmaron el origen epitelial de la neoplasia maligna, lo que concuerda con otros reportes (14). La ausencia de marcación para insulina, glucagón y somatostatina descartó un posible origen de páncreas endocrino, debido a que estos tumores expresan marcación inmunohistoquímica para insulina, glucagón y/o somatostatina (15). La reactividad en más de un 50% de células para CK19 sugiere un origen secretor que es presentado en carcinoma de páncreas exocrino y no en carcinomas endocrinos (16). En humanos, este mismo autor demostró que la marcación para CK19 presenta un valor pronóstico negativo en neoplasia pancreática endocrina, debido a que se cree que CK19 es expresado en células madre de los ductos pancreáticos y no expresa en los islotes. Así, cuando las células endocrinas adquieren positividad para CK19 se piensa que presenta un mayor inmunofenotipo ductal, el cual es conocido por tener un curso más agresivo. En perros esta relación no ha sido estudiada, sin embargo se plantea que CK19 sea tenido en cuenta para los estudios con inmunohistoquímica de neoplasias pancreáticas indiferenciadas, debido tanto a su valor diagnóstico, como fue descrito en este caso, y como pronóstico.

A pesar de que sean muy poco frecuentes, los carcinomas de páncreas exocrino son responsables por una alta tasa de mortalidad en pequeños animales (2,3). De hecho, se observó una rápida evolución clínica de la enfermedad ocasionando la muerte del paciente en pocos días después del procedimiento quirúrgico. Durante la necropsia, tanto el aumento significativo del tumor como la presencia de metástasis hepáticas no observadas anteriormente, refuerzan el comportamiento agresivo del carcinoma de páncreas exocrino en este caso. Y aunque las modalidades de tratamientos disponibles como quimioterapia o radioterapia no sean efectivas para carcinomas de páncreas en perros e incluso en humanos (3), la rápida evolución desfavorable del paciente no permitió instaurar tratamiento antineoplásico.

REFERENCIAS

1. Head KW, Else RW, Dubielzig RR. Tumors of the alimentary tract. In: Meuten DJ. Tumors in domestic animals. 4th ed. Iowa: Iowa State Press; 2002. p.401-81.
2. Sobral AS, Daleck CA, Rodaski S. Neoplasias do sistema digestório. In: Daleck CA, De Nardi AB, Rodaski S. Oncologia em cães e gatos. 1a ed. São Paulo: Roca; 2009. p.317-33.
3. Withrow SJ. Exocrine pancreatic cancer. In: Withrow SJ, Vail DM, Page RL. Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology. 5th ed. Missouri: Saunders Elsevier; 2013. p.401-2.
4. Pascual MH, Herrero EF, Castilho FMJ, Guadarrama GFJ, Pelaéz TP, Botella BF. Epidemiology and diagnosis of the pancreatic cancer. Rev Esp Enferm Dig. 2004;96(10):714-22.
5. Collins MA, Magliano MP. Kras as a key oncogene and therapeutic target in pancreatic cancer. Front Physiol. 2013;4(407):1-20.
6. Linderman MJ, Brodsky EM, De Lorimier LP, Clifford CA, Post GS. Feline exocrine pancreatic carcinoma: a retrospective study of 34 cases. Vet Comp Oncol. 2012;11(3):208-18.
7. Bennett PF, Hahn KA, Toal RL, Legendre AM. Ultrasonographic and cytopathological diagnosis of exocrine pancreatic carcinoma in the dog and cat. J Am Anim Hosp Assoc. 2001;37(5):466-73.
8. Chang SC, Liao JW, Lin YC, Liu CI, Wong ML. Pancreatic acinar cell carcinoma with intracranial metastasis in a dog. J Vet Med Sci. 2007;69(1):91-3.
9. Nobeschi L, Bernardes W, Favero N. Diagnóstico e prevenção do câncer de pâncreas. Ens Cienc. 2012;16(1):167-75.
10. Goggins M. Molecular markers of early pancreatic cancer. J Clin Oncol. 2005;23(20):4524-31.
11. Kierszenbaum AL. Glândulas digestórias. In: Kierszenbaum AL, Tres LL. Histologia e biologia celular. Uma introdução à patologia. 2a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008. p.489-517.
12. Patnaik AK, Hurvitz AI, Lieberman PH, Johnson GF. Canine bile duct carcinoma. Vet Pathol. 1981;18(4):439-44.
13. Liptak JM. Hepatobiliary tumors. In: Withrow SJ, Vail DM, Page RL. Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology. 5th ed. Missouri: Saunders Elsevier; 2013. p.405-12.

14. Desnoyers MM, Haines DM, Searcy GP. Immunohistochemical detection of intermediate filament proteins in formalin fixed normal and neoplastic canine tissues. *Can J Vet Res.* 1990;54(3):360-5.
15. O'Brien TD, Hayden DW, O'Leary TP, Caywood DD, Johnson KH. Canine pancreatic endocrine tumors: immunohistochemical analysis of hormone content and amyloid. *Vet Pathol.* 1987;24(4):308-14.
16. Jain R, Fischer S, Serra S, Chetty R. The use of Cytokeratin 19 (CK19) immunohistochemistry in lesions of the pancreas, gastrointestinal tract, and liver. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2010;18(1):9-15.

Recebido em: 19/04/2015

Aceito em: 31/04/2017

REMAINING UTERINE MESONEPHRIC DUCT CYST IN FEMALE DOG (*CANIS FAMILIARIS*) – FIRST CASE REPORT IN BRAZIL

Ivan F. Charas Santos¹
Maira Duarte Del Poente²
Bruna Brancalion³
Bruna Martins Silva³
Mayara Viana Freire Gomes³
Frederico Matheus Ducatti Gois³
Diana Milanez Avila Dias Maciel³

ABSTRACT

The aim of work was to describe a remaining uterine mesonephric duct cyst in female Pinscher dog, with 8 years old. The main complaint of the owner was no heat at least 18 months. Clinical examination revealed presence of cysts in all teats, confirmed by cytopathologic exam. Haemogram, serum biochemical exams, urinalysis, radiographs of the thorax and abdominal ultrasound were performed and no changes were observed. During the ovaryhysterectomy was observed endometrial hyperplasia and the histopathologic diagnosis was remaining uterine mesonephric duct cyst associated with discrete endometrial hyperplasia. Was concluded that adequate histopathological identification of the uterine mesonephric duct cyst is crucial so do not mistake with neoplasia.

Keywords: urogenital abnormalities, Muller duct, Wolffian duct, cyst, small animals.

CISTO DE DUCTO MESONÉFRICO UTERINO REMANESCENTE EM CADELA (*CANIS FAMILIARIS*) - PRIMEIRO RELATO DE CASO NO BRASIL**RESUMO**

O objetivo do trabalho foi descrever um caso de cisto de ducto mesonéfrico remanescente uterino em cadela da raça Pinscher, 8 anos de idade. A principal queixa do proprietário foi ausência de cio com duração de 18 meses. No exame físico evidenciou-se presença de cistos em todos os tetos, confirmado pelo exame citopatológico. Foi realizado hemograma, exames de bioquímica sérica, urinálise, exame radiográfico do tórax e ultrassom abdominal, e não foram observadas alterações. Durante o procedimento de ovário-histerectomia, foi observada hiperplasia endometrial e o diagnóstico histopatológico foi de cisto de ducto mesonéfrico remanescente uterino associado à hiperplasia endometrial discreta. Concluiu-se que a identificação histopatológica adequada do cisto de ducto mesonéfrico uterino é crucial para que o mesmo não seja confundido com neoplasia.

Palavras-chave: anormalidade urogenital, ducto de Muller, ducto de Wolffian, cisto, pequenos animais.

¹ Universidade Estadual Paulista-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Botucatu, SP. Brasil. Universidade Eduardo Mondlane. Faculdade de Veterinária. Moauto, Moçambique. Contato principal para correspondência.

² Médica Veterinária Autônoma. São Paulo

³ Graduanda em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. UNESP. Botucatu

QUISTE REMANECIENTE DEL DUCTO MESONÉFRICO UTERINO EN PERRA (*CANIS FAMILIARIS*) – PRIMERO RELATO DEL CASO EN BRASIL

RESUMEN

El objetivo del trábalo fue describir un caso de quiste remaneciente del ducto mesonéfrico uterino en perra da raza Pinscher, 8 años de edad. La principal queja del propietario fue ausencia del cio con duración de 18 meses. El examen físico reveló una presencia de quistes en los techos, confirmado por examen citopatológico. Se realizaron hemograma, pruebas bioquímicas sérica, análisis de orina, radiografías de tórax y ecografía abdominal, y no se observaron cambios. Durante ovario histerectomía se observó hiperplasia endometrial y el diagnóstico histopatológico se fue quiste remaneciente del ducto mesonéfrico uterina asociado a la hiperplasia endometrial discreta. Se concluyó que la identificación histopatológico adecuada del ducto mesonéfrico uterina es crucial para que no se confunda con neoplasia.

Palabras clave: anomalías urogenitales, ducto de Muller, ducto de Wolffian, quiste, animales pequeños.

Urinary and genital systems derived from the mesoderm in early of fetal stage in birds and mammals (1). The embryological similarities between the both systems include: pronefric duct appears and disappears at late stages of fetal life, and do not functional in most species; mesonephric duct is functional for short time in the early stages of fetal life, and can develop into permanent organs after fetal life; paramesonephric duct in males - Mullerian duct, and mesonephric duct in females - Wolffian duct, regress and only some portions of them can be seen in organs (2).

During conversion process of urogenital system in primary postnatal functional system, some organs and/or ducts are degenerate and consequently reabsorbed (2). However, they can be completely reabsorbed before or immediately after birth or may remain as vestigial form (2,3). This forms can be replaced by a cystic structure along the urogenital system or retroperitoneal region and/or pelvic cavity (1,3,4).

Remaining uterine mesonephric duct cyst (RUMDC) and secondary manifestations in dogs are lack in literature. Default documented reports over RUMDC in dogs can lead to incorrect diagnosis due to its histopathological similarity to other conditions, as neoplasia. The present work aims to describe the first documented case report about remaining uterine mesonephric duct cyst and secondary manifestations in female Pinscher dog, with 8 years old.

A female Pinscher dog, with 8-year-old, 3 kg, non spayed, was presented to the private practice, São Paulo, Brazil for a check-up. The dog never had puppies and owner reported no heat at last 18 months. No other physiological alterations were reported. Vaccination and deworming were updated. During clinical examination, cysts were observed in teats of both mammary chain (Figure 1) and without vaginal discharge.

The haemogram, serum biochemistry and urinalysis were normal. The abdominal ultrasound and thorax X ray did not showed any alteration. Thus, the teats were submitted to fine needle aspiration cytology. Cytopathologic examination revealed active macrophages, rare neutrophilus and mesenchymal cells, and homogeneous blue material. Cytological evidence of malignancy was not observed. The cytological findings were consistent with cystic lesion without evidence of malignancy.



Figure 1. Female Pinscher dog, 8-year-old, showing cysts in teats of both mammary chain (white arrows) (Ivan Santos).

Therefore, was performed an ovariectomy and identified endometrial hyperplasia and slight presence of purulent material on the right uterine horn. Ovaries and uterus were submitted to histopathological examination with hematoxyline-eosine (HE). Uterus histopathological examination showed endometrial with prismatic and cuboid cells, with acidophilic and eventually vacuolated cytoplasm. Endometrial glands identified tubules with acidophilic material and sometimes dilated and formed small cysts. Cysts were observed in the uterus, delineated by layers of smooth muscle and cuboid cells (Figure 2). There were no alterations regarding the ovaries.

The histopathological findings were consistent with remaining uterine mesonephric duct cyst associated with slight endometrial hyperplasia. Was prescribed enrofloxacin (1 mg/kg PO, SID, 10 days) and carprofen (2.2 mg/kg PO, BID, 5 days). Twenty-four hours after surgery, cystic of teats disappeared and skin sutures were removed 7 days after. Clinical examination, haemogram, serum biochemistry, urinalysis, abdominal ultrasound and thorax X-ray were performed at two different moments after surgery, 10 days and 6 months, respectively, and no changes were observed in any of moments.

The present case reported the remaining uterine mesonephric duct cyst in female dog. Apparently, there are no data in the literature about the RUMDC in dogs and can be the first case documented in Brazil. Several urogenital disorders associated with paramesonephric and mesonephric ducts have been described in humans and other mammals by several authors (1-3,5), but none in dog uterus. Disorders associated with mesonephric duct are commonly diagnosed as neoplasia and may thus had contributed to poor documentation regarding this condition in dogs (4,6-9). On the other hand, the RUMDC is diagnosed accidentally during histopathological examination (6), and may also contribute to lack reports.

In the canine female is common to diagnostic the Gartner ducts or cysts that is originating from mesonephric duct remnants which can affect in fertility and health (10). Are more frequently referred to in bitches and can be persist close to the myometrium and the uterine horns (11,12).

The diagnostic of RUMDC was by histopathological examination, similar with literature (4,6,7). Ovarian cysts in cattle, pigs and rodents, often secrete high quantity of estrogens, which can cause irregular estrous cycles, persistent estrus and infertility (8,9,13).

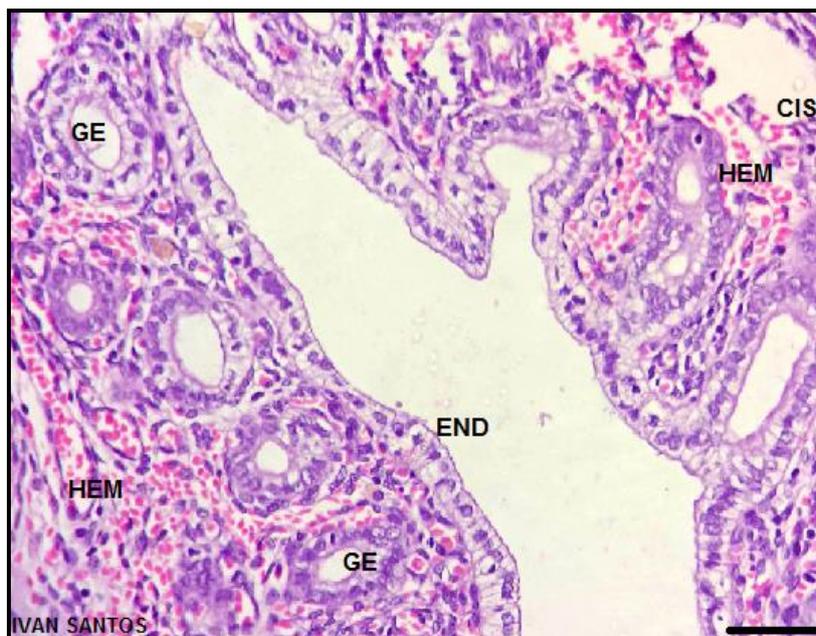


Figure 2. Photomicrography of female Pinscher dog, 8-year-old, diagnosed with remaining uterine mesonephric duct cyst. END – Endometrium with prismatic and cuboid cells, with acidophilic and eventually vacuolated cytoplasm. GE – Endometrial glands. CIS – Cyst with acidophilic material delineated by layers of smooth muscle and cuboid cells. HEM – Hemorrhage. (HE. 40x) [Bar:100 µm] (Ivan Santos).

According to Bartel et al. (10), cases of Gartner cysts originating from mesonephric duct remnant the ectopic endometrium was characterized by immunohistochemistry (oestrogen and progesterone receptors, proliferation activity, cytokeratin, alpha smooth muscle actin, and vimentin) and lectin histochemistry. In this cases, can be observed hypertrophic cells at the serosal (positive reactions to anti-oestrogen receptor and anti-cytokeratin immunohistochemistry) site of the uteri and in all mesonephric remnants, surface and glandular epithelial cells of the ectopic endometrium gave positive immunoreactions for cytokeratin, oestrogen and progesterone receptors (10). On the other hand, muscle actin and vimentin positive can be identified on the stromal cells of the ectopic endometrial (10).

The immunohistochemical characterization of canine mesonephric remnants is slight accessible in Veterinary Medicine, especially in private laboratories, for different reasons, including absence of reagents and pricey. Since histopathological changes were observed in both ovaries, it was supposed that cystic structures located in teats and irregular estrus were secondary manifestations to RUMDC, because the cystic lesions disappeared after ovariectomy. The mesonephric remnants of the mesosalpinx is characterized as a simple tubular structures lined by low columnar to cuboidal cells sometimes featuring cilia with proteinaceous fluid lumina (13).

The correct diagnosis of RUMDC is crucial because can be confused with neoplasia or another similar condition. Cysts on teats and irregular estrus were associated with RUMDC, and ovariectomy is an option to treat this condition in dogs.

REFERENCES

1. Inomata T, Inoue S, Sugawara H, Kajihara H, Shinomiya T, Wagai I, et al. Developmental changes in paramesonephric and mesonephric ducts and the external genitalia in swine fetuses during sexual differentiation. *J Vet Med Sci.* 1993;55:371-8.

2. Weiss JP. Embryogenesis of ureteral anomalies: a unifying theory. *Aust N Z J Surg.* 1988;58:631-8.
3. Lawrence WD, Whitaker D, Sugimura H, Cunha GR, Dickersin GR, Robboy SJ. An ultrastructural study of the developing urogenital tract in early human fetuses. *Am J Obstet Gynecol.* 1992;167:185-93.
4. Ravo B, Metwally N, Pai PB, Ger R. Developmental retroperitoneal cysts of the pelvis, a review. *Dis Colon Rectum.* 1987;30:559-64.
5. Hadlow WJ, Race RE. Common occurrence of urethral cysts in older female ranch mink. *Vet Pathol.* 1981;18:599-607.
6. Ferry JA, Scully RE. Mesonephric remnants, hyperplasia, and neoplasia in the uterine cervix. A study of 49 cases. *Am J Surg Pathol.* 1990;14:1100-11.
7. Gikas PW, Del Buono EA, Epstein JI. Florid hyperplasia of mesonephric remnants involving prostate and periprostatic tissue, possible confusion with adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol.* 1993;17:454-60.
8. Peluso JJ, England-Charlesworth C. Formation of ovarian cysts in aged irregularly cycling rats. *Biol Reprod.* 1981;24:1183-90.
9. Gelberg HB, McEntee K, Heath EH. Feline cystic rete ovarii. *Vet Pathol.* 1984;21:304-7.
10. Bartel C, Berghold P, Walter I. Ectopic endometrial tissue in mesonephric duct remnants in bitches. *Reprod Domest Anim.* 2011;46:950-6.
11. Moifo B, Garel C, Weisgerber G, El Ghoneimi A, Sebag G. Gartner's cyst communicating with the bladder and vagina with associated complete vaginal diaphragm. *J Radiol.* 2005;86:170-2.
12. Schlafer DH, Gifford AT. Cystic endometrial hyperplasia, pseudo-placentational endometrial hyperplasia, and other cystic conditions of the canine and feline uterus. *Theriogenology.* 2008;70:349-58.
13. Gelberg HB, McEntee K. Pathology of the canine and feline uterine tube. *Vet Pathol.* 1986;23:770-5.

Recebido em: 02/02/2015

Aceito em: 30/03/2017

LIPIDOGRAMA, FUNÇÃO HEPÁTICA E PRODUÇÃO DE LEITE EM VACAS SUPLEMENTADAS COM SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA

Daniel Signor¹
Gustavo Dal Piva¹
Lucas Huf¹
Eliana Fiorentin²
Brayan Immich¹
José Francisco Rocha³
Marta Lizandra Leal³
José Francisco Bragança¹
Ricardo Xavier Rocha^{1*}

RESUMO

O uso de bST é uma ferramenta que propicia um aumento considerável na produção diária de leite. Entretanto, esta suplementação pode ter influência na função hepática e no lipidograma. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil lipídico e hepático e também a produção láctea de vacas suplementadas com este hormônio. Para isso, foram utilizadas 10 vacas em produção, 90 dias pós-parto, com média de 30 litros/dia. Realizaram-se cinco aplicações com intervalo de 14 dias entre elas. As coletas de sangue para análise de colesterol, triglicerídeos, AST, GGT e albumina foram feitas nos dias zero, 20, 40 e 60 do experimento. Já a produção de leite foi avaliada em três momentos dentro do período de 70 dias. Não houve diferença entre os grupos em nenhum dos parâmetros avaliados tanto para perfil lipídico e função hepática, entretanto, promoveu uma maior produção de leite no período estudado. Sendo assim, conclui-se que a suplementação de bST não exerce influência negativa sobre o lipidograma de vacas leiteiras em produção, bem como não causa dano hepático durante a suplementação deste hormônio por um período de 70 dias e, também possibilita uma maior produção de leite neste período.

Palavras-chave: colesterol, triglicerídeos, AST, GGT, albumina.

SERUM LIPID PROFILE, HEPATIC FUNCTION AND MILK PRODUCTION IN COWS SUPPLEMENTED WITH BOVINE RECOMBINANT SOMATOTROPIN

ABSTRACT

Milk production has a considerable increase with the use of bST in dairy cows. However, this supplementation may have influence on liver function and serum lipid profile. Thus, the aim of this study was to evaluate the serum lipid profile and liver profile and milk production in cows supplemented with this hormone. For this, were used ten dairy cows, 90 days postpartum, with an average of 30 liters/day. Was performed five applications with an interval of 14 days between them. Blood samples for analysis of cholesterol, triglycerides, AST, GGT and albumin were made on days zero, 20, 40 and 60 of the experiment. The production of milk was evaluated in three times within 70 days. There was no difference between groups in any of the parameters evaluated for both serum lipid profile and liver function, but milk production was increased in control group. Therefore, it is concluded that supplementation of bST does not result negative

¹ Setor de Grandes Animais – UNOESC.

² Laboratório de Patologia Clínica - UNOESC

³ Departamento de Grandes Animais – UFSM

* Contato principal para correspondência: ricardo.rocha@unoesc.edu.br

influence on the serum lipid profile of dairy cows in production, and does not cause liver damage in supplementation for a period of 70 days, and increases milk production in this period.

Keywords: cholesterol, triglycerides, AST, GGT, albumin.

PERFIL DE LÍPIDOS SÉRICOS, FUNCIÓN HEPÁTICA Y PRODUCCIÓN DE LECHE EN VACAS SUPLEMENTADAS CON SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE

RESUMEN

El uso de la bST es una herramienta que proporciona un aumento considerable en la producción de leche diaria. Sin embargo, esta suplementación puede tener influencia en la función hepática y perfil lipídico. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el perfil lipídico y hepático y también la producción de leche de vacas alimentadas con esta hormona. Para este fin, se utilizaron 10 vacas en producción, 90 días después del parto, con un promedio de 30 litros/día. Se realizó cinco veces con un intervalo de 14 días entre ellos. Las muestras de sangre para análisis de colesterol, triglicéridos, AST, GGT y la albúmina se hicieron a cero, 20, 40 y 60 días del experimento. La producción de leche se evaluó en tres veces dentro del periodo de 70 días. No hubo diferencias entre los grupos en cualquiera de los parámetros evaluados para el perfil lipídico y la función del hígado, sin embargo, promueve una mayor producción de leche durante el período estudiado mucho. Por lo tanto, se concluye que la suplementación de la bST no ejerce influencia negativa sobre la producción de lípidos en vacas lecheras, y no causa daños en el hígado durante la suplementación de esta hormona durante un período de 70 días y también permite una mayor producción de leche este período.

Palabras clave: colesterol, triglicéridos, AST, GGT, albumina.

INTRODUÇÃO

O uso de somatotropina (bST) em vacas leiteiras é responsável pelo incremento na produção diária de leite e também da produção total em uma lactação (1). Sandles et al. (2), propuseram que este aumento de produção é resultado do direcionamento de nutrientes, onde uma das ações do bST seria reduzir o uso de glicose por alguns tecidos para a mesma ser utilizada pelo cérebro, placenta e glândula mamária. Este direcionamento para a glândula mamária, principalmente da glicose, está associado à elevação dos níveis séricos do Fator de Crescimento semelhante a Insulina Tipo I (IGF-I) que ocorre após o uso de bST (3). Segundo o que descrevem Hauser et al. (4), a maioria dos receptores para bST na vaca estão no fígado, onde a ligação deste hormônio (bST) com seu receptor resulta na síntese e secreção de IGF-I. No metabolismo de carboidratos, o IGF-I possui um efeito anti insulina pela redução da afinidade da insulina com o seu receptor. Cooke et al. (5) identificaram aumento nos níveis de glicose sanguínea em animais que receberam bST. Estes autores citam ainda a redução da sensibilidade da insulina ao seu receptor como causa desta elevação. Nesse mesmo sentido, Chase et al. (6) encontraram valores aumentados de glicose e insulina em bovinos suplementados com bST. Além do efeito de resistência insulínica, o bST também é responsável, nos ruminantes, por estimular a lipólise (7). A lipólise é responsável pela elevação sérica de ácidos graxos não-esterificados (AGNES), sendo que isto ocorre pela ação inibitória do bST na lipogênese e de estímulo para lipólise. Além disso, a elevação dos níveis séricos de AGNES contribui para o desenvolvimento de resistência insulínica (8). Peel e Bauman (1) definiram que o efeito do bST resulta em um efeito lipolítico crônico independente do balanço energético. O efeito crônico do bST na mobilização dos ácidos graxos (lipólise) pode resultar na formação de

corpos cetônicos (9). Esta formação de corpos cetônicos devido a lipólise contínua pode resultar em infiltração gordurosa no fígado (10) o que pode afetar alguns componentes do sangue, tais como, albumina, glicose e lipídeos (11).

Assim, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar o *status* lipídico, a função hepática e a produção de leite em vacas suplementadas com somatotropina.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em uma granja leiteira localizada no município de Cunha-Porã, região oeste do estado de Santa Catarina. Para o trabalho foram utilizadas 10 (dez) vacas em lactação com produção de leite média diária de 30 litros pertencentes a um rebanho de 70 vacas. Estas apresentavam escore de condição corporal acima de 2,5 (escala de 1 a 5), estando por volta de 90 dias em lactação (DEL90) sendo que as mesmas não apresentaram exposição prévia a somatotropina. Os animais permaneceram durante o período do experimento em regime normal de alimentação, ordenha e rotinas diárias. No dia zero do experimento (DEL90), os animais foram separados em dois grupos, sendo eles: Grupo Somatotropina (GbST, n=5) que receberam cinco aplicações de 500mg de bST com intervalo de 14 dias entre elas, totalizando 70 dias de experimento, encerrando o mesmo quando as vacas atingiram 160 dias de lactação (DEL160). A aplicação do bST foi subcutânea na fossa ísquio-retal com prévia assepsia usando álcool 70%. O Grupo Controle (GC, n=5) recebeu também na fossa ísquio-retal nos mesmos dias do GbST somente solução salina.

A produção de leite foi analisada em três momentos, sendo: Primeiro momento (M1) entre os dias zero e 30 do experimento (DEL90 até DEL120); Segundo momento (M2) entre os dias 31 e 50 do experimento (DEL121 até DEL140) e; Terceiro momento (M3) entre os dias 51 e 70 do experimento (DEL141 até DEL160). As coletas de sangue para mensuração da função hepática e lipidograma foram nos dias zero (DEL90), 20 (DEL110), 40 (DEL130) e 60 (DEL150) do experimento. Para avaliação do lipidograma foi analisado colesterol e triglicerídeos séricos enquanto que para função hepática mensurou-se gama-glutamyl-transferase (GGT), aspartato-amino-transferase (AST) e albumina. A coleta foi realizada por venopunção da veia jugular externa com prévia assepsia (álcool 70%). O sangue foi depositado em tubos de ensaio estéreis e logo após realizada a centrifugação dos mesmos para separação do soro sanguíneo. Após a separação, as amostras foram enviadas ao Laboratório de Patologia Clínica da Faculdade de Medicina Veterinária da UNOESC de Xanxerê - SC. A mensuração de AST, GGT, Albumina, Colesterol, Triglicerídeos foi feita pela utilização de kits específicos para cada análise (Laboratório Analisa - Porto Velho RO), com analisador automático.

A análise estatística foi realizada pela comparação de média entre os grupos usando teste 't' de student com a utilização do pacote estatístico 'GRAPH PAD INSTAT'.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção média diária de leite nos grupos GbST e GC no dia zero do experimento foi de $33,84 \pm 1,91$ e $31,73 \pm 1,94$, respectivamente, não havendo diferença estatística entre os grupos ($P > 0,05$). Após o uso do bST (dia zero), a produção de leite foi maior ($P < 0,05$) no GbST quando comparado ao GC em todos os momentos experimentais (Tabela 1).

Tabela 1. Média \pm desvio padrão da produção média diária de leite em litros (L) no Grupo Controle (GC) e Grupo Somatotropina (GbST) no primeiro momento (M1 - DEL90 até DEL120), no segundo momento (M2 - DEL121 até DEL140) e no terceiro momento (M3 - DEL141 até DEL160) do experimento.

	Produção de leite em litros (L)		
	M1 (DEL90 até DEL120)	M2 (DEL121 até DEL140)	M3 (DEL141 até DEL160)
GC	28,88 \pm 2,48 ^a	26,81 \pm 2,32 ^a	26,58 \pm 2,40 ^a
GbST	34,02 \pm 2,38 ^b	35,51 \pm 2,52 ^b	35,49 \pm 2,22 ^b

^{ab}Letras diferentes nas colunas indicam diferença estatística entre os grupos em cada momento do experimento

Pode-se observar no GbST a manutenção da produção diária de leite quando comparado ao GC que apresentou uma redução na produção diária a partir do dia zero do experimento (DEL90). Bauman et al. (12) citaram que o uso de bST possibilita o direcionamento de nutrientes para a glândula mamária pela ação do IGF-I resultando no aumento da produção diária de leite e também no aumento da produção total de uma lactação (1). Neste trabalho, o período de uso do bST foi de 70 dias a partir dos 90 dias em lactação (DEL90) e houve aumento significativo ($P < 0,05$) na produção de leite. Chilliard (13) e Bauman (14) também verificaram aumento significativo na produção diária de leite em animais que receberam bST independente do uso em períodos curtos ou longos deste hormônio. Os animais pertencentes ao GbST tiveram aumento na produção diária de leite e também da persistência da lactação, o que resulta na maior produção em toda a lactação. Este item também é destacado por Bauman (14), onde o mesmo comenta sobre o aumento da persistência da lactação resultando em uma curva de lactação com um pico de produção mais longo.

Em relação ao lipidograma, avaliando os níveis séricos de colesterol e triglicerídeos, não houve diferença estatística ($P > 0,05$) entre os grupos GbST e GC nos dias zero, 20, 40 e 60 do experimento (Tabela 2). Azza et al. (15), suplementando 500mg de bST em vacas multíparas também não verificaram diferença nestes parâmetros com o grupo controle.

Tabela 2. Média \pm desvio padrão de colesterol sérico (mg/dL) e triglicerídeos séricos (mg/dL) no Grupo Controle (GC) e Grupo Somatotropina (GsBST) nos dias 90 (DEL90), 110 (DEL110), 130 (DEL130) e 150 (DEL150) de lactação.

	Dias em lactação (DEL)			
	DEL90	DEL110	DEL130	DEL150
	Colesterol sérico (mg/dL)			
GC	177,2 \pm 38,6 ^a	187,2 \pm 47,8 ^a	213,8 \pm 45,8 ^a	181,4 \pm 59,1 ^a
GbST	213,2 \pm 30,4 ^a	204 \pm 49,3 ^a	225,2 \pm 57,5 ^a	172,2 \pm 57,9 ^a
	Triglicerídeos séricos (mg/dL)			
GC	15,78 \pm 1,76 ^a	16,08 \pm 3,82 ^a	17,14 \pm 5,08 ^a	20,74 \pm 6,67 ^a
GbST	17,89 \pm 1,94 ^a	17,14 \pm 3,07 ^a	17,14 \pm 3,21 ^a	18,78 \pm 1,79 ^a

^aLetras iguais na coluna dos dias em lactação indicam que não houve diferença estatística entre os grupos nos diferentes parâmetros.

O colesterol tem papel metabólico importante por ser constituinte de membrana e precursor de hormônios esteróides (16). Este lipídeo é sintetizado, na maior parte dos mamíferos, no fígado, no entanto, Engle e Spears (17) destacaram que no caso dos ruminantes, a biossíntese do colesterol é mais importante no intestino delgado e tecido adiposo. De acordo com Murray et al. (18), existem vários fatores responsáveis pela inibição da síntese do colesterol, entre elas, o jejum e/ou a redução de consumo de alimento. Apesar do uso do bST aumentar a lipólise e acentuar o balanço energético negativo (13), Bauman et al. (12) identificaram que o uso deste hormônio resulta em aumento na ingestão de matéria seca e

melhora na eficiência alimentar. Assim, em função do aumento de consumo e o intestino delgado sendo o principal órgão responsável pela biossíntese de colesterol em ruminantes (17) poderia explicar-se os valores deste lipídeo nos grupos controle e bST neste experimento, os quais não apresentaram diferença entre si. Já os triglicerídeos, tem como principal função o armazenamento de energia, sendo este mobilizado em situações de estresse energético. O uso do bST aumenta a lipólise e inibe a lipogênese, o que resultaria em elevação deste metabólito no sangue (19), no entanto, o bST também é responsável pelo aumento no uso de gordura por alguns tecidos, por exemplo, os músculos, mantendo desta forma seus níveis séricos (12).

Outro ponto a ser destacado, é que parte da síntese de colesterol e triglicerídeos é realizada no fígado (21). Como não houve diferença na mensuração destes parâmetros entre o grupo controle e grupo bST, pode-se inferir que o uso deste hormônio não interferiu na função hepática. Para avaliação da função deste órgão, foram avaliadas duas enzimas, aspartato-amino-transferase (AST) e gama-glutamil-transferase (GGT) e uma proteína de síntese hepática, a albumina. Não houve diferença estatística ($P>0,05$) entre os dois grupos (GC e GbST) nestes parâmetros nos dias zero, 20, 40 e 60 do experimento (Tabela 3).

Tabela 3. Média \pm desvio padrão de gama-glutamil transferase - GGT (UI/L), aspartato-amino transferase - AST (UI/L) albumina sérica (g/L) no Grupo Controle (GC) e Grupo Somatotropina (GbST) nos dias 90 (DEL90), 110 (DEL110), 130 (DEL130) e 150 (DEL150) de lactação.

	Dias em lactação (DEL)			
	DEL90	DEL110	DEL130	DEL150
	Gama-glutamil transferase - GGT (UI/L)			
GC	19,8 \pm 4,8 ^a	22,6 \pm 6,1 ^a	22,2 \pm 2,1 ^a	17,4 \pm 7,8 ^a
GbST	17 \pm 1,4 ^a	15 \pm 7,5 ^a	18,5 \pm 7,2 ^a	18,2 \pm 5,2 ^a
	Aspartato-amino transferase - AST (UI/L)			
GC	80,4 \pm 15,2 ^a	71,6 \pm 13,7 ^a	73,2 \pm 16,5 ^a	84 \pm 30,1 ^a
GbST	100,6 \pm 12,1 ^a	93,6 \pm 20,6 ^a	94,6 \pm 14,6 ^a	80,2 \pm 10,9 ^a
	Albumina sérica (g/L)			
GC	32 \pm 2,5 ^a	34 \pm 2,4 ^a	33,8 \pm 2,3 ^a	34,2 \pm 2,2 ^a
GbST	32,6 \pm 3,1 ^a	35,4 \pm 2,8 ^a	34,2 \pm 3,1 ^a	32,6 \pm 2,5 ^a

^aLetras iguais na coluna dos dias em lactação indicam que não houve diferença estatística entre os grupos nos diferentes parâmetros.

Segundo o que descrevem Bobe et al. (10), a mensuração de AST e GGT elevada no soro sanguíneo indica injúria hepática. Já West (11) cita que a AST é mais específica para lesões por infiltração de gordura, o que poderia ocorrer em função do aumento da lipomobilização pela ação do bST. No entanto, a elevação destas enzimas não ocorreu neste trabalho, podendo sugerir que o uso deste hormônio (bST) não causa dano hepático. Segundo Wittwer (21), a redução da albumina sérica pode ocorrer conforme avança a lactação. Isto ocorre pelo aumento na demanda de aminoácidos para síntese láctea. Por outro lado, este mesmo autor cita que em vacas leiteiras de alta produção pode ocorrer também hipoalbuminemia por redução da capacidade hepática de sintetizar esta proteína. Esta perda de função do fígado pode estar associada ao acúmulo de gordura neste órgão (lipidose hepática) devido a quadros de lipólise continua. Neste trabalho, a partir da mensuração de AST e GGT pode-se afirmar que não houve interferência na função hepática de animais que receberam bST (GbST) quando comparados aos animais do grupo controle (GC), já que a análise estatística não mostrou diferença ($P>0,05$) entre estes grupos em nenhum dos momentos experimentais.

CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos, pode-se concluir que a suplementação de bST em vacas leiteiras por um período de 70 dias a partir dos 90 dias de lactação não exerce influência negativa sobre o lipidograma e função hepática.

REFERÊNCIAS

1. Peel CJ, Bauman DE. Somatotropin and lactation. *J Dairy Sci.* 1987;70:474-86.
2. Sandles LD, Sun YX, D'Cruz AG. Responses of lactating ewes to exogenous growth hormone: short and long term effects on productive and utilization of key metabolites. *Aust J Biol Sci.* 1988;41:357-70.
3. Rivera F, Narciso C, Oliveira R, Cerri RL, Correa-Calderón A, Chebel RC, et al. Effect of bovine somatotropin (500mg) administered at ten Day intervals on ovulatory responses, expression of estrus and fertility in dairy cows. *J Dairy Sc.* 2010;93:1500-10.
4. Hauser SD, McGrath MF, Collier RJ, Krivi GG. Cloning and in vivo expression of bovine hormone receptor mRNA. *Mol Cell Endocrinol.* 1990;72:187-200.
5. Cooke RF, Cappellozza BI, Reis MM, Bohnert DW, Vasconcelos JLM. Plasma progesterone concentration in beef heifers receiving exogenous glucose, insuline or bovine somatotropin. *J Anim Sci.* 2012;90:3266-73.
6. Chase Jr CC, Elsasser TH, Spicer LJ, Riley DG, Lucy MC, Hammond AC, et al. Effect of growth hormone administration to mature miniature Brahman cattle with or without insulin on circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and other metabolic hormones and metabolites. *Domest Anim Endocrinol.* 2011;41:1-13.
7. Duquette PF, Scanes CG, Muir LA. Effects of ovine growth hormone and other anterior pituitary hormones on lipolysis of rat and ovine adipose tissue in vitro. *J Anim Sci.* 1985;58:1191-7.
8. Pires JAA, Souza AH, Grummer RR. Induction of hyperlipidemia by intravenous infusion of tallow emulsion causes insulin resistance in Holstein cows. *J Dairy Sci.* 2007;90:2735-44.
9. Prado IN, Nascimento WG, Negrão JA, Rigolon LP, Schiller SS, Sakuno MLD, et al. Somatotrofina bovina recombinante (r-BST) nos aspectos hematológicos e metabólicos do sangue de novilhas (1/2 Nelore x 1/2 Red Angus) emconfinamento. *Rev Bras Zootec.* 2003;32:465-72.
10. Bobe G, Young JW, Beitz DC. Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2004;87:3105-24.
11. West HJ. Effect on liver function of acetonaemia and the fat cow syndrome in cattle. *Res Vet Sci.* 1990;48:221-7.
12. Bauman DE, Everett RW, Weiland WH, Collier RJ. Production responses to bovine somatotropin in northeast dairy herds. *J Dairy Sci.* 1999;82:2564-73.

13. Chilliard Y. Effect of somatotropin growth hormone in lactating ruminants. *Reprod Nutr Dev.* 1988;28:39-59.
14. Bauman DE. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. *J Dairy Sci.* 1992;80:3432-51.
15. Azza H, Khalil AS, El-Hamamsy HT, Ezzo OH. The effect of recombinant bovine somatotropin administration on milk production, some hemato-biochemical parameters and reproductive performance of lactating cows. *Global Vet.* 2010;4:366-73.
16. Borges AM, Torres CAA, Ruas JRM, Carvalho GR, Rocha Junior VR. Concentração plasmática de colesterol total e lipoproteína de alta densidade em novilhas mestiças doadoras de embriões tratadas com somatotropina bovina recombinante. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2001;53:605-10.
17. Engle TE, Spears JW . Performance, carcass characteristics, and lipid metabolism in growing and finishing Simmental steers fed varying concentrations of copper. *J Anim Sci.* 2001;79:2920-5.
18. Murray RK, Granner DL, Mayes PA, Rodwell VW. Harper: bioquímica. 9a ed. São Paulo: Atheneu; 2002.
19. González FHD, Silva SC, Cerón JJ, Campos R. Introdução à bioquímica clínica veterinária. 2a ed. Porto Alegre: UFRGS; 2006.
20. Riegel RE. Radicais livres. In: *Bioquímica.* 3a ed. São Leopoldo: Unisinos; 2002. p. 507-36.
21. Wittwer F, Bohmwald H, Contreras PA, Filoza J. Analisis de los resultados de perfiles metabólicos em rebanos lecheros en Chile. *Arch Med Vet.* 1987;19:35-45.

Recebido em: 14/01/2015

Aceito em: 20/12/2016

ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS DE PELE DE CAMUNDONGOS INOCULADOS COM O VENENO TOTAL DA SERPENTE *Philodryas nattereri*

Rebeca Horn Vasconcelos¹
João Alison de Moraes Silveira²
Glacyane Bezerra de Moraes¹
Joselito de Oliveira Neto¹
Francisco Antonio Felix Xavier Junior¹
Karen Denise da Silva Macambira¹
Natacha Teresa Queiroz Alves²
Roberta da Rocha Braga³
Diva Maria Borges-Nojosa³
Celia Maria de Souza Sampaio⁴
Helena Serra Azul Monteiro²
Janaina Serra Azul Monteiro Evangelista^{1*}

RESUMO

Venenos de serpentes são compostos por substâncias ativas complexas, sendo a maioria delas de natureza proteica, causando diversos efeitos no ser humano e animais domésticos podendo levar ao óbito. *Philodryas nattereri* é uma serpente nativa da região do Ceará, sendo encontrada em todo o estado. Esse estudo teve por objetivo conhecer as alterações morfofisiológicas de pele de camundongos após inoculação com o veneno total desta serpente. Os animais foram distribuídos em dois grupos que receberam concentrações de 40µg/mL e 20 µg/mL respectivamente, inoculados via subcutânea, além de um terceiro grupo que recebeu via intradérmica 40µg/mL do veneno. Os resultados macroscópicos apresentaram a presença de uma crosta na região inoculada, bem como a presença de hemorragia, tal atividade foi confirmada por achado histopatológico. Microscopicamente, todos os grupos experimentais apresentaram infiltrado inflamatório linfoblástico e de polimorfonucleares, hemorragia, edema, e presença de fibrose. O veneno da serpente *Philodryas nattereri* alterou a arquitetura normal do tegumento. Nossos resultados corroboraram em demonstrar tais alterações, uma vez que esta substância tóxica de origem animal, presente na nossa biodiversidade nordestina apresenta poucos dados na literatura, sendo desta forma, uma importante ferramenta para estudos das alterações morfofisiológicas de pele.

Palavras-chave: *Philodryas nattereri*, veneno, pele.

MORPHOLOGICAL ALTERATIONS IN MICE SKINS INOCULATED WITH THE TOTAL SNAKE VENOM OF *Philodryas nattereri*

ABSTRACT

Snake venoms are composed of complex active substances, most of them of protein nature, causing various effects on humans and domestic animals and can lead to death. *Philodryas nattereri* is a native snake Ceara region, found throughout the state. This study aimed to know

¹ Laboratório de Histologia dos efeitos causados pelos venenos de serpentes e plantas – HISTOVESP. Faculdade de Veterinária. Universidade Estadual do Ceará. Fortaleza. Brasil.

² Laboratório de Farmacologia de Venenos, Toxinas e Lectinas- LAFAVET. Faculdade de Medicina. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. Brasil.

³ Núcleo Regional de Ofiologia- NUROF. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. Brasil

⁴ Coordenação de Ciências Biológicas. Centro de Ciências da Saúde. Universidade Estadual do Ceará. Fortaleza. Brasil.

*Contato para correspondência: janainaserrazul@gmail.com

the morphological and physiological changes in mouse skin after inoculation with the total venom this serpente. The animals were divided into two groups that received concentrations of 40µg/mL and 20µg/mL respectively, inoculated subcutaneously, and a third group that received intradermal 40µg/mL of the venom. The macroscopic results showed the presence of a crust in the inoculated area, and the presence of bleeding, this activity was confirmed by histopathological analysis. Microscopically, all experimental groups had lymphoblastic and polymorphonuclear inflammatory infiltration, hemorrhage, edema, and fibrosis. The venom of the snake *Philodryas nattereri* altered the normal integument architecture. Our results corroborate to demonstrate such changes, since this toxic substance of animal origin present in our Northeast biodiversity presents few literature data, thereby being an important tool for the study of morphological and physiological changes in the skin.

Keywords: *Philodryas nattereri*, venom, skin.

LAS ALTERACIONES MORFOLÓGICAS EN LA PIEL DE RATONES CAUSADAS POR EL VENENO DE LA SERPIENTE *Philodryas nattereri*

RESUMEN

Los venenos de serpientes se componen de sustancias activas complejas, la mayoría de ellos de naturaleza proteica, provocando diversos efectos sobre los seres humanos y en los animales domésticos pueden llevar a la muerte. *Philodryas nattereri* es una serpiente nativa de la región de Ceará, que se encuentra en todo el estado. Este estudio tuvo como objetivo conocer los cambios morfológicos y fisiológicos en la piel de ratones después de la inoculación con todo el veneno de esta serpiente. Los animales fueron divididos en dos grupos que recibieron las concentraciones de 40µg/mL y 20µg/mL, respectivamente, por vía subcutánea inoculado, y un tercer grupo recibieron intradérmica 40µg/mL veneno. Los resultados macroscópicos mostraron la presencia de una costra en el área inoculada, y la presencia de sangrado, esta actividad se confirmó por análisis histopatológica. Microscópicamente, todos los grupos experimentales tuvieron infiltración linfoblástica y polimorfonucleares inflamatoria, hemorragia, edema y fibrosis. El veneno de la serpiente *Philodryas nattereri* altera la arquitectura normal del tegumento. Nuestros resultados corroboran para demostrar tales cambios, ya que esta sustancia tóxica de origen animal presente en nuestra biodiversidad Northeast presenta pocos datos de la literatura, siendo por lo tanto una herramienta importante para el estudio de los cambios morfológicos y fisiológicos en la piel.

Palabras clave: *Philodryas nattereri*, veneno, piel.

INTRODUÇÃO

Os acidentes ofídicos constituem um dos maiores problemas de Saúde Pública na América Latina (1), sendo atualmente classificados como doença negligenciada pela OMS (World Health Organization, 2014). Apesar da incidência mundial e de sua gravidade serem desconhecidas, estima-se que ocorra cerca de 2.500.000 casos de envenenamentos por serpentes peçonhentas ao ano, o que resulta em, aproximadamente, 125.000 mortes e inúmeros casos resultam em sequelas graves (2).

Dentre os países latinos, o Brasil ocupa a 1ª colocação em números de casos, justificada pela sua grande extensão territorial (3). Foram registrados 103.422 acidentes ofídicos, com 464 óbitos entre os anos de 2010 a 2013, sendo segundo o Sinan, no ano de 2012, 19.946 casos de acidentes ofídicos em humanos no país (4).

O Brasil possui uma das mais ricas faunas de serpentes do Planeta, sendo conhecidas 366 espécies, pertencentes atualmente a dez famílias: *Anomalepididae* (6 espécies), *Leptotyphlopidae* (14), *Typhlopidae* (6), *Aniliidae* (1), *Tropidophiidae* (1), *Boidae* (12), *Colubridae* (34), *Colubridae* (237), *Elapidae* (27), e *Viperidae* (28). Dessas, 15% (55 espécies) são consideradas peçonhentas e são responsáveis por cerca de 20 mil acidentes ofídicos anualmente no País (5). Apesar disto, levantamentos têm demonstrado que cerca de 20 a 40% dos acidentes ofídicos no Brasil são causados por serpentes colubrídeas (6,7).

As serpentes da família *Colubridae*, gênero *Philodryas* são consideradas não peçonhentas (8). No entanto, alguns casos de envenenamento humano têm sido relatados na literatura (9). A baixa incidência de acidentes causados por *Philodryas* é devido à anatomia dos dentes inoculadores (localizados na região posterior do maxilar), o que dificulta injetar o veneno, além do seu comportamento não agressivo (10).

O veneno produzido pelas serpentes é composto por toxinas. Existe uma grande variedade de estruturas tóxicas decorrente da evolução das espécies. Assim, cada espécie de serpente possui seu veneno com a sua composição química característica, levando a uma variação dos efeitos do mesmo no organismo humano.

A pele é o primeiro órgão que entra em contato com o veneno, uma vez que todo e qualquer acidente ofídico ocorre pela inoculação da peçonha na mesma. Tem a função de proteção (não só dos raios ultravioleta por meio da melanina, como protege contra a perda de água e contra o atrito); colabora na termoregulação do corpo; além de participar do processo de excreção de várias substâncias (11).

A despeito da grande diversidade de serpentes opistóglifas brasileiras é escasso o conhecimento das propriedades bioquímicas e farmacológicas de seus venenos, e considerando a importância dos acidentes ofídicos causados pelas serpentes do gênero *Philodryas*. O objetivo deste trabalho foi de estudar os efeitos biológicos do veneno total da *Philodryas nattereri* (*P. nattereri*) na pele de camundongos. Para este fim, foram observadas as alterações macroscópicas e histológicas provocadas por tal, inoculados via subcutânea em peles de camundongos nas concentrações de 40µg/mL e 20µg/mL e, por via intradérmica na concentração de 40µg/mL.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do Veneno

O veneno total foi extraído e gentilmente cedido pela professora doutora Diva Maria Borges Nojosa e pela médica veterinária Roberta da Rocha Braga do Núcleo Regional de Ofiologia (NUROF) do departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, Brasil. O veneno foi liofilizado e mantido a temperatura de -20°C até o momento de sua utilização, onde foi diluído em solução salina (0,9%, w/v solução de NaCl).

Animais experimentais

Camundongos machos Swiss (20-30g), foram mantidos em alojamento com temperatura controlada, umidade relativa do ar 65,3 % e 12 h claro/escuro, receberam água e comida *ad libitum*. Os animais e os protocolos experimentais utilizados neste estudo estão de acordo com as diretrizes da Comissão de Ética para uso de animais da Universidade Estadual do Ceará – UECE, número de protocolo 2669326/2014.

Protocolo Experimental

Foram utilizados 34 camundongos, pesando aproximadamente 25g, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual do Ceará. Os animais foram distribuídos em dois grupos: inoculados via subcutânea e via intradérmica. O grupo que utilizou a via subcutânea foi dividido em três subgrupos, onde 08 animais receberam a concentração de 40µg/mL (Grupo A); 8 animais receberam 20µg/mL (Grupo B) e 6 animais formam o grupo controle (Grupo C), recebendo solução salina. Aqueles que formam o grupo inoculado via intradérmica foram divididos em dois subgrupos, onde 6 animais receberam a concentração de 40µg/mL (Grupo D) e 6 animais formaram o grupo controle (Grupo E). As concentrações estão de acordo com estudos encontrados na literatura (12).

Antes dos experimentos os animais foram submetidos a jejum alimentar e hídrico de 8 horas. Posteriormente foram anestesiados com xilazina e quetamina por via intraperitoneal (i.p) com a dose de 0,1mL/10g e a analgesia foi feita com 0,1mg/kg de tramadol. Em seguida ocorreu a tricotomia na região do dorso, onde ocorreu a inoculação utilizando agulhas hipodérmicas em seringas de insulina as diferentes concentrações do veneno total.

Após um intervalo de duas horas, 50% dos animais de cada grupo foram eutanasiados por deslocamento cervical, em seguida foram retirados fragmentos de pele de aproximadamente 1,5 cm² da região do dorso com auxílio de *punch*, para verificar a atividade hemorrágica. Os outros animais do grupo foram mantidos vivos, com água e ração a vontade por um período de 72h, quando foram eutanasiados e sua pele retirada para análise da atividade de necrose [adaptado (13)]. Desta forma, sendo os parâmetros avaliados: presença de edema na derme, organização dos tecidos conjuntivos frouxo e denso, neoformação vascular, integridade do epitélio e presença de hemorragia e infiltrado inflamatório. Para eutanásia os animais foram previamente anestesiados e procedeu-se o deslocamento cervical. As carcaças dos animais foram acondicionadas em sacos plásticos específicos para resíduo biológico e congeladas para posterior coleta pela empresa responsável pelo descarte de material biológico da Universidade Estadual do Ceará.

Análise Macroscópica e Microscópica

O local de aplicação do veneno na pele foi fotografado por uma câmera fotográfica da marca Sony®, modelo Cyber Shot 16.1 megapixels, para análise macroscópica. Para análise histológica, os fragmentos da pele foram acondicionados em frascos contendo solução de formol tamponado a 10% por um período de 24 horas. Em seguida esses fragmentos foram lavados em água corrente por uma hora para eliminação de resíduos de formol. Posteriormente os mesmos foram transferidos para o etanol a 70% permanecendo imerso nesta substância por um período de 24 horas, sendo iniciado o processo de desidratação em sucessivas diluições crescentes de etanol. Posteriormente passaram pelo processo de diafanização, parafinização e em seguida foram levados para corte no micrótomo na espessura de 3µm. Procedeu-se a coloração do material por Hematoxilina-Eosina (HE) e, posteriormente novas lâminas receberam a coloração Tricômio de Masson para observação da distribuição de fibras colágenas. As lâminas foram analisadas em microscopia de luz (MOTIC BA310, Moticom 2000).

Análise Estatística

Os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão da média, onde n representa o número de experimentos. Foi considerada diferença estatística significativa os resultados que apresentaram probabilidade de ocorrência da hipótese nula menor que 5% ($p <$

0,05). Os dados histológicos são considerados não-paramétricos e, para tanto, foi utilizado o Teste de Kruskal-Wallis, para análise de significância da diferença entre as médias.

RESULTADOS

Efeito macroscópico da exposição ao veneno de *P.nattereri*

Duas horas após a inoculação do veneno, observou-se a formação de uma crosta, bem como hemorragia nos três grupos inoculados com veneno, sendo mais evidente no grupo que recebeu via subcutânea na concentração de 40 μ g/mL (Figura 1C).

Imediatamente após a eutanásia, a hemorragia foi considerada intensa, observando macroscopicamente a superfície interna da pele (Figura 1B e Figura 1D). Estes resultados se apresentaram em todos os grupos, exceto no controle (Figura 1A).

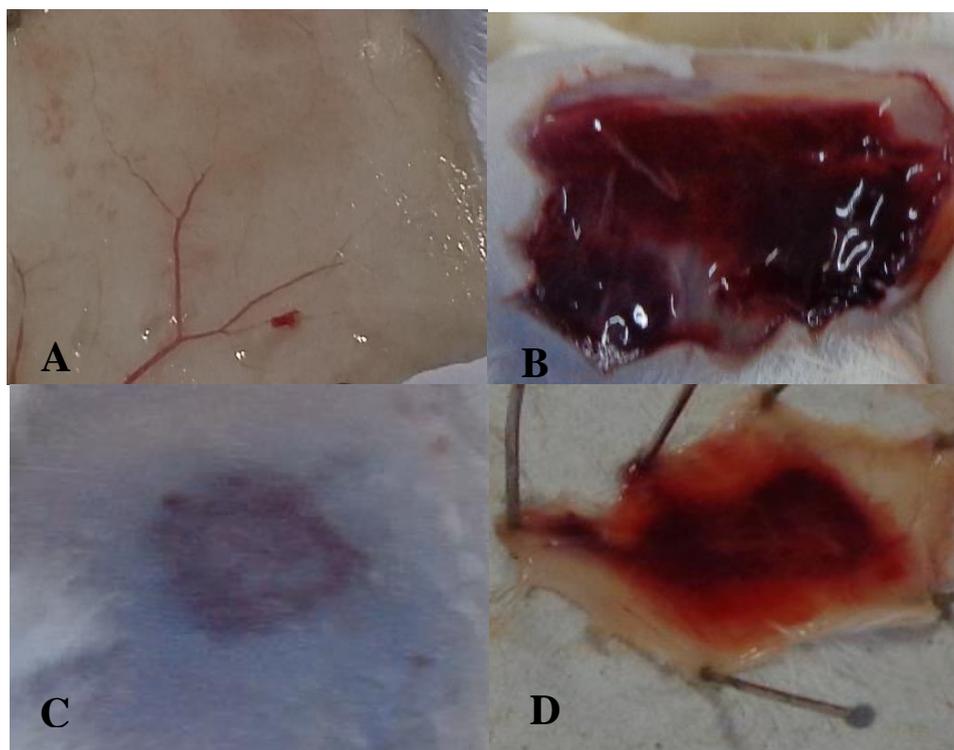


Figura 1. Aspectos macroscópicos de cortes representativos de pele exposta ao veneno total da *Philodryas nattereri* no local da inoculação A – Grupo controle via SC. B – Hemorragia macroscópica no grupo B, concentração de 20 μ g/mL, via SC. C - Grupo A, região do dorso 2h após inoculação de 40 μ g/mL via SC. D - Grupo D, hemorragia macroscópica onde foi inoculado via ID, 40 μ g/mL.

Análise histológica da pele corada por HE inoculada com veneno de *P.nattereri*

O grupo controle mostrou apenas pontos difusos de infiltrado inflamatório linfoblástico e de polimorfonucleares, classificados como discreto (Figura 2A). As alterações histológicas se apresentaram em todos os grupos, em ambas as vias de administração, de maneira crescente e dose dependente, quando comparada ao grupo controle.

Presença de intenso infiltrado inflamatório de linfócitos e plasmócitos, no grupo A que foi eutanasiado com 2 horas. Passou a ser moderada nos animais que foram eutanasiados nas 72 horas após inoculação. No grupo B, as células inflamatórias tiveram uma intensidade moderada nos animais eutanasiados em 72 horas. Aqueles que foram eutanasiados com 2 horas após inoculação apresentaram discreto infiltrado inflamatório difuso. O mesmo ocorreu com o grupo D, com a presença de plasmócitos e mastócitos. Desta forma, todos os grupos que

receberam concentrações de venenos apresentaram uma média moderada para infiltrado inflamatório (Tabela 1).

Hemorragia foi observada macroscopicamente após as 2 primeiras horas de inoculação, sendo confirmada microscopicamente, visto que ela se mostrou intensa em todos os grupos, sendo a grupo A de maior intensidade (Figura 2A) próxima a camada muscular estriada esquelética. Nos animais eutanasiados com 72 horas, a atividade hemorrágica se manteve presente microscopicamente, porém sua intensidade passou a ser leve, e, em cada grupo, observou-se um animal com tal atividade ausente. A média apresentou-se moderada para a hemorragia em todos os grupos, exceto os controles (Tabela 1).

O halo necrótico foi de grau leve e apenas nos animais eutanasiados com 72 horas do grupo A. Nos demais grupos, esta atividade esteve ausente (Tabela 1).

Presença de edema em todos os animais do grupo A, variando em todos os graus, dando uma média intensa. No grupo B, um animal não apresentou edema, porém os outros se apresentaram de forma intensa. Assim como tal, o grupo D também apresentou um animal com ausência de edema, porém nos demais animais do grupo a atividade foi moderada (Tabela 1).

Observou-se em todos os grupos, exceto controle, neovascularização na derme reticular e vasos congestos próximos a musculatura.

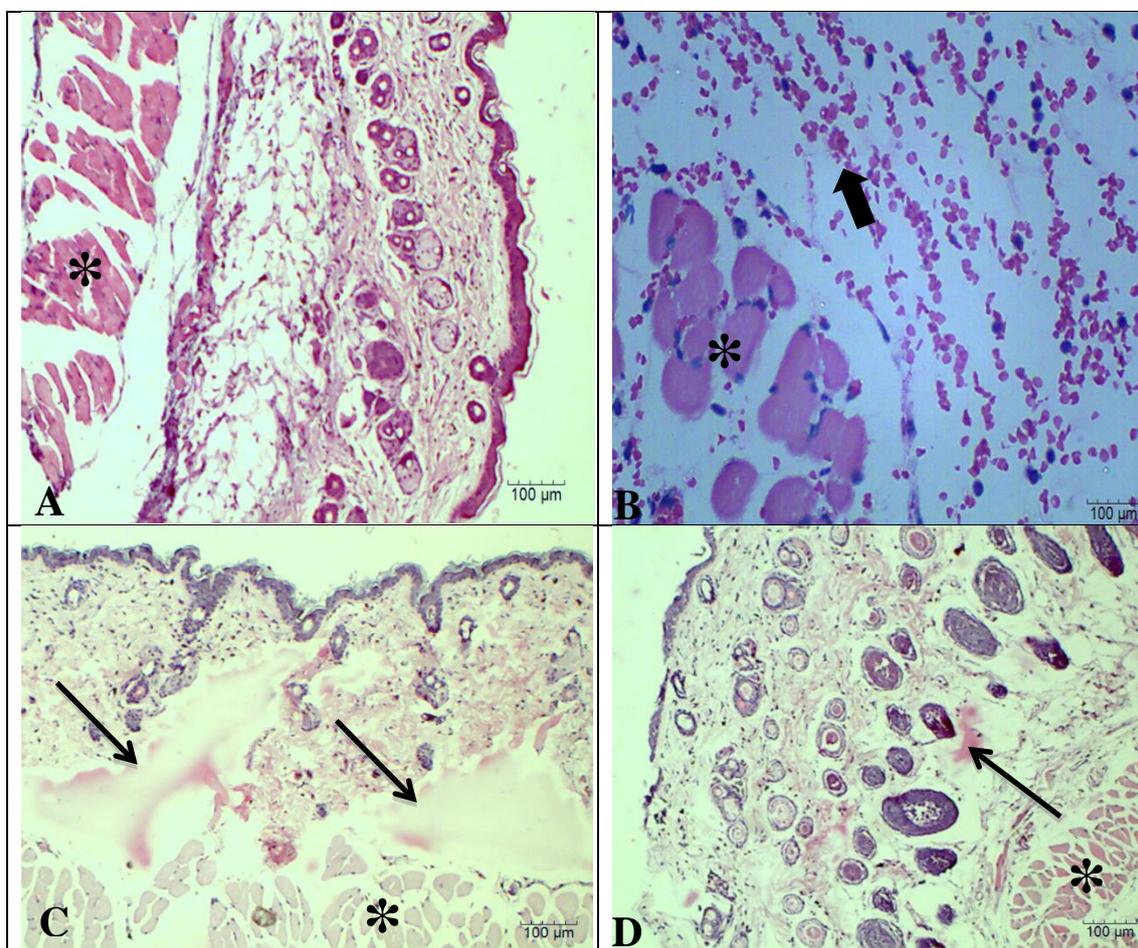


Figura 2. Fotomicrografias de cortes histológicos da região da pele (derme profunda) do dorso de camundongos exposta ao veneno total na concentração de 40 μg via SC da *P. nattereri* (H&E). Em A– Grupo controle, aumento de 100x. B- presença de hemorragia, aumento de 400x. C- Formação de edema, aumento de 200x. D - Presença de edema, descontinuidade de epiderme, acúmulo de fibras colágenas, aumento de 100x. (*) Camada muscular subcutânea (➔) Hemorragia (→) edema. Microscópio Trinocular Motic® BA310 (Motic® 2000 2.0 MP Live Resolution) e software Motic Image Plus 2.0.

Tabela 1. Efeitos citotóxicos do veneno de *Philodryas nattereri* em diferentes concentrações e vias de administração sobre a pele do dorso de camundongos

Grupos experimentais	Infiltrado inflamatório	Hemorragia	Necrose	Edema	Fibrose
GA- 40 µg/mL SC	2	2	1	2	3
GB- 20 µg/mL SC	2	2	0	3	2
GC- Controle SC	1	0	0	0	0
GD- 40 µg/mL ID	2	2	0	2	3
GE- Controle ID	1	0	0	0	0

0-AUSENTE 1-LEVE OU DISCRETA 2- MODERADA 3- INTENSA

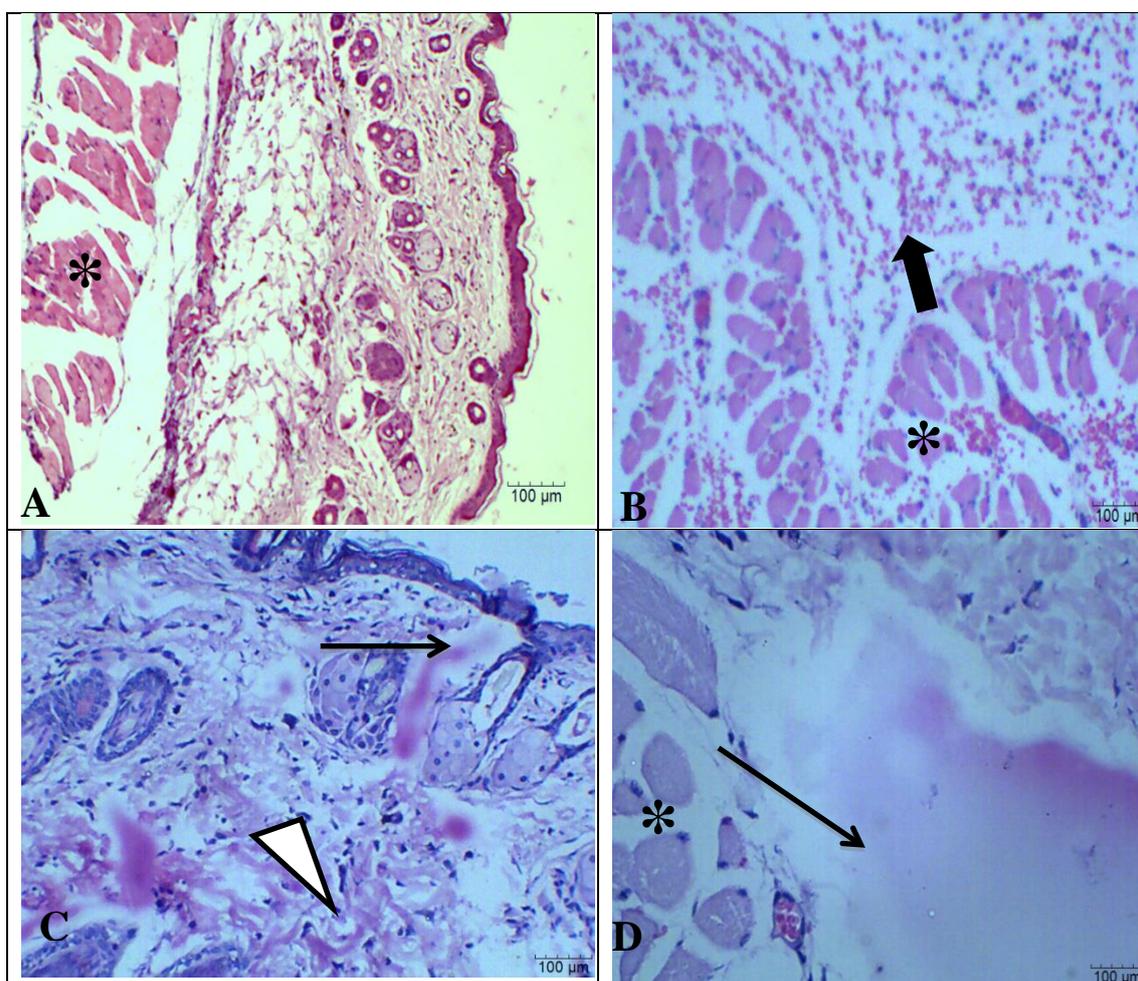


Figura 3. Fotomicrografias de cortes histológicos da região da pele (derme profunda) do dorso de camundongos exposta ao veneno total na concentração de 20 µg via SC da *P. nattereri* (H&E). Em A - Grupo controle (100x). B - presença de hemorragia (200x). C - Acúmulo de fibras colágenas e presença de edema (200x). D - Formação de edema, próximo à musculatura (400x) (*) – Camada muscular subcutânea; (➡) Hemorragia (➡) edema (⚡) acúmulo de fibras colágenas. Microscópio Trinocular Motic® BA310 (Motic® 2000 2.0 MP Live Resolution) e software Motic Image Plus 2.0.

Análise histológica da pele corada por Tricômio de Masson inoculada com veneno de *P.nattereri*

A fibrose apresentou-se de forma intensa em todos os animais do grupo A (Figura 4B e 4D), exceto um animal que apresentou atividade leve. Os animais do grupo B (Figura 4C), que receberam a concentração de 20µg/mL, apresentaram uma média de fibrose variando de leve a intensa, ficando uma média moderada. Para o grupo D, um animal não apresentou tal atividade, porém nos demais animais a fibrose foi mais intensa, justificando, assim, uma média intensa para o grupo (Tabela 1).

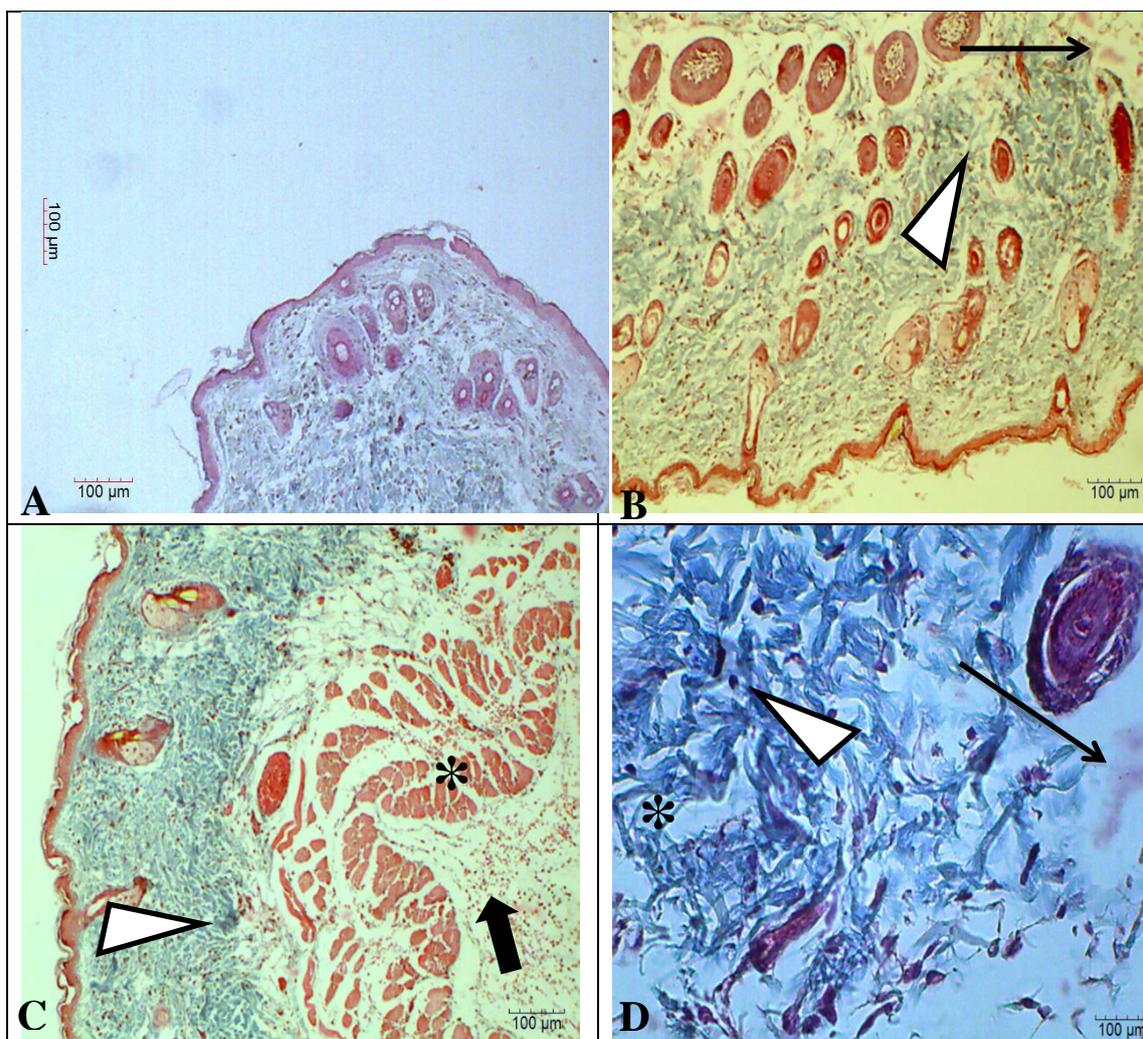


Figura 4. Fotomicrografias de cortes histológicos da região da pele (derme profunda) do dorso de camundongos exposta ao veneno total da *P. nattereri* (Tricômio de Masson). Em A- Grupo controle (100x). B- Acúmulo de fibras colágenas e presença de edema do grupo A, (100x). C - grupo B apresentando hemorragia e fibrose (100x). D-Grupo A com edema e fibrose (400x) (*) - Camada muscular subcutânea; (➡) Hemorragia (➡) edema (▴) acúmulo de fibras colágenas. Microscópio Trinocular Motic® BA310 (Motic® 2000 2.0 MP Live Resolution) e software Motic Image Plus 2.0.

DISCUSSÃO

P.nattereri apresenta os dentes inoculadores localizados na região posterior do maxilar, dificultando desta forma, a inoculação do veneno mais profundamente na vítima (10). Assim, a

importância de se estudar as alterações morfológicas na pele como o órgão que sofrerá o maior dano quando um acidente ofídico ocasionado por esta espécie ocorre.

A literatura é vasta no que se refere ao veneno de serpentes pertencentes principalmente às famílias *Elapidae*, *Crotalidae* e *Viperidae* (12). Porém, os estudos acerca da peçonha das *Philodryas*, ainda são escassos, uma vez que a sua produção ocorre em pequena quantidade (14). Além disto, poucos são os estudos acerca do sistema tegumentar em envenenamentos por serpentes deste gênero. Não foram encontradas referências científicas sobre estudos de lesões em pele após inoculação desse veneno em modelo animal.

Estudos realizados sobre a atividade citotóxica da peçonha da *Philodryas olfersii*, demonstraram induzir várias alterações morfológicas no músculo de ratos (15). Sinais e sintomas locais provocados tanto por *P. patagoniensis*, como pela *P. olfersii*, podem ser confundidos com aqueles encontrados em acidentes botrópico (12). Logo, um conhecimento das características do envenenamento em pele por este tipo de veneno é necessário, para que a vítima receba o soro específico, evitando assim, os efeitos nocivos sobre a sua saúde no uso de um soro inapropriado (16).

Efeito intenso no local da picada, incluindo dor, edema, hemorragia e necrose são características comuns tanto em acidentes por serpentes do gênero *Bothrops* como *Colubridae* (17). É sabido que, se a administração do soro antiofídico for feita de forma rápida, a neutralização dos efeitos sistêmicos é conseguida de forma eficaz (18). Porém, uma neutralização do dano tecidual local é uma tarefa mais difícil e a falta dela resulta em sequelas permanentes com perda e alterações de tecidos (19).

O edema é produzido como uma consequência da lesão vascular e da descontinuidade endotelial, bem como por liberação de substâncias vasoativas, como histamina, prostaglandina, endotelina, óxido nítrico, etc (18,19). Estudos do efeito local de envenenamento com *Bothrops* demonstraram ser complexo, apresentando edema e hemorragia em poucos minutos (18), efeitos semelhantes foram observados no presente trabalho. Macroscopicamente, foi observada a formação de uma crosta nos animais de todos os grupos experimentais.

Na literatura há relatos de que o veneno de *P. patagoniensis* demonstrou ser mais ativo que o da *P. olfersii*, porém ambos apresentaram respostas hiperalgésicas importantes (20). A atividade hemorrágica dos venenos de colubrídeos é atribuída à atuação de metaloproteínases, enzimas proteolíticas com atividade dependente do íon zinco (21,15). Assim como nos viperídeos, as hemorraginas presentes no veneno podem ter um papel semelhante com relação aos processos digestivos das serpentes e a presença de atividade hemorrágica tem sido largamente indicada em várias espécies de colubrídeos (22).

Estudos relatam que venenos de *P. patagoniensis* e *P. olfersii* apresentaram Dose Mínima Hemorrágica (DMH) e 26,9µg/rato e 24,1µg/rato, respectivamente, com a ação mais rápida nos tempos de 2 e 4 horas (20). Também há descrição das alterações promovidas pela ação tóxica do veneno da *P. nattereri* em músculos de camundongos inoculados com doses de 50µg nos tempos de 2h, 4h, 24h e 48h. Em tal trabalho, observou-se hemorragias nas duas primeiras horas. Após 04 horas de inoculação, a hemorragia permaneceu até às 8 horas seguintes (23). Nossos estudos corroboraram com estes resultados anteriores, pois os grupos com concentrações de 20µg/mL e 40µg/mL que foram eutanasiados com duas horas após a inoculação apresentaram atividade hemorrágica moderada.

Após inoculação de 40µg/mL do veneno da *P. patagoniensis* no dorso de camundongos, observou-se macroscopicamente hemorragia ao redor do local da inoculação (12). Em nossos resultados, também foi observada hemorragia de forma macroscópica em todos os grupos experimentais que receberam a peçonha.

Para a atividade necrosante, a Dose Mínima Necrosante DMN foi igual a 180µg/rato em determinado estudo com *P. patagoniensis* (12). Há na literatura outro relato de lesão necrótica com veneno de *P. patagoniensis* e *P. olfersii* nas doses de 50, 60,70,80 e 90µg (20). No presente

estudo, as concentrações utilizadas foram de 20 e 40µg/mL e apenas a de maior dose apresentou necrose de intensidade leve.

Relatos acerca de efeitos biológicos de venenos em peles de animais, envolvendo outras espécies de serpentes, também são descritos, visto a importância da reação da peçonha no tegumento. Em um estudo acerca do efeito necrótico de venenos em pele, observou-se que a crotovina, uma toxina presente no veneno crotálico, em concentrações de 40µg/mL, induziu a formação de extensas áreas de necrose, na camada muscular subcutânea. Bem como tal, nossos estudos apresentaram atividade necrótica em um grupo, também localizada nas regiões mais profundas da derme, caracterizando, assim uma ação de dermonecrose. Tal ação também foi observada em análises histopatológicas em cães envenenados por *Crotalus* (24). Entretanto, no presente estudo, não foi possível observar macroscopicamente, diferentemente de estudos anteriores.

Na literatura é descrito a evolução de edema em pata de ratos inoculados com veneno de *P. nattereri*, onde sua ação se deu de forma rápida, sendo bem pronunciado, atingindo seu efeito máximo nas duas primeiras horas após inoculação nas concentrações de 3 e 10µg/mL (24). A sua regressão foi de forma gradativa até as 24 horas seguintes (24). Este estudo confirma os nossos resultados, no que se refere a uma atividade edematogênica nas duas primeiras horas. Porém, diverge no que diz respeito às horas seguintes, uma vez que o edema foi observado em nossos resultados até 72 horas após inoculação. Isto pode estar ligado à quantidade inoculada, uma vez que nossas concentrações foram de 2 até 4 vezes maior (20 e 40 µg/mL).

Estudos preliminares demonstraram que a atividade edematogênica causada pelo veneno de *Philodryas patagoniensis* foi de 0,26 mg (Dose Mínima de Edema- DME) (12), sendo muito superior àquela causada pelo veneno de espécies de *Bothrops* da Argentina, tais como: *B. jararaca*, *B. jararacussu*, *B. neuwiedii* e *B. alternatu*, que apresentam valores de DME de 0,85; 1,5; 2,05 e 4,00 mg, respectivamente (25).

O processo inflamatório com infiltrado de células como plasmócitos e mastócitos descrito neste trabalho corrobora com estudos anteriores, que descreveram um processo inflamatório moderado, composto por leucócitos polimorfonucleares em pele de ratos inoculados com veneno de *P. patagoniensis* (12). Tal inflamação é sugestiva de ser uma agressão tecidual direta provocada pelo veneno da *P. nattereri*. Isso se deve pela perda da estrutura endotelial e por liberação de substâncias vasoativas (18,19). Em estudos utilizando o mesmo veneno (24), porém em concentrações menores, confirmaram-se os achados no nosso trabalho, pois apresentaram moderado exsudato inflamatório persistindo até 8 horas após inoculação, que passou a ser discreta nas 24 e 48 horas seguintes (24).

Estudos com venenos de serpentes vêm ganhando importância na área morfofisiopatológica, uma vez que são substâncias ricas em proteínas e toxinas. Desta forma, elucidar o mecanismo de ação de uma peçonha em órgãos e seus efeitos biológicos, é o passo inicial para um maior entendimento da composição e fisiopatologia do mesmo. Os acidentes ofídicos ocorrem com a inoculação do veneno na vítima através da pele, sendo este órgão, portanto, o primeiro contato do veneno com o organismo vitimado.

CONCLUSÃO

O veneno de *Philodryas nattereri* provocou alterações histopatológicas significativas nos tecidos da pele, porém este estudo não permitiu esclarecer seu mecanismo exato de ação. Estudos mais específicos sobre o veneno de *Philodryas nattereri* se fazem necessários, a fim de se estabelecer quais os componentes do veneno provocam os efeitos biológicos locais, bem como, quais os fatores desencadeantes causadores de uma inflamação local, ou se há uma ação direta e/ou indireta dos fatores tóxicos do veneno sobre a pele.

Projeto aprovado pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará, sob número 2669326/2014.

REFERÊNCIAS

1. Gutiérrez JM, Lomonte B. Efectos locales en el envenenamiento ofídico en América Latina. In: Cardoso JLC, França FOS, Wen FH, Málaque CMS, Haddad Jr V. Animais peçonhentos do Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes. 1ª ed. São Paulo: Sarvier; 2003. p.310-23.
2. Albuquerque PLMM, Jacinto CN, Junior GBS, Lima JB, Veras MSB, Daher EF. Acute kidney injury caused by *Crotalus* and *Bothrops* snake venom: a review of epidemiology, clinical manifestations and treatment. Rev Inst Med Trop São Paulo. 2013;55(5):295-301.
3. Ministério da Saúde (BR). Portal da Saúde. Acidentes por animais peçonhentos: serpentes [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2014 [cited 2014 Mar 27]. Available from: <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/julho/10/Tabela-07---INCIDENCIA-CASOS---serpente---2000-a-2013---21-05-2014.pdf>.
4. Ministério da Saúde (BR). Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Epidemio [Internet]. Brasília: SINAN; 2012 [cited 2014 Mar 28]. Available from: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/>.
5. Nery MDA. Efeitos biológicos e caracterização inicial da peçonha da serpente *Philodryas nattereri* Steindacher 1870 [tese]. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará; 2012.
6. Santos-Costa MC, Outeiral AB, D'Agostini F, Cappeliari L. Frequência de acidentes ofídicos na região da grande Porto Alegre e cidades próximas, RGS, Brasil. Comun Mus Cienc Tecnol PUCRS, Ser Zool. 2001;14(1):89-93.
7. Salomão MG, Albolea ABP, Almeida-Santos SM. Colubrid snakebite: a public health problem in Brazil. Herpetol Rev. 2003;34(3):307-12.
8. Pinho FMO, Oliveira ES, Faleiros F. Acidente ofídico no estado de Goiás. Rev Assoc Med Bras. 2004;50(1):93-6.
9. Araújo ME, Santos ACMCA. Casos de envenenamento humano causado por *Philodryas olfersii* e *Philodryas patagoniensis* (Serpentes: Colubridae). Rev Soc Bras Med Trop. 1997;30(6).
10. Vitt LJ. Ecological observations on sympatric *Philodryas* (Colubridae) in northeastern Brazil. Pap Avulsos de Zool. 1980;34:87-98.
11. Junqueira LC, Carneiro J. Biologia celular e molecular. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013.
12. Peichoto ME, Acosta O, Leiva L, Teibler P, Maruñak S, Ruíz R. Muscle and skin necrotizing and edema-forming activities of Duvernoy's gland secretion of the xenodontine colubrid snake *Philodryas patagoniensis* from the north-east of Argentina. Toxicon. 2004;44(6):589-96.

13. Esmeraldino LE, Souza AM, Sampaio SV. Evaluation of the effect of aqueous extract of *Croton urucurana Baillon* (Euphorbiaceae) on the hemorrhagic activity induced by the venom of *Bothrops jararaca*, using new techniques to quantify hemorrhagic activity in rat skin. *Phytomedicine*. 2005;12(8):570-6.
14. Assakura MT, Reichl AP, Mandelbaum FR. Isolation and characterization of five fibrin(ogen)olytic enzymes from the venom of *Philodryas olfersii* (green snake). *Toxicon*. 1994;32(7):819-31.
15. Acosta O, Leiva LC, Peichoto ME, Marunak S, Teibler P, Rey L. Hemorrhagic activity of Duvernoy's gland secretion of the xenodontine colubrid *Philodryas patagoniensis* from the north-east region of Argentina. *Toxicon*. 2003;41(8):1007-12.
16. Nishioka AS, Silveira PVP. *Philodryas patagoniensis* bite and local envenoming. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1994;36(3):279-381.
17. Barraviera B, Pereira PCM. Acidentes por serpentes do gênero *Bothrops*. In: Barraviera B. Venenos animais: uma visão integrada. Rio de Janeiro: Publicações Científicas; 1994. p.261-80.
18. Melo MM, Habermehl GG, Castro V, Merfort I. Topic utilization of sesquiterpene lactone from *Milleria quinqueflora* on treatment of bothropic envenomation in rabbits. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2005;57(4):548-52.
19. Wen FH. Ineficácia do antiveneno na reversão do edema e necrose em pacientes picados por serpentes do gênero *Bothrops*. In: Anais do 6o Simpósio da Sociedade Brasileira de Toxinologia; 2000; Águas de São Pedro, SP. Águas de São Pedro: SBTx; 2000. p.78-81.
20. Rocha MMT, Furtado MFD. Análise das atividades biológicas dos venenos de *Philodryas olfersii* (Lichtenstein) e *P. patagoniensis* (Girard) (Serpentes, Colubridae). *Rev Bras Zool*. 2007;24(2):410-8.
21. Mandelbaum FR, Assakura MT, Reichl AP, Serrano SMT. *Philodryas* venom metalloproteinases. In: Barrett AJ, Rawlings ND, Woessner JF. Handbook of proteolytic enzymes. New York: Academic Press; 1998. p.1-2.
22. Rocha MMT, Paixão-Cavalcante D, Tambourgi DV, Furtado MFD. Duvernoy's gland secretion of *Philodryas olfersii* and *Philodryas patagoniensis* (Colubridae): Neutralization of local and systemic effects by commercial bothropic antivenom (*Bothrops* genus). *Toxicon*. 2006;47(1):95-103.
23. Nery MDA, Aquino HD, Ribeiro RTM, Nery EA, Menezes DB, Ximenes RM, et al. Edematogenic and myotoxic activities induced by snake venom of *Philodryas nattereri* from the Northeast of Brazil. *Fundam Toxicol Sci*. 2014;1:7-13.
24. Koscinczuk P, Acosta Pérez O, Teibler P, Maruñak S, Rosciani AS. American rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*) bite accidents in dogs in Argentina. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2000;52:125-9.

25. Acosta Pérez OC, Koscinczuk P, Teibler P, Sánchez Negrette M, Ruíz R, Marunãk S, et al. Actividades hemorrágica y edematizante y alteraciones histológicas en almohadilla plantar del ratón inducidas por venenos de serpientes de los gêneros *Bothrops* y *Crotalus* de Argentina. *Toxicon*. 1998;36(8):1165-72.

Recebido em: 06/06/2015

Aceito em: 20/12/2016

AUSÊNCIA DE *HELICOBACTER* SPP. EM LESÕES GÁSTRICAS DE SUÍNOS PELO MÉTODO WARTHIN-STARRY

Natalia Viana Tamiasso¹
Juliana de Castro Cosme²
Marcus de Freitas Ferreira³
Louisiane de Carvalho Nunes⁴

RESUMO

Ao considerar o impacto das úlceras gástricas na saúde animal, as perdas econômicas que podem ser geradas por elas, a falta de dados sobre a etiologia do processo e a possibilidade de estabelecer ações preventivas, objetivou-se com este estudo verificar lesões gástricas em suínos em idade de abate e relacionar os resultados com infecção por *Helicobacter* spp. Foram analisados estômagos suínos que apresentaram lesões em região de *pars esophagea*. A coleta foi realizada no matadouro frigorífico de Muniz Freire, Espírito Santo, sob Serviço de Inspeção Estadual. Ao verificar a existência de lesões gástricas, o órgão era avaliado e classificado macroscopicamente. Após, quatro fragmentos de cada estômago foram coletados: região de *pars esophagea*; região de corpo; região de fundo e região pilórica. O material obtido foi encaminhado ao Setor de Patologia Animal da Universidade Federal do Espírito Santo, onde foi submetido ao processamento de rotina para inclusão em parafina e microtomia. Para cada bloco de parafina foram confeccionadas duas lâminas, sendo uma corada pelo método Hematoxilina-Eosina e outra corada pelo método Warthin-Starry. As lâminas foram classificadas conforme as lesões microscópicas e avaliadas para presença de bactérias do gênero *Helicobacter*. Após obtenção dos dados, os resultados foram submetidos à análise descritiva. Todos os estômagos apresentavam algum grau de lesão. Apenas um estômago não apresentou lesão na porção glandular. Ao analisar a lesão microscópica de paraqueratose, verificou-se presença dessa alteração na porção aglandular de oito estômagos. Não houve paraqueratose em nenhuma região glandular. Quatro estômagos apresentaram ulceração na microscopia. Todos os estômagos apresentaram algum grau de infiltrado inflamatório mononuclear. Em nenhuma amostra foi possível visualizar bacilos do gênero *Helicobacter*. As principais lesões gástricas observadas em suínos em idade de abate foram paraqueratose, ulcerações e infiltrado inflamatório, sem relação com a infecção por bactérias do gênero *Helicobacter*.

Palavras-chave: etiologia, helicobacteriose, paraqueratose, úlcera gástrica.

ABSENCE OF *HELICOBACTER* SPP. IN GASTRIC LESIONS IN PIGS USING WARTHIN-STARRY STAINING METHOD

ABSTRACT

Considering the impact of the gastric ulcers in animal health, the economic losses created by them, the lack of information about its etiology and the possibility to establish preventive actions, the aim of this study was to verify gastric lesions in pigs at slaughter age and to relate the results with *Helicobacter* spp. infection. The stomachs of pigs with lesions in *pars esophageal* region were analyzed. The collect was performed at an abattoir located in Muniz Freire, Espírito Santo, under State Inspection Service. When noted the presence of gastric

¹ Doutorando em Ciência Animal. Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Brasil.

² Médica Veterinária.

³ Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Espírito Santo.

⁴ Departamento de Medicina Veterinária, Setor de Patologia Animal. Universidade Federal do Espírito Santo.

Correspondência: louisiane@yaho.com.br

lesion, the organ was analyzed and classified macroscopically. After that, four fragments of each stomach were collected: *pars esophageal* region, corpus region, fundic region and pyloric region. This material was sent to the Animal Pathology Department of Federal University of Espírito Santo [Universidade Federal do Espírito Santo] where it underwent routine histological processing for paraffin embedding and microtomy. For each paraffin block two histological slides were made, one was stained using the hematoxylin-eosin (HE) staining method and the other was stained using Warthin-Starry staining method. The histological slides were classified according to microscopic lesions and analyzed for presence of bacteria from the genus *Helicobacter*. After obtaining these information, the results underwent statistical analysis using descriptive research. All the stomachs had some degree of lesion. Only one stomach did not presented lesion in the glandular region. The microscopic analysis of the non-glandular region revealed parakeratosis in eight stomachs. There was no parakeratosis in the glandular region. Four stomachs presented ulceration during microscopic analyses. All stomachs had some degree of mononuclear inflammation. It was not possible to find bacillus of the genus *Helicobacter* in any of the samples. The main gastric lesions observed in pigs at slaughter age were parakeratosis, ulceration and inflammation, and none of them was related to *Helicobacter* spp. infection.

Keywords: etiology, helicobacteriosis, parakeratosis, gastric ulcer.

AUSENCIA DE HELICOBACTER SPP. EN LESIONES GÁSTRICAS EN CERDOS UTILIZANDO EL MÉTODO DE TINCIÓN DE WARTHIN -STARRY

RESUMEN

Al considerar el impacto de las úlceras gástricas en la sanidad animal, las pérdidas económicas que se pueden generar para ellos, la falta de datos sobre la etiología del proceso y la posibilidad de establecer acciones de prevención dirigido a verificar este estudio en las lesiones gástricas en cerdos en edad masacre y se relacionan los resultados con la infección por *Helicobacter* spp. Se analizaron los estómagos de cerdos con lesiones en la región de *pars esophagea*. La recolección de datos se llevó a cabo en el matadero frigorífico Muniz Freire, Espírito Santo, bajo Servicio de Inspección del Estado. Para comprobar si hay lesiones gástricas, el órgano fue evaluado y clasificado macroscópicamente. Después de cuatro fragmentos de cada estómago se recogieron: la región de *pars esophagea*; región del cuerpo; región de fondo y la región pilórica. El material fue enviado a la División de Patología Animal de la Universidad Federal de Espírito Santo [Universidade Federal do Espírito Santo], donde fue sometido al tratamiento de rutina para inclusión en parafina y microtomía. Para cada bloque de parafina se realizaron dos clavijas, una teñidas con hematoxilina-eosina y otra teñida por el método de Warthin-Starry. Los portaobjetos se clasifican como lesiones microscópicas y se evaluaron para la presencia de bacterias *Helicobacter* género. Una vez obtenidos los datos, los resultados fueron sometidos a análisis descriptivo. Todos los estómagos con algún grado de lesión. Sólo un estómago no mostró lesiones porción glandular. Analizar la paraqueratosis lesión microscópica, hubo alteración en la porción aglandular ocho estómagos. No hubo paraqueratosis en cualquier glandular. Cuatro estómagos mostraron microscopía ulceración. Todos los estómagos tenían algún grado de infiltración de células mononucleares. En cualquier muestra puede ver *Helicobacter* género *Bacillus*. Las principales lesiones gástricas observadas en los cerdos a la edad de masacre eran paraqueratosis, ulceraciones y infiltrado inflamatorio, no relacionados con la infección por bacterias del género *Helicobacter*.

Palabras clave: etiología, helicobacteriosis, paraqueratosis, úlcera gástrica.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o quarto país no ranking mundial de produção e exportação de carne suína (1). De acordo com dados publicados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2), o total de cabeças abatidas no primeiro trimestre de 2015 foi 9.170.000 suínos, superando o número de cabeças bovinas, que totalizou 7.732.000 animais. A produção brasileira de carne suína vem mantendo uma taxa de crescimento anual de cerca de 4% e tal produção é capaz de atender o amplamente as necessidades do mercado interno, gerando excedente que é destinado à exportação (1).

Para suprir tamanha demanda, fez-se necessário modernizar e intensificar a criação de suínos ao longo dos anos e isso levou à diminuição da atenção individual aos animais, ao aumento dos problemas sanitários no rebanho e à geração de prejuízos econômicos (3,4). O manejo coletivo e o confinamento, apesar de aumentar o aproveitamento, geram condição favorável para o estabelecimento de doenças, diminuindo o bem-estar animal. Associado a isso, sabe-se que fatores como doenças infecciosas, dietas inadequadas, estresse e úlceras gástricas geram um quadro de emagrecimento e baixo desenvolvimento, contribuindo significativamente para a redução do lucro (4,5).

As úlceras, principalmente as gastroesofágicas, podem gerar queda de produtividade e morte (6). A lesão inicial é caracterizada por paraqueratose, evoluindo e aumentando a intensidade até chegar à ulceração propriamente dita. Em suínos de creche as úlceras são infrequentes, mas as lesões paraqueratóticas são encontradas e, sendo estas pré-ulcerativas, considera-se grande a possibilidade desses animais desenvolverem úlceras na idade de recria e terminação, contribuindo assim para atraso no ganho de peso e prejuízos econômicos (7).

Esse tipo de lesão é de difícil diagnóstico *ante mortem* e tem etiologia multifatorial (8). Jejum prolongado antes do abate (9), manejo dietético (6) e infecção por *Helicobacter pylori* (8) são apontados como possíveis causas base para o desenvolvimento de úlceras. Apesar de amplamente relatada, a úlcera não possui etiologia e fisiopatologia bem esclarecidas (10). Um melhor entendimento sobre a patogênese permitiria avanços na elaboração de estratégias preventivas (6).

Considerando o impacto das úlceras na saúde animal, as perdas econômicas que podem ser geradas por elas, a falta de dados sobre a etiologia do processo e a possibilidade de estabelecer medidas preventivas, o objetivo desse estudo foi verificar lesões gástricas em suínos em idade de abate e relacionar os resultados com infecção por *Helicobacter spp.*

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados estômagos suínos que apresentaram, ao abate, lesões em região de *pars esophagea*, conhecido também como quadrilátero esofágico. A coleta foi realizada no matadouro frigorífico localizado no município de Muniz Freire, Espírito Santo, sob Serviço de Inspeção Estadual. A coleta teve autorização do Instituto de Defesa Agropecuária e Florestal do Espírito Santo (IDAF-ES).

Ao verificar, na linha de abate, a existência de lesões gástricas, o órgão era separado, seccionado pela curvatura maior com auxílio de tesoura e lavado para remoção de conteúdo. As alterações macroscópicas foram classificadas conforme proposto por Yamasaki et al. (10).

Após avaliação macroscópica e identificação das regiões anatômicas, quatro fragmentos de cada estômago foram coletados: 1) região de *pars esophagea*; 2) região de corpo; 3) região de fundo e 4) região pilórica. O material obtido foi acondicionado em frascos contendo formalina 10% e encaminhado para o Laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal do Espírito Santo, onde foi submetido ao processamento de rotina para inclusão em parafina. Em seguida, foram realizados cortes histológicos de três micrômetros de espessura, acondicionados em lâminas de vidro.

Para cada bloco de parafina foram confeccionadas duas lâminas, sendo uma corada pelo método Hematoxilina-Eosina (HE) para avaliação geral das alterações morfológicas e outra corada pelo método Wharthin-Starry para evidenciar bacilos helicoidais do gênero *Helicobacter*.

As lâminas coradas pelo método HE foram analisadas em microscópio óptico com objetiva de 10x, utilizando adaptação do método proposto por Szeredi et al. (11) para classificação das lesões microscópicas, conforme exposto na Tabela 1.

Tabela 1. Critérios para classificação das lesões histológicas de estômagos suínos corados com HE segundo Szeredi et al. (11)

Lesão	Grau	Característica
Paraqueratose	0	Ausente
	1	1 a 10 camadas celulares paraqueratóticas
	2	Mais de 10 camadas paraqueratóticas
Ulceração ou erosão	0	Ausente
	1	1 ou 2 úlceras ou erosões
	2	Mais de 2 úlceras ou erosões
Infiltrado inflamatório	0	Ausente
	1	Infiltrado inflamatório leve
	2	Infiltrado inflamatório moderado
	3	Infiltrado inflamatório severo

As lâminas coradas pelo método Wharthin-Starry foram analisadas em microscópio óptico com objetiva de 100x, para avaliar presença ou ausência de bacilos.

Após obtenção dos dados, os resultados foram submetidos à análise descritiva, com os valores expressos em percentuais.

RESULTADOS

Durante exame macroscópico realizado no matadouro frigorífico, constatou-se que todos os estômagos analisados apresentavam, além de alterações em região de *pars esophagea*, algum grau de lesão na porção glandular (Figura 1). Apenas um estômago não apresentou lesão nesta porção (Tabelas 2 e 3).

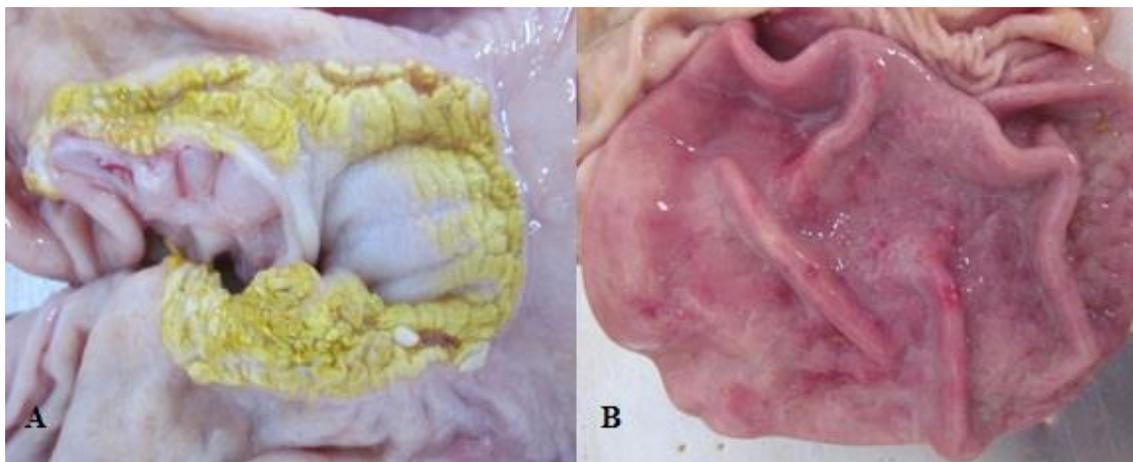


Figura 1. Estômago de suíno em idade de abate. A) Região aglandular evidenciando lesão de paraqueratose e úlceras. B) Região glandular evidenciando áreas de erosão e hiperemia.

Tabela 2. Quantificação dos estômagos suínos de acordo com o grau de lesão macroscópica em região aglandular.

Grau da lesão	Número de amostras de região aglandular
Grau 0 (sem lesão macroscópica)	0
Grau 1 (paraqueratose ou epitélio rugoso)	7
Grau 2 (erosões)	0
Grau 3 (ulcerações)	3

Tabela 3. Quantificação dos estômagos suínos de acordo com o grau de lesão macroscópica em região glandular.

Grau da lesão	Número de amostras de região glandular
Grau 0 (sem lesão macroscópica)	1
Grau 1 (hiperemia ou edema ou hemorragia)	4
Grau 2 (erosões)	3
Grau 3 (ulcerações)	2

Ao analisar a lesão microscópica de paraqueratose, verificou-se presença dessa alteração na região 1 de oito estômagos (8/10), todos classificados como grau 2 (Figura 2). Esta lesão não foi observada apenas nas duas amostras que não apresentavam epitélio devido à ulceração da região 1. Não houve paraqueratose em nenhuma região glandular.

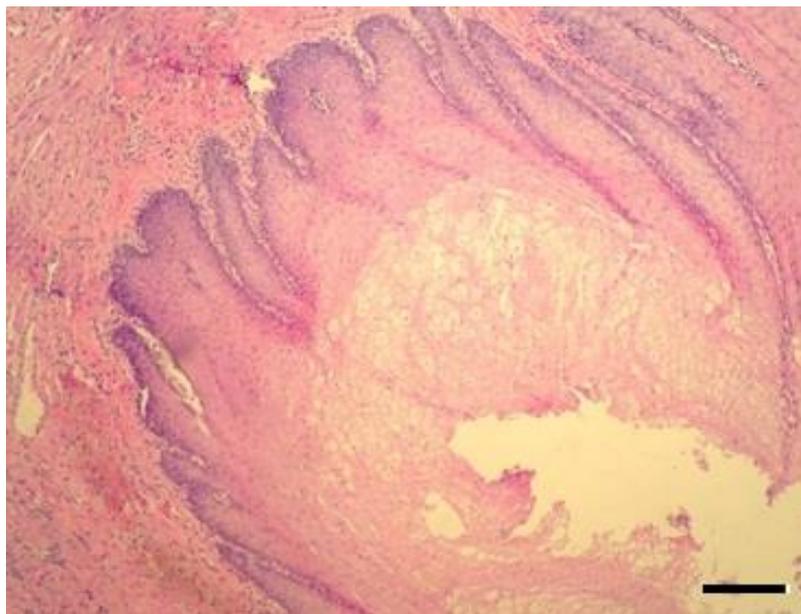


Figura 2. Estômago de suíno em idade de abate evidenciando paraqueratose grau 2. Hematoxilina-Eosina, Barra = 143,5 µm.

Dentre as amostras que apresentaram ulceração na microscopia, em dois casos a lesão encontrava-se na região 1 e em uma das amostras também foi observada concomitantemente na região 2. Ainda foi possível constatar a presença de úlceras exclusivamente em região 2 em dois estômagos avaliados.

Todos os estômagos apresentaram algum grau de infiltrado inflamatório mononuclear, por outro lado, em nenhuma amostra foi possível visualizar estruturas helicoidais que pudessem ser classificadas como pertencentes ao gênero *Helicobacter*.

DISCUSSÃO

O critério utilizado para seleção dos estômagos no presente trabalho foi existência de alguma alteração macroscópica na porção aglandular no momento do abate, independente do grau da lesão. De acordo com Silveira et al. (12), por se tratar de estudo com animais em idade de abate o ideal seria utilizar escala de classificação com quatro graus de escore de lesão, conforme foi realizado, porque em animais dessa faixa etária espera-se maior incidência de lesões graves do que em animais mais jovens, sendo neste último caso preferível uma escala com mais graus.

Apenas um estômago não apresentou lesão macroscópica em região glandular. Interessante notar que, apesar dos vários estudos sobre alterações em região de *pars esophagea*, poucos são os relatos sobre lesões em região glandular (10). Estudo recente indica que essas lesões são bastante frequentes, mas geralmente apresentam-se em baixo grau (12). Tal situação poderia ser a razão pela qual as lesões em região glandular são pouco citadas, pois baixo grau implica em menores prejuízos para a saúde animal e conseqüentemente menor atenção por parte dos profissionais.

Na macroscopia as lesões de grau 1 foram as mais frequentes tanto em região aglandular quanto em região glandular, enquanto que na microscopia houve prevalência de lesões paraqueratóticas grau 2 somente na região aglandular. Conforme elucidado por Bal e Ghoshal (13), a porção aglandular do estômago suíno é a mais suscetível ao estabelecimento de paraqueratose porque possui epitélio estratificado queratinizado que predispõe a essa lesão. Yamasaki et al. (10) também verificaram maior número de amostras classificadas como grau 1, sugerindo que essas lesões pré-ulcerativas predominam nos suínos em idade de abate quando comparadas as lesões mais graves.

Entre os fatores apontados como possíveis causas para o desenvolvimento de paraqueratose encontra-se o jejum pré-abate. Costa et al. (14) determinaram que menos 16 horas de jejum não é suficiente para o suíno apresentar paraqueratose, entretanto, de acordo com Costa et al. (4) jejum de 14 a 23 horas já daria início ao processo. Outros autores sugerem ainda que, quando abatidos no dia seguinte à chegada ao matadouro frigorífico, é possível observar maior ocorrência de úlceras gástricas do que animais abatidos no dia da chegada (15), indicando que jejum e estresse podem atuar juntos agravando o quadro de paraqueratose e levar à progressão para ulceração.

Neste estudo verificou-se que úlceras e paraqueratose aparecem acompanhadas de infiltrado inflamatório, entretanto, a inflamação não apresentou o mesmo grau em todas as regiões analisadas de uma mesma amostra. Existem evidências de que a gastrite microscópica está presente mesmo em animais sem lesão macroscópica (16), e nos suínos a lesão parece ocorrer de forma esporádica sem haver associação com alguma causa aparente (17).

A necropsia é uma das formas mais seguras para diagnóstico da úlcera gastroesofágica por permitir observação direta da lesão (12), mas esforços têm sido empregados para tentar esclarecer os processos patológicos de modo a realizar diagnóstico precoce e estabelecer medidas preventivas ou curativas. Nesse cenário, surgiu a ideia de que a infecção por espécies do gênero *Helicobacter* seja responsável pelo quadro clínico, tendo em vista que esse agente é importante na etiologia de úlceras gástricas em humanos (8).

Até o presente momento não há teste de escolha para o diagnóstico de helicobacteriose em suínos e a sensibilidade do resultado varia de acordo com a metodologia empregada. Neste estudo foi utilizada coloração de Warthin-Starry objetivando-se visualizar bactérias espiraladas pela impregnação com prata. Tal técnica já foi utilizada previamente por outros autores e demonstrou percentual de diagnóstico positivo em aproximadamente metade dos animais avaliados (18,10).

A histopatologia, mesmo quando utilizada coloração de Hematoxilina e Eosina, é apontada como um dos métodos mais utilizados para o diagnóstico de helicobacteriose, apesar

de ser pouco seguro para classificar qual a espécie em questão (19). Hellemans et al. (20) verificaram que a bactéria acomete principalmente as regiões fúndica e pilórica, sendo mais fácil a observação do agente em tais locais. Raramente encontra-se bactéria em região de *pars esophagea*, desta forma, as lesões nesta porção do estômago aparentemente não possuem relação com a presença de *Helicobacter* spp.

No presente estudo não foram observadas bactérias espiraladas características do gênero *Helicobacter*. Dados semelhantes foram descritos por Szeredi et al. (11) e Silveira et al. (12), não tendo sido estabelecida relação entre as lesões em estômagos de suínos e a infecção. Vale ressaltar que Silveira et al. (12) realizaram imuno-histoquímica e dentre todas as amostras positivas apenas um animal foi positivo em todas as porções do estômago avaliadas. Desta forma, pode-se concluir que a distribuição da bactéria não é regular em todas as porções do estômago e o local da coleta influencia diretamente no resultado do teste aplicado.

Estudos recentes sugerem que o agente envolvido na etiologia das úlceras em suínos pertence ao gênero *Helicobacter suis*, e não ao gênero *Helicobacter pylori* como havia sido inicialmente proposto (21,22). Assim, já foi constatado que *Helicobacter suis* tem potencial para gerar lesões gástricas severas, inclusive gastrite (23). Mesmo com tantos estudos sobre o tema, nota-se que faltam dados certos sobre os agentes envolvidos. Este fato, associado ao possível impacto da infecção bacteriana na sanidade dos rebanhos, ao potencial para causar doença no homem e à possibilidade de redução nos lucros, justifica o interesse e os investimentos para continuar investigando o tema.

Observa-se assim que ainda não foi possível confirmar de forma definitiva o papel da bactéria na etiologia das lesões gástricas em suínos, bem como não foi possível excluir definitivamente sua participação no desenvolvimento do processo. Resta a dúvida sobre a qual a agressão que está de fato gerando lesões nesta espécie, abrindo espaço para a elaboração de novas pesquisas sobre o assunto.

CONCLUSÕES

As principais lesões gástricas observadas em suínos em idade de abate foram paraqueratose, ulcerações e infiltrado inflamatório, sem relação com a infecção por bactérias do gênero *Helicobacter*.

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Suínos [Internet]. Brasília: MAPA; 2015 [cited 2015 Jul 25]. Available from: www.agricultura.gov.br/animal/especies/suinos
2. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Abate de animais, produção de leite, couro e ovos [Internet]. Rio de Janeiro: IBGE; 2015 [cited 2015 Jun 25]. Available from: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201501_1.shtm
3. Pôrto RNG, Sobestiansky J, Matos MPC, Meirinhos MLG. Aspectos histopatológicos do sistema urinário de matrizes suínas descartadas. Cienc Anim Bras. 2004;5(2):109-12.
4. Costa OAD, Costa MJRP, Ludke JV, Coldebella A, Kich JD, Peloso JV, et al. Tempo de jejum dos suínos no manejo pré-abate sobre a perda de peso corporal, o peso do conteúdo estomacal e a incidência de úlcera esofágica-gástrica. Cienc Rural. 2008;38(1):199-205.
5. Lippke RT, Kummer R, Marques BMFPP, Mores TJ, Gonçalves MAD, Barcellos DESN. Monitoria sanitária em suinocultura. Acta Sci Vet. 2009;37(1):133-46.

6. Eisemann JH, Argenzio RA. Effects of diet and housing density on growth and stomach morphology in pigs. *J Anim Sci.* 1999;77(10):2709-14.
7. Oliveira SJ, Bernardi RT, Mottin VD, Hepp D, Passos DT. Observação de diferentes graus de lesões em estômagos e úlcera gástrica em leitões de creche. Isolamento de *Arcobacter cryaerophilus*. *Acta Sci Vet.* 2009;37(2):119-23.
8. Kavanagh N. Gastric ulcers in pigs. In *Pract.* 1994;16:209-13.
9. Sant'ana DS, Oliveira MT, Alves LR, Reis SLB, Antunes RC, Carrazza LG, et al. Influência do jejum na incidência de lesão na mucosa esofágica-gástrica, peso de carcaça quente e peso de estômagos em suínos. *Pubvet.* 2011;5(10):1-11.
10. Yamasaki L, Assis FMS, Rosseto VJV, Bracarense APFRL. Lesões gástricas em suínos: ocorrência e relação com o gênero, peso ao abate e presença de *Helicobacter* spp. *Semina Cienc Agrar.* 2006;27(3):463-70.
11. Szeredi L, Palkovics G, Solymosi N, Tekes L, Méhesfalvi J. Study on the role of gastric *Helicobacter* infection in gross pathological and histological lesions of the stomach in finishing pigs. *Acta Vet Hung.* 2005;53(3):371-83.
12. Silveira RL, Cruz ACM, Weber FAGC, Degani VAN, Abílio EJ, Carvalho ECQ. *Helicobacteriose* em leitões: imuno-histoquímica em amostras colhidas por meio de gastroscopia. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2014;66(6):1681-6.
13. Bal HS, Ghoshal NG. Histomorphology of the torus pyloricus of the domestic pig (*Sus scrofa domestica*). *Zentralbl Veterinarmed C.* 1972;1(4):289-98.
14. Costa OAD, Coldebella A, Costa MJRP, Faucitano L, Peloso JV, Ludke JV, et al. Período de descanso dos suínos no frigorífico e seu impacto na perda de peso corporal e em características do estômago. *Cienc Rural.* 2006;36(5):1582-8.
15. Swaby H, Gregory NG. A note on the frequency of gastric ulcers detected during post-mortem examination at a pig abattoir. *Meat Sci.* 2012;90(1):269-71.
16. Mendes EN, Queiroz DMM, Rocha GA, Nogueira AMMF, Carvalho ACT, Lage AP, et al. Histopathological study of porcine gastric mucosa with and without a spiral bacterium ("Gastrospirillum suis"). *J Med Microbiol.* 1991;35(6):345-8.
17. Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. The lower alimentary system. In: Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. *Pathology of domestic animals.* 3a ed. London: Academic Press; 1985. p.42-49.
18. Guerra PR, Trindade AB, Dias V, Cardoso MRI. Espécies do gênero *Helicobacter* de importância em medicina veterinária: revisão de literatura. *Vet Foco.* 2013;10(2):229-43.
19. Baele M, Pasmans F, Flahou B, Chiers K, Ducatelle R, Haesebrouck F. Non-*Helicobacter pylori* helicobacters detected in the stomach of humans comprise several naturally occurring *Helicobacter* species in animals. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2009;55(3):306-13.

20. Hellemans A, Decostere A, Duchateau L, De Bock M, Haesebrouck F, Ducatelle R. Protective immunization against “Candidatus *Helicobacter suis*” with heterologous antigens of *H. pylori* and *H. felis*. *Vaccine*. 2006;24(14):2469-76.
21. Baele M, Decostere A, Vandamme P, Ceelen L, Hellemans A, Mast J, et al. Isolation and characterization of *Helicobacter suis* sp. nov. from pig stomachs. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2008;58(Pt6):1350-8.
22. Vermoote M, Vandekerckhove TTM, Flahou B, Pasmans F, Smet A, De Groote D, et al. Genome sequence of *Helicobacter suis* supports its role in gastric pathology. *Vet Res*. 2011;42(1):51.
23. Flahou B, Haesebrouck F, Pasmans F, D’Herde K, Driessen A, Van Deun K, et al. *Helicobacter suis* causes severe gastric pathology in mouse and Mongolian gerbil models of human gastric disease. *PlosOne*. 2010;5(11):e14083.

Recebido em: 04/08/2016

Aceito em: 30/03/2017

PERFIL DO CONSUMIDOR DE CARNE DE FRANGO NO MUNICÍPIO DE AQUIDAUANA, MS

Elis Regina de Moraes Garcia^{1*}
Rosemary Pereira de Pedro Souza¹
Nanci Cappi¹
Laura Ramos de Ávila¹
William Britez Feliciano¹
Flavia Kleszcz da Cruz¹

RESUMO

Objetivou-se identificar o perfil do consumidor de carne de frango do município de Aquidauana-MS. Foram entrevistados 160 consumidores nos postos de vendas por meio de questionários definidos. Os resultados demonstraram que 59% dos consumidores são mulheres com idade entre 40 e 50 anos, ensino médio completo e renda familiar de dois salários mínimos. Dos entrevistados, 43% possuem hábito de consumir carne de frango pelo menos três vezes por semana. Com relação à preferência, os consumidores optaram em primeiro lugar pela carne bovina (78%) e em segundo pela carne de frango (74%). A maioria dos entrevistados consome a quantidade desejada de carne de frango, sendo que 45% consideram como características importantes no momento da compra à qualidade, seguida da higiene (35%), preço (13%) e origem do produto (7%). Sobre as ações que fariam o consumo aumentar, 52% dos entrevistados aumentariam o consumo mediante a redução do preço da carne de frango; para 30% a redução da gordura é que alavancaria o consumo; 11% aumentariam o consumo diante do aumento do preço de outras carnes e 8% mediante a melhoria da apresentação do produto. Quanto à procedência da carne, a maioria dos entrevistados não soube informar a origem da mesma. E quando indagados 93% dos entrevistados consideraram importante conhecer o sistema de produção dos animais, além de acreditarem que sejam usados hormônios nesse processo.

Palavras-chave: cortes, frequência de consumo, preferência, pontos de vendas.

CONSUMER PROFILE OF CHICKEN MEAT IN THE MUNICIPALITY OF AQUIDAUANA, MS

ABSTRACT

This study aimed to identify the consumer profile of chicken meat in the city of Aquidauana-MS. They were interviewed 160 consumers in the sales offices through questionnaires defined. The results showed that 59% of consumers are women aged between 40 and 50 years, with high education and family income of two minimum salaries. Of the respondents, 43% have a habit of consuming chicken meat at least three times a week. Regarding preferably, consumers chose the first beef (78%) and the second chicken meat (74%). Most respondents consumer the desired amount of chicken meat, and 45% consider as important features when buying quality, followed by hygiene (35%), price (13%) and origin of the product (7%). On the actions that would increase consumption, 52% of respondents would increase consumption by reducing the price of chicken meat; to 30% fat reduction is that the consumer would leverage; 11% increase consumption by the increase in the price of other meats and 8% by improving the presentation

¹ Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS)

*. Contato principal para correspondência: ermgarcia@uems.br

of the product. The merits of the flesh, most respondents could not say the source of it. And when asked 93% of respondents considered it important to know the animal production system, and believe that hormones are used in this process.

Keywords: cuts, frequency of consumption, preference, points of sales.

PERFIL DEL CONSUMIDOR DE CARNE DE POLLO EN LA CIUDAD DE AQUIDAUANA, MS

RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo identificar el perfil de los consumidores de carne de pollo en la ciudad de Aquidauana-MS. Se entrevistó a 160 consumidores en las oficinas de venta a través de cuestionarios definidos. Los resultados mostraron que el 59% de los consumidores son mujeres con edades comprendidas entre los 40 y los 50 años, con formación superior y el ingreso familiar de dos salarios mínimos. De los encuestados, el 43% tienen un hábito de consumir carne de pollo por lo menos tres veces a la semana. En cuanto preferiblemente, los consumidores eligieron la primera carne de vacuno (78%) y la segunda carne de pollo (74%). La mayoría de los encuestados consumen la cantidad deseada de la carne de pollo, y el 45% consideran como características importantes en la compra de calidad, seguido de higiene (35%), el precio (13%) y el origen del producto (7%). En las medidas que aumentarían el consumo, el 52% de los encuestados que aumentaría el consumo mediante la reducción del precio de la carne de pollo; al 30% la reducción de grasa es que el consumidor pueda aprovechar; 11% de aumento del consumo del aumento en el precio de otras carnes y 8% en la mejora de la presentación del producto. Los méritos de la carne, la mayoría de los encuestados no podían decir la fuente de la misma. Y cuando se le preguntó el 93% de los encuestados considera que es importante conocer el sistema de producción animal, y creen que las hormonas se utilizan en este proceso.

Palabras clave: cortes, frecuencia de consumo, puntos de venta de preferencia.

INTRODUÇÃO

Dentro do complexo carne, a avicultura vem se mostrando uma das atividades mais dinâmicas e isso só foi possível devido aos avanços ocorridos nos diferentes segmentos que a compõem. A produção brasileira de aves cresceu muito nos últimos anos, contribuindo para as exportações do agronegócio e para a estabilização econômica, o que proporcionou maior consumo de carne de frango pela população.

Com o aumento do consumo da carne de frango, as preocupações dos consumidores quanto à qualidade do produto, a saúde e a segurança alimentar também cresceram (1). Os consumidores passaram a buscar um alimento benéfico à saúde, livre de perigos microbiológicos, químicos e físicos, porém, com preços acessíveis (2).

Perante essas mudanças tornou-se importante saber se o consumidor está satisfeito com a carne de frango que compra e consome, principalmente, em relação ao preço e a qualidade para assim atuar na gestão das empresas e componentes da cadeia produtiva, uma vez que os hábitos de compra possuem características culturais e regionais distintas, conforme o produto e o tipo de consumidor.

Compreender o comportamento do consumidor permite a obtenção de informações importantes para o desenvolvimento de novos produtos, para a realização de inovações, para auxílio em decisões sobre política de preços, bem como para identificar alternativas mais interessantes em termos de canais de distribuição e publicidade (3).

Quando se deseja estudar um mercado, deve-se primeiramente conhecer e analisar os seus

consumidores, pois são eles que adquirem os produtos e serviços da empresa. Identificar o comportamento do consumidor possibilita à empresa a adoção da melhor estratégia de marketing, uma vez que a satisfação do cliente está em primeiro lugar (3).

Entre as regiões brasileiras, os Estados de Mato Grosso do Sul e Goiás possuem um dos maiores rebanhos de bovinos, o que justifica o maior consumo da carne bovina nestas regiões (4). No entanto, há certa rivalidade entre o consumo de carne bovina e de frango, estabelecendo forte substituíbilidade entre ambas (5).

Neste contexto, o presente estudo foi realizado com o objetivo de identificar o perfil do consumidor de carne de frango do município de Aquidauana-MS.

MATERIAL E MÉTODOS

O suporte teórico que sustenta o método de pesquisa utilizado foi baseado na teoria do consumidor com os pressupostos neoclássicos da concorrência perfeita. Mais especificamente, utilizou-se o conceito de Demanda (ou Procura) do consumidor e as variáveis que a afeta, conforme Williamson (6).

O estudo foi realizado no município de Aquidauana-MS, no período de novembro de 2012 a abril de 2013. O município se localiza na região Noroeste do Estado de Mato Grosso do Sul a 130 km da capital, Campo Grande. De acordo com o Censo Demográfico de 2010 (7), o município possui 45.430 habitantes.

O diagnóstico foi realizado por meio de entrevistas com consumidores diretamente nos postos de venda, com utilização de questionários previamente definidos. Foram selecionados todos os estabelecimentos de maior movimento que comercializam carne de frango no município.

Para calcular o número de pessoas entrevistadas utilizou-se o método de amostragem de acordo com Pinheiro e Lírio (8), em que a equação possui nível de confiança de 99% e tolerância de erro amostral de 1%. Equação: $n = (Z^2 \cdot p \cdot q \cdot N) / [d^2 \cdot (N-1) + Z^2 \cdot p \cdot q]$, em que N representa o tamanho da população; Z é a abscissa da curva normal padrão (2,576); p é a estimativa da verdadeira proporção de um dos níveis da variável escolhida (no caso, $p = q = 0,5$) e d é o erro amostral admitido.

As variáveis investigadas foram: gênero, idade, nível de formação, renda, local das refeições, hábitos, frequência de consumo, fatores que podem levar ao aumento do consumo, conhecimento sobre origem, processo produtivo e utilização de hormônios.

Com o objetivo de garantir a representatividade da amostra foi planejada a aplicação dos questionários para se obter uma distribuição homogênea da população (baseada nos consumidores responsáveis pela compra de alimentos) quanto aos parâmetros de classe social, gênero, idade e locais das entrevistas.

Com o objetivo de ajustar os questionários foi aplicado um pré-teste em 10% da população que foi entrevistada, para que pudessem ser corrigidos eventuais erros de formulação, obtendo assim uma resposta efetiva para as variáveis investigadas.

Durante a aplicação do questionário, evitou-se induzir as respostas, sendo as perguntas diretas e concisas. O entrevistado não tinha acesso visual às alternativas e os entrevistadores foram previamente treinados para marcar a alternativa que mais se adequava à resposta.

A análise estatística dos dados coletados constou de estatística descritiva mediante determinação das frequências percentuais observadas das categorias das variáveis.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 160 entrevistados no estudo, 59% eram do sexo feminino e 41% do masculino, na faixa etária de 40-50 anos de idade, com ensino médio completo e renda familiar próxima a dois salários mínimos. Esse maior percentual de pessoas do sexo feminino se explica, provavelmente, pelo fato de ainda hoje terem mais mulheres do que homens fazendo compras para casa.

No que se refere ao hábito e a frequência de consumo de carne (Figura 1), observou-se que apenas 6% dos entrevistados não consomem carne de frango; 43% consomem esse produto em média três vezes por semana; 31% duas vezes; 14% uma vez na semana; 5% uma vez quinzenalmente; e 3% dos entrevistados não souberam dizer a frequência de consumo.

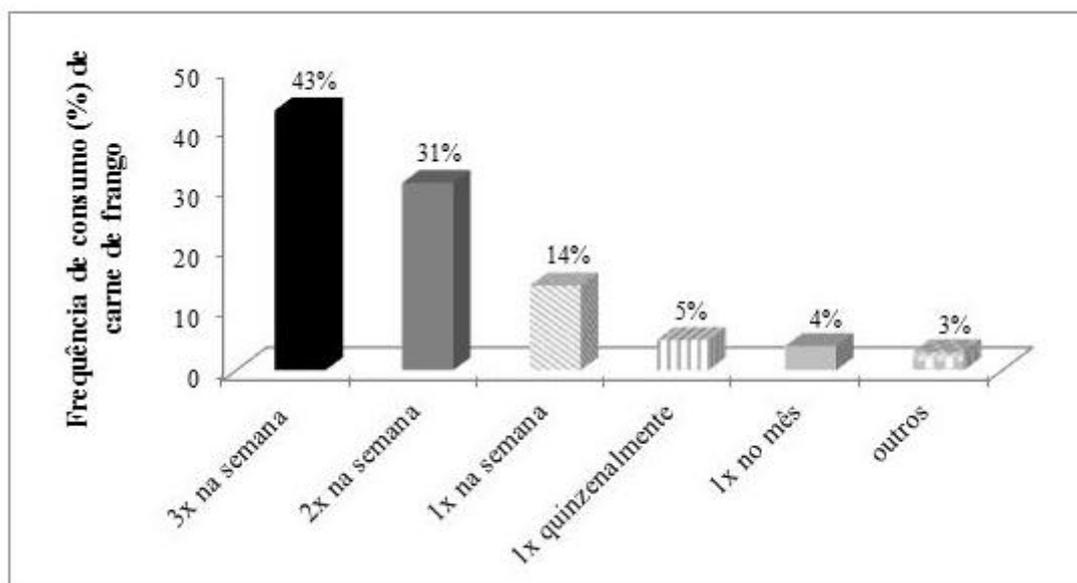


Figura 1. Frequência de consumo de carne de frango dos consumidores do município de Aquidauana-MS.

Quanto à preferência dos consumidores, a maioria optou em primeiro lugar pela carne bovina, seguida da carne de frango. Como segunda opção, os consumidores entrevistados demonstraram preferência pela carne de frango, seguida da carne bovina (Figura 2). Essa ordem é semelhante ao citado por Francisco et al. (9), que observaram que os consumidores da cidade de Porto Alegre optaram em primeiro lugar pela carne bovina, seguido da carne de frango, de peixe e de suínos.

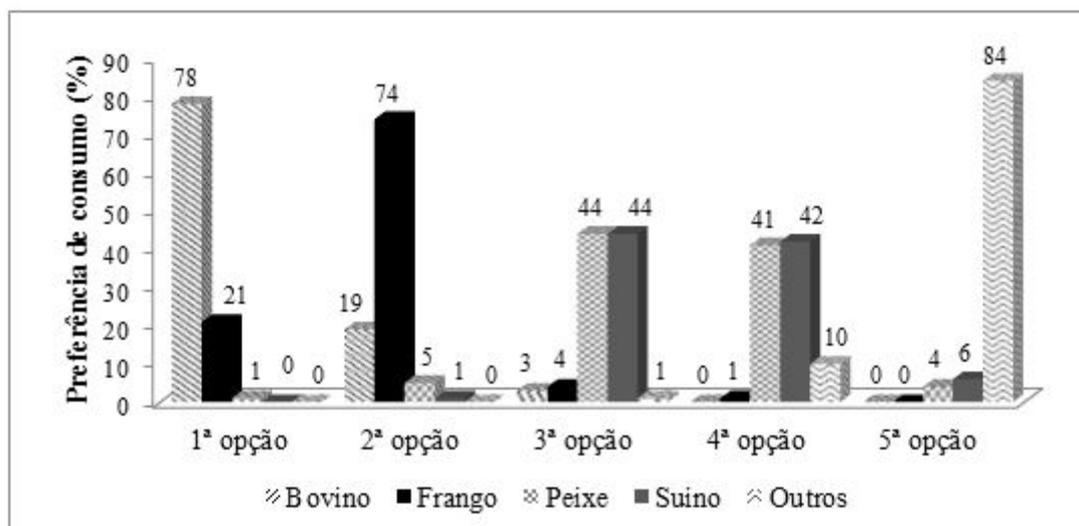


Figura 2. Preferência de consumo quanto ao tipo de carne (bovina, frango, peixe suína e outros) dos consumidores no município de Aquidauana-MS.

O fato do município de Aquidauana estar localizado em um polo regional de produção de carne bovina poderia explicar a preferência dos consumidores por este produto, uma vez que há facilidade de aquisição do mesmo, além dos hábitos culturais ligados a essa preferência, como por exemplo, a ideia de status social que o consumo de carne bovina proporciona.

A partir da análise da Figura 3 observou-se a maior preferência dos consumidores pelos cortes de frango, seguida do frango inteiro e apenas uma pequena parcela escolheu os empanados. Corroborando com esses resultados, Francisco et al. (9), ao realizarem um estudo sobre o perfil do consumidor de carne de frango em Porto Alegre, também obtiveram maior preferência pelos cortes de frango. Segundo os autores, este resultado está relacionado com as mudanças sociais como o trabalho feminino fora do lar, diminuição do número de pessoas por residência e a praticidade de preparo que o produto oferece.

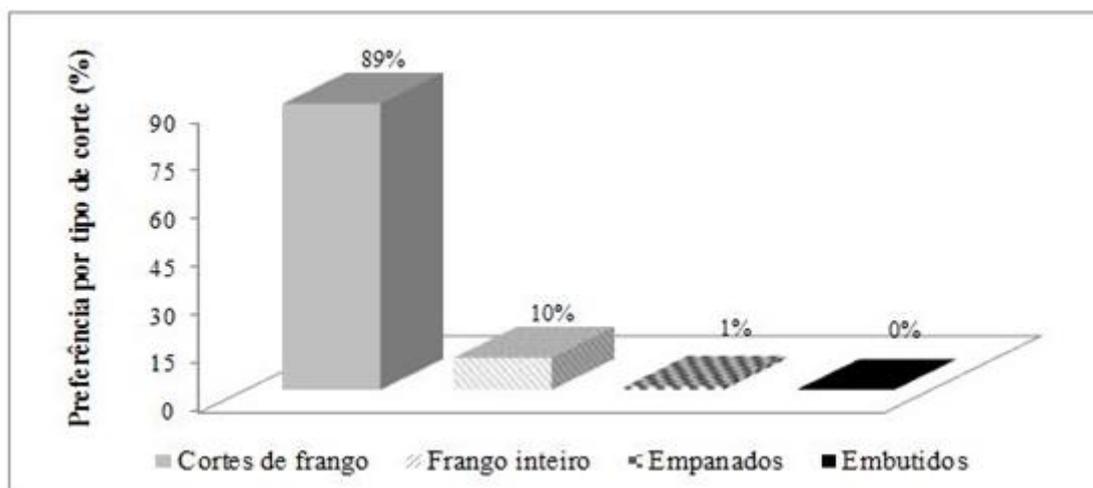


Figura 3. Preferência do consumidor em relação aos cortes de frango comercializados no município de Aquidauana-MS.

Considerando o local onde as refeições são preparadas, 85% dos entrevistados relataram que em suas próprias residências, 12% compram suas refeições já prontas e 3% às preparam em outros lugares. Por outro lado, 88% dos entrevistados relataram que realizam suas refeições em casa; 4% em restaurantes e 8% em outros locais como a casa de familiares. Considerando a população de Aquidauana de 45.430 habitantes, estes resultados, provavelmente, foram obtidos

pelo fato da pesquisa ter sido realizada em uma cidade pequena e do interior.

No entanto, nos grandes centros urbanos vive-se hoje um ritmo acelerado de trabalho e de consumo, o tempo para o lazer e as interações sociais foi reduzido, bem como o tempo para as refeições. Essa praticidade e rapidez imposta pela sociedade contemporânea acabam derrubando as convenções ditas pela sociedade, construídas e pautadas pela tradição e pelos costumes. As refeições feitas em conjunto, em casa, com horário determinado e um cardápio planejado estão cada vez mais raras (10).

Os consumidores demonstraram que no momento da compra levam em consideração alguns requisitos, sendo mais importante a qualidade e a higiene, seguidas do preço e da origem do produto (Figura 4). Este dado é relevante para as empresas e o varejo, para que possam melhorar alguns requisitos como, por exemplo, a forma de apresentação do produto.

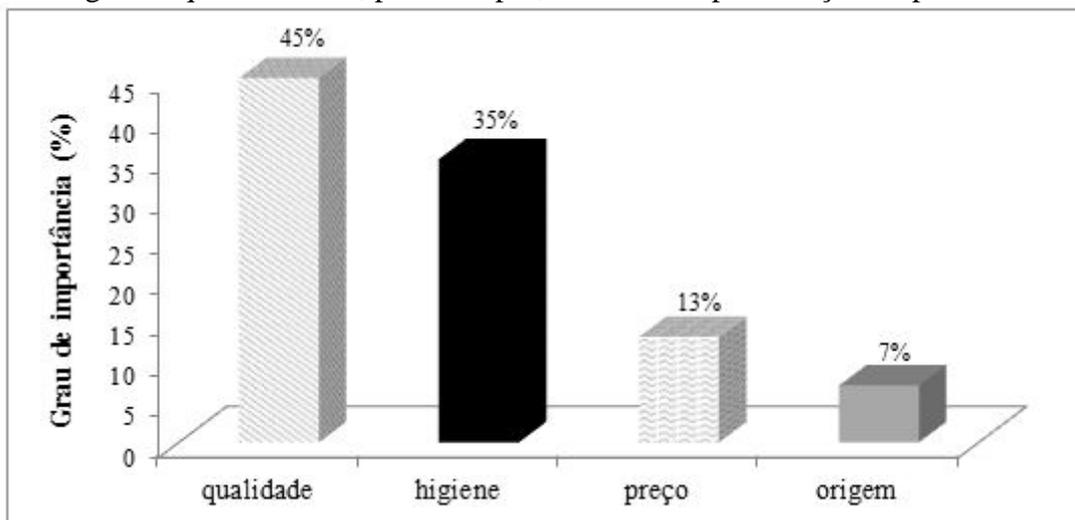


Figura 4. Grau de importância dos requisitos levados em consideração no momento da compra de carne de frango para os consumidores do município de Aquidauana-MS.

Quando indagados, 71% dos consumidores entrevistados responderam que consomem a quantidade que gostariam de carne de frango, 21% afirmaram que não consomem a quantidade que gostariam, mas tem intenção de aumentar, e uma pequena parcela afirmou que não consomem a quantidade desejada e pretendem na verdade reduzir a quantia que consomem.

Sobre as ações que fariam o consumo de carne de frango aumentar, 51% dos consumidores entrevistados aumentariam o consumo com a redução do preço da carne de frango, para 30% a diminuição da quantidade de gordura/colesterol aumentaria o consumo, 11% aumentariam o consumo diante do aumento do preço de outras carnes e 8% mediante a melhoria da apresentação do produto no caso a embalagem.

A análise do conhecimento dos entrevistados em relação à origem/procedência da carne de frango que consomem demonstrou que a maioria (61%) não sabe exatamente a origem, 38% acreditam que a carne proceda de abatedouros fiscalizados, e a minoria (1%) acredita que a carne de frango seja oriunda de abatedouro informal.

No que se refere ao conhecimento dos consumidores sobre o sistema de produção e abate dos animais, somente 6% não se interessaram por essa questão. Esses resultados discordam os relatados por Bonamigo et al. (11) que observaram que a maioria dos consumidores de carne de frango de Curitiba não tinha conhecimento sobre o sistema de produção.

Quando indagados sobre a utilização de hormônios, a maioria dos consumidores (85%) acredita que estas substâncias sejam utilizadas no sistema de criação dos animais.

Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Francisco et al. (9) que relataram que 89% dos consumidores entrevistados em Porto Alegre acreditavam que a carne de frango continha hormônios, devido ao fato desses animais engordarem muito rápido e atingirem o peso de abate com cerca de 45 dias. Todavia, essa alta capacidade de desenvolvimento corporal dos

frangos em curto período, é resultado de décadas de investimentos em pesquisas científicas e avanços tecnológicos no que diz respeito à genética, manejo sanitário, ambiência e nutrição, com destaque para o uso de aditivos como probióticos, prebióticos e antibióticos (12).

É importante ressaltar que estas substâncias não possuem origem hormonal, são suplementos alimentares que beneficiam a saúde do hospedeiro, pois proporcionam equilíbrio da microbiota intestinal, não deixam resíduos nos produtos de origem animal e não favorecem a resistência às drogas, o que os tornam ideais para substituir os antimicrobianos como aditivos alimentares (13).

A Associação Brasileira de Proteína Animal – ABPA (14), diante do conhecimento equivocado dos consumidores, autorizou as agroindústrias avícolas a utilizarem embalagens que contenham rótulos com a mensagem “sem uso de hormônios”. O próprio Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento reconheceu a importância de esclarecer o consumidor sobre a não utilização de hormônios na criação de frangos, um dos mitos mais antigos e persistentes do setor.

CONCLUSÃO

Após a realização deste estudo, foi possível concluir que os consumidores do município de Aquidauana têm o frango como segunda opção de carne para consumo, demonstrando preferência pelos cortes de frango. Os requisitos qualidade, higiene, preço e origem do produto são muito importantes no momento da compra. A maior parte dos consumidores não conhece a origem/procedência da carne de frango que adquire, mas considera importante conhecer o sistema de produção destes animais. No entanto, não existem meios que informem aos consumidores sobre o sistema de produção aos quais os frangos são submetidos, evidenciando a grande necessidade de mais informações sobre o assunto para que os consumidores consigam compreender o processo de produção da carne de frango que consomem. A maioria dos consumidores acredita que a carne de frango contém hormônios, e muitos profissionais de outras áreas erroneamente acreditam e disseminam a ideia de que esta substância seja utilizada na criação de frangos. Dessa forma, sabendo que o comportamento do consumidor é influenciado por vários fatores, é evidente que para as empresas que disputam o mercado de produtos cárneos a importância da realização de pesquisas que informem a melhor forma de atender as exigências dos diferentes tipos consumidores.

REFERÊNCIAS

1. Bernabéu R, Tendero A. Preference structure for lamb meat consumers. A Spanish case study. *Meat Sci.* 2005;71:464-70.
2. Francisco DC, Nascimento VP, Pedrozo EA. Conhecendo o consumidor de carne de frango da cidade de Porto Alegre-RS. *Hig Aliment.* 2009;23:66-9.
3. Mazzuchetti RN, Batalha MO. O comportamento do consumidor em relação ao consumo e às estruturas de comercialização da carne bovina na região de Amerios/PR. *Varia Sci.* 2005;4:25-43.
4. Saith W, Alves AF, Parré JL. Transmissão e integração de preço no mercado de boi gordo entre região Centro-Oeste e Estado de São Paulo. *Rev Adm Neg Amazonia.* 2013;5:71-84.
5. Boechat AMF, Alves AF. A política de defesa da concorrência no setor de abate de bovinos. *Rev Econ Nordeste.* 2014;45:112-24.

6. Williamson OE. The new institutional economics: taking stock, looking ahead. *J Econ Lit.* 2000;38:595-613.
7. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo demográfico 2010 [Internet]. Rio de Janeiro: IBGE; 2010 [cited 2015 Feb 4]. Available from: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/resultados_dou/MS2010.pdf
8. Pinheiro CD, Lírío VS. Fatores condicionantes da demanda de carne suína no município de Viçosa–MG. *Rev Econ Reuna.* 2003;8:43-66.
9. Francisco DC, Nascimento VP, Logueiro AP, Camargo L. Caracterização do consumidor de carne de frango da cidade de Porto Alegre. *Cienc Rural.* 2007;37:253-8.
10. Santos CRA. A alimentação e seu lugar na história: os tempos da memória gustativa. *Hist Questoes Debates.* 2005;42:11-31.
11. Bonamigo A, Silva CBS, Molento CFM. Atribuições da carne de frango relevantes ao consumidor: foco no bem estar animal. *Rev Bras Zootec.* 2012;41:1044-50.
12. Barros GS, Meneses JNC, Silva JA. Representações sociais do consumo de carne em Belo Horizonte. *Physis.* 2012;22:365-83.
13. Kaur B, Gupta SR, Singh G. Carbon storage and nitrogen cycling in silvopastoral systems on a sodic soil in northwestern India. *Agrofor Syst.* 2002;54:21-9.
14. Associação Brasileira de Proteína Animal. Comemora oficialização de rótulo sobre não uso de hormônios [Internet]. São Paulo: ABPA; 2014 [cited 2015 Aug 20]. Available from: <http://www.ubabef.com.br/noticias/932?m=62>

Recebido em: 26/05/2016

Aceito em: 03/04/2017

INQUÉRITO SOBRE O USO DE ANIMAIS NÃO HUMANOS EM PESQUISAS NO INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – UNESP – BOTUCATU - SP

Ana Elisa Sales Dourado¹
Stelio Pacca Loureiro Luna²
Nadia Crosignani²

RESUMO

A necessidade do uso de animais de laboratório para pesquisa científica na área biológica é um paradigma atual. Este trabalho objetivou, por meio de questionário, verificar as concepções de pesquisadores, a prática e as condições do uso de animais não humanos em experimentação científica na área de Ciências Biológicas, do Instituto de Biociências (IB), da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), campus de Botucatu-SP. De 39 pesquisadores, 28% usavam animais em pesquisa, com predomínio de roedores e peixes. O uso de animais em pesquisa foi considerado altamente necessário ou necessário para 79% dos pesquisadores, incluindo os que não usam animais para tal propósito, com predomínio dos pesquisadores com mais de 20 anos de carreira. Dos pesquisadores que usam animais, 73% não acreditavam na viabilidade de métodos substitutivos em suas linhas de pesquisa. Dentre os professores que abandonaram as práticas experimentais com animais, 83% o fizeram por mudança da linha de pesquisa e não por razões éticas ou financeiras. Alguns métodos de eliminação (“eutanásia”) estavam em desacordo com a legislação vigente. Em 73% dos ambientes havia controle de temperatura e luminosidade, no entanto, em 65% não havia enriquecimento ambiental. A maioria dos pesquisadores, principalmente os mais antigos, ainda considera o modelo animal necessário para testar as hipóteses científicas. Conclui-se que o incentivo a aplicação de técnicas substitutivas é necessário, por meio de ações de conscientização e validação de métodos substitutivos, para que os pesquisadores se familiarizem com essa nova perspectiva. Com relação aos animais, faz-se necessária a adequação dos métodos de eliminação de acordo com a legislação vigente, o uso de analgésicos em todas as intervenções invasivas e a inserção de enriquecimento ambiental para melhoria do bem-estar dos animais.

Palavras-chave: animais de laboratório, experimentação animal, ética, bioética.

SURVEY REGARDING THE USE OF ANIMALS IN RESEARCH AT UNESP BIOSCIENCES INSTITUTE, BOTUCATU - SP

ABSTRACT

The use of animals for scientific purposes in the biological area is a current paradigm. This study aimed, by using a questionnaire, to investigate the opinions of researchers and the practice and conditions of use of animals in scientific experimentation in the area of Biological Sciences, of the Institute of Biosciences (IB), Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" (UNESP), campus of Botucatu. Of 39 researchers, 28% used animals in research, with a predominance of rodents and fish. The use of animals in research was considered highly necessary or necessary for 79% of researchers, including those who did not use animals for this

¹ Graduação em Ciências Biológicas, Instituto de Biociências de Botucatu – Unesp – Campus de Botucatu. Contato principal para correspondência: anaelisa_salles@hotmail.com

² Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária – FMVZ – Unesp – Campus de Botucatu.

purpose, with a predominance of researchers with more than 20 years career. From those who use animals, 73% did not believe in the viability of replacement methods in their research areas. Among the researchers who did not use animals any more, 83% did so by changing the area of research and not for ethical or financial reasons. Some elimination methods ("euthanasia") are in violation of current legislation, 73% of the environments had temperature and light control and there was no environmental enrichment in 65% of environments. The vast majority of researchers and mainly the olders, still consider the animal model as necessary to test scientific hypotheses. The conclusion was that the use of substitutive methods should be encouraged, by validation of substitute methods, so that researchers may become familiar with this new perspective. From the animal point of view it is necessary to follow the current legislation regarding "euthanasia", the use of painkillers during all invasive interventions and inclusion of environmental enrichment for improving the welfare of animals.

Keywords: Laboratory animals, animal experimentation, ethics, bioethics.

ENCUESTA SOBRE EL USO DE ANIMALES NO HUMANOS EN INVESTIGACIONES EN EL INSTITUTO DE BIOCENCIAS DE LA UNESP, BOTUCATU - SP

RESUMEN

La necesidad del uso de animales de laboratorio para investigación científica en el área biológica es un paradigma actual. Este trabajo tuvo por objetivo, mediante uso de cuestionario, verificar las concepciones de investigadores, la práctica y las condiciones del uso de animales no humanos en experimentación científica en el área de Ciencias Biológicas, del Instituto de Biociencias (IB), de la Universidad Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), campus de Botucatu-SP. De 39 investigadores, 28% usaban animales en investigación, con predominio de roedores y peces. El uso de animales en investigación fue considerado altamente necesario o necesario por 79% de los investigadores, incluyendo los que no usan animales para tal propósito, con predominio de los investigadores con más de 20 años de carrera. De los investigadores que usan animales, 73% no creían en la viabilidad de los métodos substitutivos en sus líneas de investigación. Entre los profesores que abandonaran las prácticas experimentales con animales, 83% lo hicieron por cambios en la línea de investigación, y no por razones éticas o financieras. Algunos métodos de eliminación ("eutanasia") están en desacuerdo con la legislación vigente, en el 73% de los ambientes había control de temperatura y luminosidad y no había enriquecimiento ambiental en el 65% de los ambientes. La gran mayoría de los investigadores y aún más claramente los más antiguos, todavía considera el modelo animal como necesario para probar las hipótesis científicas. Se concluye que se debe incentivar la aplicación de técnicas substitutivas, por medio de acciones de concientización y validación de métodos substitutivos, para que los investigadores se familiaricen con esta nueva perspectiva. Del punto de vista de los animales se hace necesaria una adecuación de los métodos de eliminación de los animales de acuerdo con la legislación vigente, el uso de analgésicos en todas las intervenciones invasivas y la inserción de enriquecimiento ambiental para la mejora del bienestar de los animales.

Palavras chave: Animales de laboratório, experimentación animal, ética, bioética.

INTRODUÇÃO

O estreitamento da relação homem-animal e o reconhecimento dos animais como seres sencientes tem incrementado a pauta de discussão sobre o uso de animais em pesquisa e tornado o bem-estar animal uma área de crescente importância (1).

Apesar dos animais serem empregados há tempos em estudos científicos, estes sempre ocuparam uma posição secundária nesse cenário. Apenas recentemente passou-se a dar maior importância ao bem-estar animal, para garantir resultados confiáveis em pesquisas, de modo que o próprio animal passou a ser o foco de estudos. Para avaliar o bem-estar animal é necessário compreender o contexto fisiológico, etológico, anatômico e de manejo da espécie. A partir daí, emergem as condutas éticas a serem seguidas nas pesquisas, que favorecem o bem-estar dos animais de laboratório (2).

Segundo Duncan (3), “bem-estar é o que o animal sente”, não necessariamente relacionado à saúde ou à condição física. A capacidade de sofrer, tida como característica vital inerente aos seres sencientes, deveria ser o ponto referencial para que o animal seja digno de consideração (4). Em sua obra-prima, “A Origem das Espécies”, Charles Darwin (5) coaduna-se com essa colocação quando ressalta que “não há diferenças fundamentais entre o homem e os animais nas suas faculdades mentais... os animais, como os homens, demonstram sentir prazer, dor, felicidade e sofrimento”. Nesse contexto, surge o termo *senciência*, formalmente definido como a capacidade dos seres vivos de pensar, tomar decisões, sentir dor e prazer e ter percepção inteligente do entorno (6). A *senciência*, para alguns, confere um valor moral intrínseco ao animal, que é sua própria vida (7).

O famoso princípio dos três “Rs” de Russel e Burch, preconiza a substituição (*replacement*), a redução (*reduction*) e o refinamento (*refinement*) do uso de animais não humanos em experimentos científicos (8). No entanto, embora exista um alicerce para desenvolver os métodos substitutivos, há uma maior convergência para a redução e refinamento em comparação à substituição (9).

De acordo com Wells (8), as necessidades psicológicas, físicas e comportamentais do animal devem ser supridas pela instituição e pelas pessoas responsáveis pelo mesmo. Atender às exigências para criação e manutenção de animais demanda um alto dispêndio financeiro, havendo necessidade de funcionários capacitados e instalações apropriadas, o que pode ser um obstáculo para as instituições com baixo orçamento, como as universidades públicas (10). Desta forma, ao menos sob o ponto de vista econômico, os métodos substitutivos aparentam ser mais viáveis, pois poupam tempo e despesas (11).

No ambiente acadêmico há muitas opiniões controversas e díspares no que concerne a adoção de técnicas substitutivas (12). Para alguns pesquisadores, há de fato métodos substitutivos comparáveis ou até superiores em eficácia em comparação aos procedimentos realizados em animais (13-15). Outros, porém, argumentam que as alternativas não devem ser vistas como um conceito, mas sim como técnica complementar às pesquisas com animais, utilizando o argumento da escassez de métodos substitutivos como subterfúgio para justificar a prática experimental em animais (1,16).

Até pouco tempo atrás, a literatura científica que aborda a percepção das pessoas sobre a exploração animal se voltava principalmente para questões como caça, conservação e animais de companhia e o número de trabalhos que retratava o uso de animais de laboratório era escasso (17). Ainda hoje existe pouca disponibilidade de levantamentos sobre as bases morais das atitudes que envolvem o uso de animais em pesquisas científicas e, menos ainda, variedade de estudos que abordem a visão de cientistas que apoiam o uso de animais para tal finalidade (18). Uma explicação possível para essa questão seria que a problemática dos animais utilizados na pesquisa teve maior notoriedade social somente após 1980 (19). Aliado a isso, a ciência do

bem-estar animal, que propulsiona as discussões em torno da ética na pesquisa com animais também é um objeto de estudo recente (20).

Estudos que salientem a importância dos animais não humanos em pesquisas científicas e que, sobretudo, ponderem sobre as condições a que os mesmos são submetidos em ambientes laboratoriais, são de fundamental importância na área de bem-estar animal (21).

Apesar da legislação federal pertinente ao tema ter surgido tardiamente no Brasil com a criação do Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal – CONCEA em 2008 (Lei “Arouca” 11.794), antes da legislação em pauta, o CFMV normatizou por meio de Resoluções, critérios de eutanásia em 2002 (resolução 714), redefinidos em 2012 (resolução 1000), normas para realização de procedimentos cirúrgicos (resolução 877) e normas sobre o uso de animais no ensino e na pesquisa, bem como regulamentação das Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUAs) no âmbito da Medicina Veterinária e da Zootecnia (resolução 879). Tais ações foram de suma importância para o uso de animais em ensino e pesquisa no país. Entretanto, por se tratar de um conselho profissional, não tiveram abrangência em outras profissões.

Este trabalho objetivou, por meio de questionário, verificar as concepções de pesquisadores, a prática e as condições do uso de animais em experimentação científica na área de Ciências Biológicas do Instituto de Biociências (IB), da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), campus de Botucatu-SP.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram aplicados questionários em 13 departamentos do Instituto de Biociências (UNESP, Botucatu), envolvendo 52 pesquisadores, os quais são, ou já foram, docentes responsáveis por disciplinas do curso de Ciências Biológicas, abrangendo pelo menos um docente de cada disciplina/área. Os professores foram subdivididos em três grupos e cada grupo respondeu a um questionário diferente: (I) docentes que atualmente utilizam animais de laboratório em pesquisas; (II) docentes que já utilizaram animais em experimentos, mas abandonaram a prática; (III) docentes que nunca realizaram estudos envolvendo experimentação animal.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados são apresentados em termos de frequências relativas e absolutas das respostas. As associações entre essas variáveis foram testadas pelo teste exato de Fisher ou Qui-quadrado e teste de proporção de Goodman. O nível de significância empregado foi de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 52 questionários enviados, 39 (75%) foram respondidos, computando-se pelo menos um questionário por departamento. Destes docentes, 20 eram do sexo feminino e 19 do masculino, não havendo diferença estatística neste aspecto. A maioria dos respondentes (58%) apresentava acima de 20 anos de atividade em pesquisa, o que foi significativamente superior aos pesquisadores entre 10 e 19 anos de atividade (28%) e menos de 10 anos (14%). Dentre os participantes, a maioria dos professores pertencia a áreas das Ciências Biológicas nas quais a experimentação animal não é normalmente empregada (Botânica, Educação), ou as áreas nas quais existe potencial para o uso de animais em experimentação, porém em linhas de pesquisas que não requerem tal prática (Física e Biofísica, Química e Bioquímica, Microbiologia e Imunologia, Zoologia, Bioestatística, Genética). Dessa forma, o Questionário I foi respondido por 11 docentes (28%), o questionário II por 6 docentes (15%) e o questionário III por 22 docentes (57%). Com relação ao grau de necessidade do uso de animais em pesquisa, percebe-se que a maioria dos docentes que respondeu ao Questionário III assinalou a alternativa

“Necessário”, enquanto a maioria dos respondentes do Questionário II assinalou a opção “Altamente necessário” (Tabela 1).

Tabela 1. Grau de necessidade do uso de animais em pesquisas conforme o questionário respondido pelos docentes.

Uso de animais em pesquisa	Altamente necessário N (%)	Necessário N (%)	Dispensável N (%)	Complementar N (%)	TOTAL N (%)	Valor de P
Questionário						2,41
Q I	5 (13)	6 (16) ^{ab}	-	-	11 (29)	
Q II	4 (11)	1 (3) ^a	-	1 (3)	6 (16)	
Q III	4 (11) ^{AB}	10 (26) ^{bB}	1 (3) ^A	6 (16) ^{AB}	21 (55)	
TOTAL	13 (34) ^{BC}	17 (45) ^C	1 (3) ^A	7 (18) ^{AB}	38 (100)	

Os docentes foram classificados nos grupos (I) os quais atualmente utilizam animais de laboratório em pesquisas; (II) os que já utilizaram animais em experimentos, mas abandonaram a prática; (III) os que nunca realizaram estudos envolvendo experimentação animal. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças nas variáveis dispostas nas colunas para cada multinomial e maiúsculas indicam diferenças entre as linhas.

Para os docentes que utilizavam animais em pesquisas, o uso predominante foi para testes de hipóteses (73%), extração de materiais (36%) e treinamento de procedimentos (18%). Somente 36% dos pesquisadores usavam analgésicos em procedimentos invasivos. Este baixo índice se deve, possivelmente, à ampla utilização de animais invertebrados, segundo a Tabela 2, ou porque os animais eram eliminados antes do início dos procedimentos invasivos. No entanto, dentre os que utilizam animais vertebrados (6 de 7 pesquisadores - 86%), quatro (57%) afirmaram utilizar analgésicos nesses procedimentos e três afirmaram não usar (43%). Sabe-se que os animais submetidos a procedimentos experimentais devem ser medicados para minimizar a dor e o estresse e que a administração de analgésicos eficientes é fundamental no período perioperatório (22). De acordo com Flecknell e Roughan (23), o uso de analgésicos, tanto na clínica veterinária, quanto em institutos de pesquisa, geralmente é inadequado. Este fato se deve, principalmente, à relutância dos pesquisadores em acrescentar mais uma variável ao protocolo experimental (no caso, o fármaco), no entanto, a própria dor provocada pela ausência do uso de analgésicos pode ser uma variável muito mais significativa e indesejável.

Os animais foram submetidos aos seguintes tipos de estresse: manipulação (73%), contenção (36%) e dor (18%). Atribui-se esse resultado ao fato de que a maioria das experimentações com animais envolve o manejo. O estudo de Viau e colaboradores (24) demonstrou que o estresse de transporte e manuseio deflagram respostas fisiológicas e bioquímicas, daí a necessidade de um período de aclimação para reduzir os efeitos do estresse nos resultados da pesquisa.

Embora do ponto de vista estatístico não houvesse uma espécie animal utilizada com maior frequência, houve maior tendência de uso de roedores e peixes (Tabela 2). Em práticas experimentais priorizam-se modelos animais menos complexos do ponto de vista filogenético, que possam ser obtidos em quantidades satisfatórias e com facilidade. Por isso, roedores, em especial ratos e camundongos, são amplamente utilizados (25). Além disso, nas últimas décadas, o uso de animais de porte maior, como cães, gatos e primatas, tem sido preterido devido à menor aceitação da sociedade, já que o uso de roedores é menos condenado pelo censo coletivo. É provável que a baixa aceitação do uso de cães e gatos na pesquisa se justifique por serem considerados animais de estimação. Em contrapartida, os roedores são vistos como animais sinantrópicos, que geram transtornos e são criados especificamente para este fim (17).

Dentre os métodos de eliminação mecânicos e químicos citados (Tabela 2), alguns estão em desacordo com a Resolução Normativa n.º. 13, de 20/09/2013 do CONCEA (ainda não vigente quando esta pesquisa foi realizada) e a Resolução 1000 de 2012, do CFMV. Por exemplo, no caso dos vertebrados, grupo taxonômico abrangido pela legislação brasileira, o deslocamento cervical e a decapitação são considerados métodos de eliminação aceitos com restrição, pois podem não produzir consistentemente a morte do animal de forma humanitária ou porque não são bem documentados na literatura científica. A decapitação e secção medular são consideradas práticas inaceitáveis em peixes. Observa-se que algumas técnicas de eliminação não estão enquadradas na legislação brasileira (CONCEA) e espera-se que este cenário tenha se alterado após a publicação da Resolução Normativa n.º. 13, de 20/09/2013 do CONCEA.

Tabela 2. Distribuição de frequências quanto à espécie de animal utilizada em pesquisa e seu respectivo método de eliminação (N=11/11).

Espécie	n (%)	Método de eliminação	n (%)
Rato	5 (45)	Mecânico (Decapitação, Deslocamento cervical)	3 (27)
		Químico (Sobredosagem de anestésico)	1 (9)
Peixe	4 (36)	Mecânico (Decapitação, secção de medula)	4 (36)
Camundongo (Mus musculus)	3 (27)	Químico (Sobredosagem de anestésico)	2 (18)
Caranguejo	1 (9)	Mecânico (Deslocamento cervical)	1 (9)
		Mecânico (Congelamento)	1 (9)
Ermitão	1(9)	Mecânico (Congelamento)	1 (9)
Esperança (Tettigonia viridissima)	1(9)	Químico (Sobredosagem de anestésico)	1 (9)
Gafanhoto	1 (9)	Químico (Sobredosagem de anestésico)	1 (9)
Grilo	1 (9)	Químico (Álcool 85%)	1 (9)
Camarão	1 (9)	Mecânico (Congelamento)	1 (9)

Com relação à eliminação dos animais, 33% foram eliminados exclusivamente para a finalidade da pesquisa, 33% foram utilizados vivos para o estudo e eliminados depois dos procedimentos e 17% foram eliminados por indicação clínica. Os animais foram eliminados para isolamento de material biológico (36%) ou por outras razões que inviabilizariam a manutenção dos mesmos, seja devido as sequelas sofridas pelo animal, ou, adicionalmente, devido a impossibilidade de retorno ao biotério, no caso dos roedores (26).

Em 73% dos ambientes havia controle de temperatura e luminosidade, entretanto, em apenas 36% havia enriquecimento ambiental. O enriquecimento ambiental nas instalações de

animais cativos estimula a manifestação de comportamentos naturais e minimiza os estereotipados. É uma necessidade básica para o animal e para os resultados experimentais (2), já que reduz o comportamento anormal e a ansiedade em camundongos, sem afetar negativamente os resultados do estudo (27). Também se constatou que camundongos preferem que haja disponibilidade de materiais para a confecção do ninho, do que receber ninhos prontos, pois esta é uma expressão comportamental básica (28).

No total, considerou-se o uso de animais na pesquisa “altamente necessário” (34%) e “necessário” (45%), sem diferença estatística. Nenhum pesquisador que usa animais em pesquisa optou pelas alternativas “dispensável” ou “complementar”. Este resultado vem de encontro ao achado nesta categoria de pesquisadores que usam animais, visto que 73% deles não acreditavam na viabilidade de métodos substitutivos em suas linhas de pesquisa e, portanto, não tinham expectativa de postergar o uso de animais em seus experimentos, contra 27% que vislumbravam uma expectativa de implementar algum método substitutivo futuramente. Apesar da crescente propagação de estudos inerentes à aplicabilidade de métodos substitutivos e de sua crescente utilização no ensino, o processo de validação é longo e burocrático, portanto, os métodos substitutivos ainda são pouco empregados em pesquisas científicas. De acordo com Cerqueira (26), o método substitutivo tem um custo de aproximadamente um terço em comparação ao tradicional, além de trazer vantagens referentes à economia de espaço físico nas instalações laboratoriais e gastos com energia, água e recursos humanos. Apesar disso, é nítida a relutância dos pesquisadores em reconhecer os métodos substitutivos como uma técnica eficiente, sendo este fato corroborado pela afirmação do ex-Presidente do CONCEA, Morales (29): “O mais sensato, portanto, é admitir que existem métodos complementares, mas que não podem ser considerados substitutivos”.

Dentre os professores que abandonaram as práticas experimentais com animais (questionário II), estes o fizeram por mudança da linha de pesquisa (5/6 – 83%) e não por razões éticas ou financeiras. Quando esses pesquisadores foram questionados sobre a viabilidade de métodos substitutivos ao uso de animais na pesquisa, 50% responderam que acreditam na viabilidade de substituição e 33% responderam que não acreditavam que os métodos substitutivos poderiam suprir as necessidades dos estudos experimentais. Segundo Lima (30), a junção do saber científico com a implementação de técnicas humanitárias na pesquisa são os meios para que se possa transgredir o dilema da subjetividade que cinge a questão da ética nessa prática.

A maioria dos pesquisadores respondeu ao questionário III, ou seja, nunca usaram animais em pesquisa, o que se deve ao fato de que a grade curricular do curso de Ciências Biológicas é composta, em sua maior parte, por disciplinas de áreas em que, normalmente, a experimentação animal não é empregada, como Educação e Botânica e outras que têm potencial para realizar estudos dessa natureza, mas que a linha de pesquisa não requer tais práticas, como Genética e Bioestatística. Dos 22 respondentes, 55% acreditam na viabilidade dos métodos substitutivos, 23% descreem na sua aplicação e 23% não responderam à pergunta. Desta forma, mais uma vez, as opiniões se dividem igualmente.

Isto posto, percebeu-se que mesmo entre os pesquisadores que não mais utilizam animais em pesquisa, existe uma nítida preponderância dos que consideram relevante o uso de animais na pesquisa, o que demonstra a dificuldade de se chegar a um consenso quanto a questão ética inerente ao uso de animais em experimentação (30).

Ao analisar as diferenças entre os questionários, com relação a variável “Tempo de docência”, constatou-se que os pesquisadores com 20 ou mais anos de docência assinalaram mais vezes a opção “Altamente necessário” do que os professores com menos de 10 anos de carreira, o que evidencia o crescimento da ciência do bem-estar animal no ambiente acadêmico entre os mais jovens e a relutância das mudanças de *status quo* nos mais antigos.

CONCLUSÕES

A maioria dos pesquisadores, ainda considera o modelo animal como necessário para testar hipóteses científicas e esta opinião é ainda mais evidente em pesquisadores mais antigos.

As práticas experimentais com animais foram substituídas por mudanças na linha de pesquisa, e não por considerações éticas baseadas nas recomendações do princípio dos três “Rs”, o que salienta a necessidade de incentivar a aplicação de técnicas substitutivas, por meio de ações de conscientização e validação de métodos substitutivos, para que os pesquisadores se familiarizem com essa nova perspectiva. O lado positivo é que, aproximadamente, apenas um terço dos pesquisadores da área de ciências biológicas da instituição ainda utiliza animais em pesquisas, com predomínio de ratos, camundongos e peixes.

Com relação ao uso dos animais, faz-se necessária a adequação dos métodos de eliminação de acordo com a legislação vigente, além do uso de analgésicos em todas as intervenções invasivas, bem como a inserção de enriquecimento ambiental para melhoria do bem-estar dos animais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa concedida (processo nº 2012/06030-6).

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética institucional da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da UNESP de Botucatu, em 21 de maio de 2012 sob o protocolo número 137/2012 - CEUA.

REFERÊNCIAS

1. Knight A. The effectiveness of humane teaching methods in veterinary education. *ALTEX*. 2007;24(2):91-109.
2. Frajblat M, Amaral VLL, Rivera EAB. Ciência em animais de laboratório. *Cienc Cult*. 2008;60(2):44-6.
3. Duncan IJD. Welfare is to do with that animals feel. *J Agric Environ Ethics*. 1993;6(Spec Suppl 2):8-14.
4. Singer P. Igualdade para os Animais? In: *Ética prática*. São Paulo: Martins Fontes; 1993. p.65-92.
5. Darwin C. *The origin of species*. London: John Murray; 1859.
6. Alves ND. Dor, sensibilidade e bem-estar em animais: pequenos animais. In: *Anais do 1o Congresso Brasileiro de Bioética e Bem-Estar Animal e 1o Seminário Brasileiro de Biossegurança e Biotecnologia Animal*; 2008; Recife. Recife: CFMV; 2008. p.18-9.
7. Luna SPL. Dor, sensibilidade e bem-estar em animais: sensibilidade e dor. In: *Anais do 1o Congresso Brasileiro de Bioética e Bem-Estar Animal e 1o Seminário Brasileiro de Biossegurança e Biotecnologia Animal*; 2008; Recife. Recife: CFMV; 2008. p.16-7.
8. Wells N. The use of animals in research, testing and teaching in New Zealand: a legal perspective. *ALTEX*. 2006;23(Spec Issue):85-9.

9. Knight S, Vrij A, Bard K, Brandon D. Science versus humanwelfare? Understanding attitudes toward animal use. *J Soc Issues*. 2009;65(3):463-83.
10. Ruksenas O. Animals and alternatives in biomedical education in the Baltics. *ALTEX*. 2006;23(Spec Issue):78-80.
11. Patronek GJ, Rauch A. Systematic review of comparative studies examining alternatives to the harmful use of animals in biomedical education. *J Am Vet Med Assoc*. 2007;230(1):37-43.
12. Fleischmann KR. Frog and cyberfrogs are friends: dissection simulation and animal advocacy. *Soc Anim*. 2003;11(2):123-43.
13. Strauss R, Kinzie MB. Student achievement and attitudes in a pilot study comparing an interactive videodisc simulation to conventional dissection. *Am Biol Teach*. 1994;56(7):398-402.
14. Balcombe J. Dissection: the scientific case for alternatives. *J Appl Anim Welf Sci*. 2000;4(2):118-26.
15. Youngblut C. Use of multimedia technology to provide solutions to existing curriculum problems: virtual frog dissection [thesis]. Fairfax: George Mason University; 2001.
16. Feeney DM. Human rights and animal welfare. *Am Psychol*. 1987;42(6):593-9.
17. Hagelin J, Carlsson H, Hau J. An overview of surveys on how people view animal experimentation: some factors that may influence the outcome. *Public Underst Sci*. 2003;12(1):67-81.
18. Herzog HA, Galvin S. Common sense and the mental lives of animals: an empirical approach. *Anthropomorphism, anecdotes and animals*. Albany: State University of New York Press; 1997.
19. Takooshian H. Opinions on animal research: scientists versus the public. *PsyETA Bull*. 1988;(7):5-7.
20. Phillips MT, Sechzer JA. *Animal research and ethical conflict. An analysis of the scientific literature 1966-1986*. New York: Springer Verlag; 1989.
21. Gunther AC. Congenial public, contrary press, and biased estimates of the climate of opinion. *Public Opin Q*. 2001; 65(3):295-320.
22. Stokes EL, Flecknell PA, Richardson CA. Reported analgesic and anaesthetic administration to rodents undergoing experimental surgical procedures. *Lab Anim*. 2009;43(2):149-54.

23. Flecknell PA, Roughan JV. Assessing pain in animals: putting research into practice. *Anim Welf Sci.* 2004;13(1):71-5.
24. Viau V, Sharma S, Plotsky PM, Meaney MJ. Increased plasma ACTH responses to stress in nonhandled compared with handled rats require basal levels of corticosterone and are associated with increased levels of ACTH secretagogues in the median eminence. *J Neurosci.* 1993;13(3):1097-105.
25. Petroianu A. Aspectos éticos na pesquisa em animais. *Acta Cir Bras.* 1996;11(3):157-64.
26. Cerqueira N. Métodos alternativos ainda são poucos e não substituem totalmente o uso de animais. *Cienc Cult.* 2008;60(2):47-8.
27. Wolfer DP, Litvin O, Morf S. Laboratory animal welfare: cage enrichment and mouse behaviour. *Nature.* 2004;432(7019):821-2.
28. Olsson AS, Dahlborn K. Improving housing conditions for laboratory mice: a review of 'environmental enrichment'. *Lab Anim.* 2002;36(3):243-70.
29. Morales MM. Métodos alternativos à utilização de animais em pesquisa científica: mito ou realidade? *Cienc Cult.* 2008;60(2):33-6.
30. Lima WT. Entendimento humano da experimentação animal. *Cienc Cult.* 2002;60(2):26-7.

Recebido em: 04/12/2015

Aceito em: 21/12/2016

POTENCIAL DA DESLORELINA COMO AGENTE INDUTOR DA OVULAÇÃO EM VACAS PRIMÍPARAS *Bos taurus indicus* NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO

Laisa Sincero Rabelo de Oliveira¹
André Luiz Bastos de Souza²
Luiz Ernandes Kozicki¹
Marcio Segui¹
Victor Breno Pedosa³
José Antonio Dell'Aqua Junior⁴
Romildo Romualdo Weiss⁵
Ana Claudia Machinski Rangel de Abreu⁵

RESUMO

O objetivo do estudo foi verificar a eficiência da deslorelina (DES) como indutora da ovulação em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) sobre as taxas de prenhez (TP) de vacas primíparas *Bos taurus indicus*. Foram utilizados 176 animais, distribuídos em três grupos: GNDES (Grupo Não DES; n= 59), que recebeu no dia 0 (d0) um dispositivo intravaginal com 0,558 g de progesterona (P4) + 2,0 mg de benzoato de estradiol (BE) (IM); no d8 remoção da P4 + 0,5 mg de cipionato de estradiol (CE) + 150 µg de cloprostenol + 400 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG); em d10 foi executada a IATF; GDES (Grupo DES; n=60) o mesmo que GNDES porém 1,0 mg (IM) de DES no momento da IATF; GDES6 (Grupo Deslorelina 6 horas; n=57) o mesmo que GDES, porém com a DES aplicada 6 horas antes da IATF. Os dados foram submetidos à análise estatística mediante o Programa SAS (2014). O estudo resultou em taxa de prenhez (TP) na IATF e no final da estação de monta, respectivamente para GNDES, GDES e GDES6 em 40,6; 53,3; 43,8 % e 72,9; 81,7; 70,2 %. Concluiu-se que a DES proporcionou em números absolutos indicativo de melhoria na TP à IATF nos grupos tratados frente ao controle; o ECC, dias abertos e o *status* reprodutivo (anestro ou ciclicidade) não influenciaram a TP à IATF, aos 60 dias e ao final da estação de monta.

Palavras-chave: Deslorelina intramuscular, IATF, protocolo hormonal, bovino, primíparas.

POTENTIAL OF DESLORELIN AS INDUCTOR OF OVULATION FOR TIMED-ARTIFICIAL INSEMINATION IN PRIMIPAROUS *Bos taurus indicus* COWS

ABSTRACT

The aim of the study was to verify the efficiency of deslorelin (DES) as inductor of ovulation in timed-artificial insemination (TAI) protocols on pregnancy rate (PR) in primiparous *Bos taurus indicus* cows. Hundred seventy six animals were divided into three groups (G): GNDES (Group No Deslorelin; n = 59) which received on day 0 (d0) an intravaginal device with 0.558 g of progesterone (P4) + 2.0 mg estradiol benzoate (EB) (IM); d8 P4 removal + 0.5 mg of estradiol cypionate (EC) + 150 µg of cloprostenol + 400 IU of equine chorionic gonadotropin (eCG); in d10 TAI was proceeded; GDES (DES group; n = 60) the same as GNDES + 1.0 mg

¹ Pontifícia Universidade Católica do Paraná - Escola de Ciências da Vida, Campus Curitiba, Paraná, Brasil.
Correspondência: lasincero@hotmail.com

² Vet, Maxi Consultoria Pecuária - Curitiba - PR, Brasil.

³ Departamento de Zootecnia - Universidade Estadual de Ponta Grossa.

⁴ Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, São Paulo, Brasil.

⁵ Setor de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

(IM) DES acetate in TAI day; GDES6 (DES applied 6 hours before TAI, n = 57) the same as GDES, but DES injected 6 hours before TAI. The pregnancy rate (PR) in TAI and at the end of the breeding season (BS) was respectively 40.6; 53.3; 43.8% and 72.9; 81.7; 70.2% in GNDES, GDES and GDES6. In conclusion, the DES brought an indicative of improvement in the PR for TAI, in the treated groups (3.2 to 12.7 % more) than control, however without significance; the BCS, open days and the reproductive status of anestrus or cyclicity, did not influenced the PR in TAI at 60 days or at the end of the BS.

Keywords: Intramuscular deslorelin, TAI, protocol hormone, bovine, primiparous.

POTENCIAL DE LA DESLORELINA COMO AGENTE INDUCTOR DE LA OVULACIÓN EN VACAS PRIMÍPARAS *Bos taurus indicus* EN LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN TIEMPO FIJO

RESUMEN

El objetivo del estudio ha sido verificar la eficiencia de la deslorelina (DES) como inductora de la ovulación en protocolos de inseminación artificial en tiempo fijo (IATF) sobre las tasas de preñez (TP) en vacas primíparas *Bos taurus indicus*. Se han utilizado 176 animales, distribuidos en tres grupos: GNDES (Grupo No DES; n= 59), que recibió en el día 0 (d0) un dispositivo intra vaginal con 0,558 g de progesterona (P4) + 2,0 mg de benzoato de estradiol (BE) (IM); en el d8 remoción de la P4 + 0,5 mg de cipionato de estradiol (CE) + 150 mg de cloprostenol + 400 UI de gonadotrofina coriónica equina (eCG); en el d10 fue ejecutada la IATF; GDES (Grupo DES; n=60) el mismo que GNDES pero 1,0 mg (IM) de DES en el momento de la IATF; GDES6 (Grupo Deslorelina 6 horas); n=57) el mismo que GDES, con la diferencia que la DES ha sido aplicada con 6 horas de antelación relación a la IATF. Los datos han sido sometidos a un análisis estadístico, a través del Programa SAS (2014). El estudio resultó en tasa de preñez (TP) en la IATF y al final del ciclo estral, respectivamente para GNDES, GDES y GDES6 en 40,6; 53,3; 43,8 % y 72,9; 81,7; 70,2 %. Concluyese que la DES proporcionó en números absolutos un indicativo de mejoría en la TP y en la IATF en los grupos tratados frente al control; el ECC, días abiertos y el status reproductivo (anestro o ciclicidad) no influenciaron la TP ni la IATF, ni a los 60 días ni al final del ciclo estral o periodo de celo.

Palavras chave: Deslorelina intramuscular, IATF, protocolo hormonal, bovino, primíparas.

INTRODUÇÃO

As falhas na identificação do estro e do anestro pós-parto prolongado são os dois principais fatores que afetam o desempenho reprodutivo de bovinos (1). O método tradicional para a detecção de estro é a observação visual, sendo altamente dependente da intensidade de estro, da experiência do observador, e da frequência de observações (2).

Visando maximizar as probabilidades das taxas de concepção (TC) e taxas de prenhez (TP), com número reduzido de inseminações artificiais (IA), vários protocolos de sincronização de estro foram desenvolvidos, sendo o objetivo da maioria a não-necessidade de detecção de estro (3), ou seja, protocolos hormonais direcionados à inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Estreitamente relacionada aos protocolos de IATF encontra-se a sincronização da ovulação (SO), visando a otimização das TP. Esta biotécnica constitui-se em uma ferramenta importante na eficiência reprodutiva de rebanhos comerciais (4).

Os protocolos clássicos de IATF utilizam associações de implantes (intravaginais ou subcutâneos) de P4, BE, prostaglandina F₂α (PGF₂α), e gonadotrofina coriônica equina (eCG) para sincronização do estro (5,6,7).

Se por um lado observam-se os efeitos benéficos da exposição dos animais à P4, por outro a eCG atua como estimulante do crescimento folicular (sobretudo do folículo dominante - FD) e produção de P4 pelo corpo lúteo (CL) do ciclo subsequente (5). Seu uso tem-se mostrado promissor em vacas com baixa taxa de ciclicidade (animais no puerpério, por exemplo) ou em animais com baixo escore da condição corporal (ECC) (5). Sá Filho et al. (8), verificaram que o uso de eCG pode resultar em aumento da taxa de crescimento folicular, aumento do diâmetro do FD, além da elevação da taxa de ovulação (TO) em vacas não cíclicas.

Por sua vez, o uso de GnRH ou estradiol no início do protocolo de IATF pode alterar a dinâmica folicular do ovário visando sincronizar o surgimento de um novo FD. O uso do estradiol, GnRH ou hCG durante o proestro pode reduzir a variação do intervalo à ovulação (10). Kozicki et al. (11) testaram a DES (potente agonista do GnRH) intramuscularmente em vacas mestiças, visando à indução da ovulação após prévio tratamento de P4 intravaginal, obtendo taxa de ovulação de 100,0% após 22,3 horas da aplicação.

Indutores da ovulação em vacas como o GnRH (9) e a DES (12) em búfalas, foram empregados em protocolos de IATF, visando incrementar as taxas de concepção e de prenhez. Estudo em búfalas no anestro sazonal demonstrou que a DES foi significativamente mais eficiente na TO e na TP que o GnRH em protocolo de IATF (12). Estudos utilizando a DES injetável intramuscularmente, visando à indução da ovulação em vacas são escassos. Padula e Macmillan (13), utilizaram a DES com implante subcutâneo em vacas leiteiras, concluindo que o agonista do GnRH possui um potencial para controlar as funções reprodutivas no puerpério e manipular a fertilidade de vacas. Relacionado a isso, a hipótese no presente estudo é a de que a administração de DES como indutora da ovulação em protocolos de IATF otimize a eficiência reprodutiva em vacas zebuínas primíparas, não obstante esta categoria animal constitua uma classe especial de animais. As vacas primíparas detêm frequentemente, atraso do início da ciclicidade no período pós-parto, em função da primeira lactação, pois são recém-saídas do estado de novilhas, mas ainda, não são vacas totalmente constituídas, devendo garantir a produção de leite para sua prole, assim como finalizar o seu próprio crescimento (14).

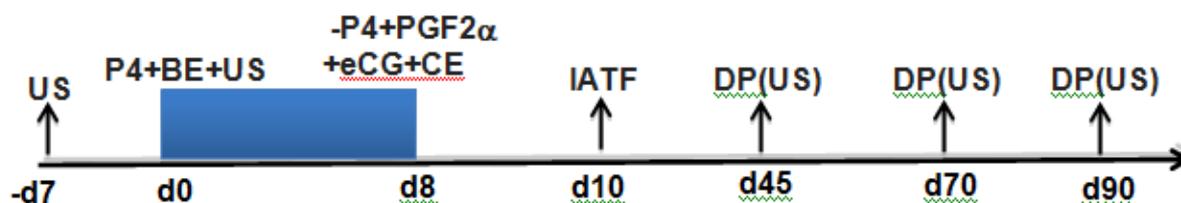
O objetivo do estudo foi verificar a eficiência do acetato de deslorelina injetável intramuscularmente, como indutor da ovulação em protocolos de IATF, sobre as taxas de prenhez em vacas *Bos taurus indicus* primíparas na reprodução em escala comercial.

MATERIAL E MÉTODOS

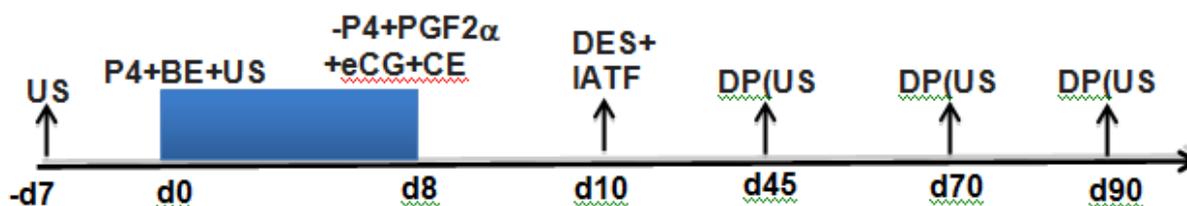
O presente estudo utilizou 176 vacas primíparas da raça Nelore de uma Fazenda Comercial de bovinocultura de corte, situada na Latitude 23° 53' 34", Longitude 55° 25' 52", (altitude de 429 metros) sob pastejo rotacionado de piquetes com *Brachiaria brizantha* (var. Marandú). Adicionalmente foi oferecido sal mineral e água *ad libitum*. O escore da condição corporal (ECC) apresentou a média de 3,5, sendo 1= magra e 5= obesa (15), e o peso médio foi de 340 kg. Os animais encontravam-se entre 37 e 53 dias após o parto (média de 43,5 dias). As vacas foram distribuídas aleatoriamente em 3 grupos: o GNDES (Grupo Não-Deslorelina; n = 59) que recebeu um dispositivo intravaginal de progesterona (P4) longa-ação + benzoato de estradiol (BE) no dia 0 (d0) do protocolo; em d8 ocorreu à remoção da P4 + administração de prostaglandina F₂ alfa (PGF₂α) + gonadotrofina coriônica equina (eCG) + cipionato de estradiol (CE); em d10 efetuou-se a IATF; o GDES (Grupo Deslorelina; n = 60) foi submetido a idêntico protocolo, exceto que em d10 foi aplicado 1,0 mg de acetato de deslorelina (IM) (musculo *Longissimus dorsi*); o GDES6 (Grupo com Deslorelina aplicada 6 horas antes da IATF; n = 57), o mesmo que GDES exceto a administração de acetato de deslorelina (IM) 6 horas antes da IATF (Figura 1). As inseminações artificiais foram executadas com sêmen

descongelado sabidamente fértil. O diagnóstico de prenhez (DP) foi feito aos 35 dias, aos 60 pós a IATF e ao final da estação de monta (EM = 90 dias). Vacas não prenhes após a IATF, permaneceram com touros de repasse até o d90. As avaliações ovarianas foram executadas mediante aparelho portátil de ultrassom, equipado com um transdutor linear bifrequencial de 5/7,5 MHz (Concept LC, Dynamic Imaging, Scotland). Mediante exames ultrassonográficos as vacas foram classificadas em anestro (ausência de CI ou folículos < que 8 mm de diâmetro) ou cíclicas (presença de CI ou folículos > que 8 mm) (16). Os folículos ovarianos eram identificados e o diâmetro (mm) foi mensurado no dia menos 7, d0 e d8. A proporção de touros de repasse para as vacas foi de 1:25.

GNDES (Grupo Não-Deslorelinea; n = 59);



GDES (Grupo Deslorelinea; n = 60);



GDES6 (Grupo Deslorelinea 6 horas antes da IATF; n = 57);

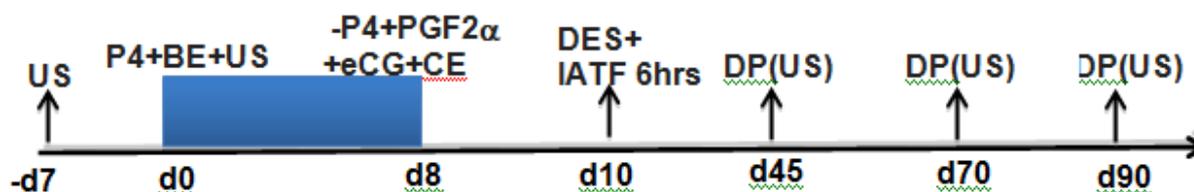


Figura 1. Diagrama do protocolo dos três grupos de vacas.

Legenda: P4: Dispositivo Intravaginal (0,558 g Progesterona = Cronipress, Biogenesis Bago, Curitiba, Brasil); BE: (1 mg Benzoate de estradiol IM, Cronibest, Biogenesis Bago); PGF2 α (0.075 mg / ml Cloprostenol = Croniben, Biogenesis Bago); eCG (400 IU Gonadotrofina coriônica equina = Novohormon, Coopers); Deslorelinea (1 mg IM)(substancia ainda não comercializada; cedida graciosamente); CE (1,0 mg IM, cipionato de estradiol), Zoetis - Pfizer, São Paulo); DP= Diagnóstico de prenhez; US= Ultrassonografia.

Os modelos estatísticos foram ajustados utilizando o Statistical Analysis System (SAS, versão 9.1 para Windows; SAS Inst, Cary, NC, EUA, 2014). A taxa de prenhez, que é uma variável binária, tem distribuição Bernoulli e foi analisada por regressão logística mista, utilizando o procedimento GLIMMIX. As variáveis independentes inicialmente consideradas no modelo estatístico foram: efeito de tratamento (Grupos GNDES; GDES; GDES6), o escore Oliveira LSR, Souza ALB, Kozicki LE, Segui M, Pedosa VB, Dell'Aqua Junior JA et al . Potencial da deslorelinea como agente indutor da ovulação em vacas primíparas *Bos taurus indicus* na inseminação artificial em tempo fixo. Vet. e Zootec. 2017 Jun.; 24(2): 363-372.

corporal (ECC) e suas interações para a taxa de prenhez. Para obtenção do modelo estatístico final, as variáveis explicativas foram sequencialmente removidas com base no critério estatístico de Wald, aplicando o valor de corte de $P > 0,2$. Seguindo este critério, a variável explicativa incluída no modelo final para a taxa de prenhez foi o efeito do tratamento.

Além desses aspectos, o ECC foi dividido em três categorias, a saber: $ECC < 3,5$; $ECC = 3,5$ e $ECC > 3,5$ e avaliada sua relação com Anestro, Prenhez x IATF, Prenhez x Touro e Prenhez x Total. Adicionalmente, foi analisada a relação entre Anestro x Prenhez (IATF), bem como, Prenhez x Touro. Finalmente, os dados foram apresentados como valores médios e porcentagens, considerando-se um nível de significância de 5% para todos os testes estatísticos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados de ECC, Dias Abertos, Anestro ou Ciclicidade e Taxas de Prenhez encontram-se na tabela 1.

Tabela 1. Escore da condição corporal (ECC), dias abertos no pós-parto, ciclicidade, taxa de prenhez oriunda de IATF e do repasse dos touros nos grupos de vacas *Bos taurus indicus* submetidas a protocolos hormonais sem deslorelina (GNDES), com DES no dia da IATF(GDES) e com DES 6 horas antes da IATF (n=176).

Grupos	ECC ($x \pm s$)	Dias abertos ($x \pm s$)	Anestro n (%)	Cíclicas n (%)	TP IATF n (%)	TP Touros 60 dias n (%)	TP ao Final EM n (%)
GNDES (n=59)	3,4 \pm 0,2	45,5 \pm 8,1	31/59 (52,5)	28/59 (47,5)	24/59 (40,6)	19/35 (54,2)	43/59 (72,9)
CV (%)	5,8	17,8					
GDES (n=60)	3,5 \pm 0,3	43,7 \pm 8,4	28/60 (46,6)	32/60 (53,3)	32/60 (53,3)	17/28 (60,7)	49/60 (81,7)
CV (%)	8,5	19,2					
GDES6 (n=57)	3,5 \pm 0,3	41,5 \pm 7,0	31/57 (54,3)	26/57 (45,6)	25/57 (43,8)	15/32 (46,9)	40/57 (70,2)
CV (%)	8,5	16,8					
Valor de <i>P</i>	-	-	0,34		0,35	0,58	0,33

Não houve diferença significativa entre os grupos para nenhuma das variáveis estudadas, tendo como os valores de *P*: Categorias de ECC x Anestro ($P=0,80$), Categorias de ECC x Prenhez na IATF ($P=0,56$); Categorias de ECC x Prenhez de Touros ($P=0,93$); Categorias de ECC x Prenhez Total ($P=0,80$); Anestro x Prenhez IATF ($P=0,70$) e Anestro x Prenhez Touro ($P=0,97$).

Desde o desenvolvimento do protocolo Ovsynch (um dos primeiros para a IATF em bovinos) (17), inúmeros outros foram desenvolvidos e testados. Muitos dos protocolos incluíram os hormônios indutores da ovulação administrados no dia da IATF (17) ou 24 horas (18) ou 48 horas antes da IATF (19). O uso de indutores da ovulação, tornou-se fundamental para a melhoria das taxas de prenhez em bovinos (20), sendo o GnRH (21), o BE (22) e o CE (8), os mais utilizados.

No presente estudo, utilizou-se o acetato de deslorelina injetável via intramuscular profunda (IM), substância empregada anteriormente (23,24,25) sob a forma de implantes subcutâneos. Contudo, os relatos conclusivos destes autores não esclareceram suficientemente os potenciais efeitos da DES, principalmente como indutora da ovulação e os resultados não alcançaram a repercussão necessária para a continuidade de outros estudos sequenciais. Os resultados mostraram-se pouco consistentes, principalmente em relação à indução da ovulação em vacas de leite em programas de IATF (23).

No presente experimento o GDES recebeu a DES no dia da IATF e o GDES6 seis horas antes, e os dados foram confrontados com o grupo não recebedor da DES (GNDES). Nossa hipótese era de que a DES atuaria como potente indutora da ovulação em bovinos, de acordo com relatos de Kozicki et al.(11), os quais conduziram estudo em vacas mestiças de corte e de Frases et al.(12) em búfalas de leite, no anestro sazonal. Basicamente o protocolo administrado no presente estudo já contemplava o uso de CE no d8 do protocolo (=dia da retirada da P4), com a função de indutor da ovulação. Por conseguinte, a DES injetada no dia da IATF, poderia segundo nossa hipótese, proporcionar ainda maior precisão nas horas e no percentual de animais com ovulações. De fato, no presente estudo os grupos tratados com DES (GDES e GDES6) evidenciaram maior eficiência na TP na IATF em números absolutos, quando confrontados com o GNDES, não se mostrando, contudo significativa ($P>0,05$) (Tab. 1). O GDES foi superior aos demais grupos na TP na IATF, mantendo a superioridade aos 60 dias e ao final da EM. As TP dos grupos na IATF resultaram em 40,6; 53,3 e 43,8 % respectivamente para GNDES, GDES e GDES6, com TP ao final da EM de 72,9; 81,7 e 70,2 %. Isto posto, observa-se um indicativo para o uso da DES como indutora da ovulação, em protocolos de IATF.

Na análise comparativa entre os grupos recebedores de DES, não detectou-se diferença nas TP entre o GDES (53,3%) e o GDES6 (43,8%) à IATF, ($P>0,05$). A priori o GDES6 poderia resultar em melhor TP que o GDES, pois a DES foi aplicada 6 horas antes, que seria consistente com os relatos de Kozicki et al.(11). A DES injetável foi utilizada por Kozicki et al.(11), os quais obtiveram 100,0 % de TO em vacas mestiças, dentro de 22,3 horas após a aplicação, significativamente mais precoce que o grupo não recebedor da DES (ovulação após 33,6 horas) naquele estudo. Hipoteticamente, a administração da DES seis horas antes da IATF poderia resultar em maior TP que a aplicação da DES no dia da IATF, o que na realidade não ocorreu. Contudo, deve-se salientar que Kozicki et al.(11) executaram estudos em vacas multíparas e mestiças (*Bos taurus/Bos indicus*), diferentemente das utilizadas no presente estudo, que foram unicamente primíparas *Bos indicus*, redundando por conseguinte em diferenças na TP entre os estudos. Na análise dos dados da variável dias abertos entre os grupos, observou-se moderado valor para o coeficiente de variação, porém não acreditamos que isso tenha influenciado os resultados.

Frases et al. (12) trabalhando com protocolo para IATF em búfalas de leite no anestro sazonal, compararam dois indutores da ovulação, a busarelina (GnRH) e a DES, aplicada intramuscularmente 24 horas antes da IATF, visando otimizar a TP. Os autores verificaram respectivamente para DES e busarelina, melhores TO (37,0 e 16,6%) e melhores TP (41,0 e 20,0%), em favor da DES. Bartolome et al. (25), utilizaram DES sob a forma de implante subcutâneo em vacas leiteiras no puerpério, e verificaram indução da ovulação, ao estimular o desenvolvimento de CL fisiológico. Ambrose et al. (23), verificaram que o implante de DES proporcionou 40,0% de TO (próxima da obtida no presente estudo) e 60,0% das vacas leiteiras falharam em ovular, aumentando contudo as TP em vacas com baixo ECC. Um implante

subcutâneo com 700 mcg de DES aumentou a concentração de LH e de P4, prolongando porém a emergência do terceiro FD após sua retirada (24).

Aspecto ainda a ser considerado, refere-se à dose ideal a ser administrada em vacas de corte. No presente estudo foi injetado 1,0 mg de DES (IM) por animal, 6 horas antes ou no dia da IATF. Bartolome et al. (25), administraram doses de 750 e 1000 mg de DES (sob a forma de implante subcutâneo) em vacas, concluindo que houve redução das dimensões do maior folículo e até falhas nas ovulações dos folículos dominantes no dia 28 após o início do estudo. Estes autores afirmaram que a DES, induziu à ovulação, estimulou o desenvolvimento de um CL normal e prolongou o crescimento folicular no diestro subsequente. Face aos efeitos, tipo pulverizados (esparços), é oportuno comentar que as doses utilizadas no implante subcutâneo foram elevadas, abrindo a possibilidade de influenciar as ações da DES no eixo hipotálamo-hipófise-gônadas. Consideramos oportuna a sugestão de que em futuros estudos, a DES possa ser utilizada, ajustando-se porém a dose nos protocolos de IATF (25).

Visando impactar os melhores efeitos sobre a ovulação e aumento consequente da TP, parece-nos portanto, que a DES deva ser administrada 24 horas da IATF em vacas primíparas *Bos indicus*, mesmo nos protocolos com emprego de BE ou de CE. Recomenda-se outras pesquisas a respeito da DES injetável em protocolos de IATF, em função da escassez de dados que significativamente concedam suporte aos efeitos da DES em bovinos de corte. O presente estudo, reveste-se de caráter inovatório e inédito, uma vez que a DES foi administrada intramuscularmente, revelando-se uma substância indutora da ovulação nos protocolos de IATF, reiterando que novas pesquisas devam ser encetadas com esta droga.

Outro ponto relevante a ser considerado, refere-se ao uso da DES em vacas primíparas, as quais, destacam-se por apresentarem maiores dificuldades à ciclicidade fisiológica no puerpério (26). Muito embora o uso da DES no GDES e GDES6 não tenha resultado em diferença significativa sobre o GNDES, observou-se uma TP em 3,2 e 12,7 % respectivamente maior que a do grupo controle.

Adicionalmente, foram executadas análises estatísticas da possível influência do ECC com anestro sobre as TP na IATF, da TP dos touros, assim como a TP total, não se verificando diferenças, resultados estes não consistentes com os de Ferreira et al. (27), os quais trabalharam com animais cujo ECC foi nitidamente inferior ao do presente estudo. As não-diferenças na TP no presente estudo poderiam ser atribuídas a que os animais encontravam-se com ECC entre 2,7 a 4,0, diferentemente do ECC verificado nos animais estudados por Ferreira et al.(27). Adicionalmente, confrontou-se a condição de anestria nos animais versus TP na IATF, e TP dos touros, não se constatando diferenças.

CONCLUSÕES

O uso da DES como indutora da ovulação no dia da IATF ou 6 horas antes, mostrou melhoria na TP em números absolutos nos grupos tratados com a DES frente ao controle dadas as taxas de prenhez; as variáveis ECC, dias abertos e as condições de anestro ou ciclicidade verificadas não influenciaram as TP à IATF, aos 60 dias e ao final da EM.

REFERÊNCIAS

1. Lee MS, Rahman MS, Kwon WS, Chung HJ, Yang BS, Pang MG. Efficacy of four synchronization protocols on the estrus behavior and conception in native Korean cattle (Hanwoo). *Theriogenology*. 2013;80:855-61.
2. Chanvallon A, Coyral-Castel S, Gatien J, Lamy JM, Ribaud D, Allain C, et al. Comparison of three devices for the automated detection of estrus in dairy cows. *Theriogenology*. 2014;82:734-41.
3. Lane EA, Austin EJ, Crowe MA. Oestrous synchronization in cattle – Current options following the EU regulations restricting use of oestrogenic compounds in food-producing animals: a review. *Anim Reprod Sci*. 2008;109:1-16.
4. Johnson, SK. Possibilities with today's reproductive technologies. *Theriogenology*. 2005;64:639-56.
5. Baruselli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bo GA. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci*. 2004;82-83:479-86.
6. Butler SAA, Phillips NJ, Boe-Hansen GB, Bo GA, Burns BM. Ovarian responses in *Bos indicus* heifers treated to synchronize ovulation with intravaginal progesterone releasing devices, estradiol benzoate, prostaglandin F2 α and equine chorionic gonadotrophin. *Anim Reprod Sci*. 2011;129:118-26.
7. Souza ALB, Kozicki LE, Pereira JFS, Segui MS, Weiss RR, Bertol MAF. Eficiência da gonadotrofina coriônica equina (eCG) e do desmame temporário (DT) em protocolos para a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em vacas Nelore, previamente tratadas com progesterona (P4) e Benzoato de Estradiol (BE). *Arch Vet Sci*. 2015;20:22-9.
8. Sá Filho OG, Meneghetti M, Peres RFG, Lamb GC, Vasconcelos JLM. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology*. 2009;72:210-8.
9. Sá Filho MF, Ayres H, Ferreira RM, Marques MO, Reis EL, Silva ECP, et al. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*). *Cows. Theriogenology*. 2010;73:651-8.
10. Macmillan KL, Burke CR. Effects of estrus cycle control on reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci*. 1996;42:307-20.
11. Kozicki LE, Lopes HB, Feroldi TM, Cordeiro CG, Foltran GB, Segui MS, et al. Deslorelin as inductor of ovulation in *bos taurus* x *bos indicus* after previous exposure to intravaginal progesterone. *Acad J Agric Res*. 2013;1:36-8.
12. Frares LF, Weiss RR, Kozicki LE, Santangelo RP, Abreu RA, Santos IW, et al. Estrus synchronization and Fixed Time Artificial Insemination (FTAI) in dairy buffaloes during seasonal anestrus. *Braz Arch Biol Technol*. 2013;56:575-80.

13. Padula AM, Macmillan KL. Reproductive responses of early postpartum dairy cattle to continuous treatment with a GnRH agonist (deslorelin) for 28 days to delay the resumption of ovulation. *Anim Reprod Sci.* 2002;70:23-36.
14. Öztürk OA, Cirit Ü, Baran AK. Is Doublesynch protocol a new alternative for timed artificial insemination in anestrus dairy cows. *Theriogenology.* 2010;73:568-76.
15. Lowman BG, Scott N, Somerville S. Condition scoring beef cattle. Edingburgh: East of Scotland College of Agriculture; 1976. (Bulletin 6).
16. Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbson JR, Kot K. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod.* 1996;55:1187-94.
17. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. *Theriogenology.* 1995;44:915-23.
18. Gaievski FR, Lamb GC, Weiss RR, Bertol MAF, Segui MS, Abreu ACMR, et al. Gonadotropin releasing hormone (GnRH) and equine chorionic gonadotropin (ECG) improve the pregnancy rate on protocol 1s for timed-artificial insemination in beef cattle. *Vet Zootec.* 2015;22:471-80.
19. Sá Filho OG, Vasconcelos JLM. Treatments to optimize the use of artificial insemination and reproductive efficiency in beef Cattle under tropical environments. *Vet Med Int.* 2011:1-10.
20. Wiltbank MC, Pursley JR. The cow as an induced ovulator: timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology.* 2014;81:170-85.
21. Demeterco D, Henry DD, Mercadante VRG, Lamb GC, Gaievs FR, Weiss B, et al. The effects of intramuscular or intravenous injections of gonadotropin releasing hormone at fixed-time artificial insemination on pregnancy rates of *Bos indicus* beef cows. *Braz Arch Biol Technol.* 2014;57:361-6.
22. Barreiros TRR, Blaschi W, Santos GMG, Morotti F, Andrade ER, Baruselli PS, Seneda MM. Dynamics of follicular growth and progesterone concentrations in cyclic and anestrus suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with progesterone, equine chorionic gonadotropin, or temporary calf removal. *Theriogenology.* 2014;81:651-6.
23. Ambrose JD, Pires MFA, Moreira F, Diaz T, Binelli M, Thatcher WW. Influence of deslorelin (GnRH-Agonist) implant on plasma progesterone, first wave dominant follicle and pregnancy in dairy cattle. *Theriogenology.* 1998;50:1157-70.
24. Rajamahendran R, Ambrose JD, Schmitt EJP, Thatcher MJ, Thatcher WW. Effects of buserelin injection and deslorelin (GnRH-Agonist) implants on plasma progesterone, LH, accessory CL formation, Follicle and corpus luteum dynamics in Holstein cows *Theriogenology.* 1998;50:1141-55.
25. Bartolome JA, Santos JEP, Pancarci SM, Melendez P, Artech ACM, Hernandez O, et al. Induction of ovulation in nonlactating dairy cows and heifers using different doses of a deslorelin implant. *Theriogenology.* 2004;61:407-19.

26. Mossman DH, Hanly GJ. A theory of beef production. N Z Vet J. 1977;25:96-100.
27. Ferreira MCN, Miranda R, Figueiredo MA, Costa OM, Palhano HB. Impacto da condição corporal sobre a taxa de prenhez de vacas da raça nelore sob regime de pasto em programa de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Semina Cienc Agrar. 2013;34:1861-8.

Recebido em: 31/03/2016

Aceito em: 15/01/2017

PERFIL DOS PRODUTORES RURAIS DE DOIS ASSENTAMENTOS NOS MUNICÍPIOS DE BREJO ALEGRE E BIRIGUI, ESTADO DE SÃO PAULO

Miriam Yumi Makatu^{1*}

José Antonio Soares²

Lucas Vinicius Shigaki de Matos³

Willian Marinho Dourado Coelho⁴

Fabio Fernando Ribeiro Manhoso⁵

Carlos Noriyuki Kaneto⁴

Katia Denise Saraiva Bresciani^{3,4}

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil do produtor rural de dois Assentamentos localizados nos Municípios de Brejo Alegre e Birigui, estado de São Paulo. Um total de 66 propriedades foi visitado, entrevistando-se o membro familiar que possuía maior relacionamento com as atividades econômicas. De acordo com suas respostas, as propriedades apresentavam em média 18,4 hectares, sendo 81,8% destinados à bovinocultura, 69,7% à agricultura (soja, milho e sorgo), 47% à olericultura, 34,9% cultivavam eucalipto e uma minoria, 3%, destinavam parte da área à fruticultura. Em relação às espécies de animais nas propriedades predominam cães (93,9%), a seguir aves (84,8%) e bovinos (80,3%). Os lotes possuíam um mínimo de uma e o máximo de cinco casas e com uma média de três filhos por família. Sobre benfeitorias e construções, verificou-se que todas possuíam cerca; 80,3% curral; 28,7% barracão e 1,5% silo. O tempo de permanência do proprietário do Assentamento I era de 25 anos e do Assentamento II a posse ocorreu há 12 anos. Com relação à faixa etária dos titulares, observou-se que apresentavam idade avançada, sendo que 34,8% tinham mais de 60 anos. Quanto à escolaridade dos titulares do lote, os dados apontaram que 19,7% eram analfabetos e a maioria, 42,4%, possuíam o ensino fundamental incompleto. Antes da posse da terra, a maioria dos produtores, 87,8%, já se dedicava à atividade agropecuária. Apenas 19,7% dos donos necessitaram de algum tipo de financiamento para a construção de suas casas, todas as casas eram de alvenaria; o abastecimento hídrico predominante era por poços e nenhum tipo de análise ou tratamento de água era realizado. A maioria dos moradores, 95,4%, possuía fossa rudimentar; um entrevistado citou não possuir energia elétrica; 89,4% do lixo era coletado pela prefeitura. Quanto ao acesso à comunicação, 92,3% escutavam rádio; todos possuíam televisão e 15,4% computador com acesso à internet. Como meio de transporte, 44,6% possuíam moto e 72,3% automóvel. Os dados obtidos permitem conhecer a situação dos produtores, permitindo o planejamento de um trabalho de assistência técnica.

Palavras-chave: agricultura familiar, reforma agrária, perfil socioeconômico, assentamentos.

¹ Zootecnista, mestre em Ciência Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba – Unesp.

² Faculdade de Tecnologia de Itapetininga (FATEC), Itapetininga, SP, Brasil, Núcleo Integrado de Estudos Superiores de Administração e Gestão; Fundação Karnig Bazarian (FKB), Faculdades Integradas de Itapetininga (FII), Itapetininga, SP, Brasil.

³ Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

⁴ Faculdade de Medicina Veterinária, – Unesp, Araçatuba, São Paulo, Brasil.

⁵ Universidade de Marília (Unimar), Marília, São Paulo, Brasil.

* Contato principal para correspondência: yumi_jpbr@hotmail.com

PROFILE OF FARMERS FROM TWO SETTLEMENTS IN THE MUNICIPALITIES OF BREJO ALEGRE AND BIRIGUI, STATE SÃO PAULO

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the profile of farmers from two settlements located in the municipalities of Brejo Alegre and Birigui, state São Paulo. A total of 66 properties were visited, interviewing the family member who had the greater relationship with economic activity. According to their responses, the properties had an average of 18.4 hectares and 81.8% for the cattle, 69.7% for agriculture (soy, corn and sorghum), 47% for horticulture, 34.9% cultivated eucalyptus and a minority, 3% of the area, destined to fruit production. In relation to animal species in the properties, dogs predominate (93.9%), then birds (84.8%) and calves (80.3%). The lots had a minimum of one and a maximum of five houses and an average of three children per family. About constructions and improvements, it was found that all had approximately; 80.3% stall; barrack 28.7% and 1.5% silo. The time permanence of the owner was 25 years in the Settlement II and in the Settlement I possession had occurred 12 years ago. The members had advanced age, on what 34.8% over 60 years. As for schooling of the lot holders, the data showed that 19.7% were illiterate and the majority, 42.4%, had not finished elementary school. Before the ownership of the land, most of the producers, 87.8%, had already been engaged in farming. Only 19.7% of the owners needed some financing for the construction of their houses, all were of masonry; the predominant water supply was by wells and no analysis or water treatment was performed. Most of residents, 95.4%, had rudimentary fossa; one respondent quoted do not have electricity; 89.4% of the waste was collected by the prefecture. Regarding the access to communication, 92.3% listened to the radio; all had television and 15.4%, computer with internet access. For transportation, 44.6% had motorcycle and 72.3% car. Thus, from the evaluation of the profile of the settlers, we obtained valuable data in order to know the real situation of producers, enabling planning a technical assistance work.

Keywords: family agriculture, agrarian reform, socioeconomic profile, settlement.

PERFIL DE LOS AGRICULTORES EN DOS ASENTAMIENTOS EN LOS MUNICIPIOS DE BREJO ALEGRE Y BIRIGUI, ESTADO DE SÃO PAULO

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el perfil de los agricultores de dos asentamientos ubicados en los municipios de Brejo Alegre y Birigui, Estado de São Paulo. Un total de 66 propiedades fueron visitadas, se preguntó al miembro de la familia a que tenía una mayor relación con la actividad económica. De acuerdo con sus respuestas, las propiedades tenían un promedio de 18,4 hectáreas y 81,8% para el ganado, al 69,7% la agricultura (soja, maíz y sorgo), 47% para la horticultura, el 34,9% de eucalipto cultivado y una minoría, 3% de la superficie destinada a la producción de fruta. En relación con las especies animales predominan propiedades con perros (93,9%), a continuación, aves (84,8%) y terneros (80,3%). Muchos tenían un mínimo de uno y un máximo de cinco casas y un promedio de tres hijos por familia. Acerca de construcciones y mejoras se encontró que todos tenían aproximadamente: corral de 80,3%; galpón 28,7% y 1,5% silo. El tiempo que se queda el propietario Asentamiento I fue de 25 años, en el Asentamiento II y la posesión ocurrió hace 12 años. En cuanto a la edad de los miembros, se observó que tenían la edad avanzada de los cuales 34,8% más de 60 años. En cuanto a la educación de los titulares del lote, los datos mostraron que el 19,7% eran analfabetos y la mayoría, el 42,4% no había terminado la escuela primaria. Antes de que la propiedad de la tierra, la mayor parte de los productores, el 87,8% ya se dedicaba a la agricultura. Sólo el 19,7%

de los propietarios necesitaba un poco de financiamiento para la construcción de sus casas, todos eran de albañilería; el abastecimiento de agua predominante era de pozos y ningún tipo análisis o tratamiento de agua se llevó a cabo. La mayoría de los residentes, 95,4% tenían fosa rudimentaria; uno de los encuestados citó no tener electricidad; 89,4% de los residuos se recoge por la municipalidad. En cuanto a acceso a la comunicación 92,3% escuchaba la radio; todos tenían la televisión y el 15,4% de ordenadores con acceso a Internet. Para el transporte, el 44,6% tenían bicicleta y 72,3% coche. Así, desde la evaluación del perfil de los colonos, se obtuvieron datos valiosos con el fin de conocer la situación real de los productores, lo que permite la planificación de un trabajo de asistencia técnica.

Palabras clave: agricultura familiar, reforma agrária, perfil socioeconômico, asentamientos.

INTRODUÇÃO

A atividade agropecuária possui grande importância socioeconômica no Brasil e dentro deste cenário a agricultura familiar assume um significativo destaque, que apesar do pouco espaço ocupado para produção agropecuária, segundo os dados do Ministério do Desenvolvimento Agrário (MDA) e Instituto Nacional de Colonização da Reforma Agrária (1) é responsável por 70% dos alimentos que chegam à mesa dos brasileiros. Além disso, é a principal criadora de emprego no campo, gerando 74,4% de todos os serviços no referido setor (2).

Existem 8.763 projetos de assentamentos rurais da reforma agrária no país onde vivem 924.272 famílias e nestes a produção de leite, milho e feijão estão entre os três produtos primários que mais geram renda para estes assentados, conforme constatado por Hackbart (3).

Entre os agricultores familiares a pecuária leiteira é umas das principais atividades desenvolvidas, estando presente em 36% dos estabelecimentos classificados como de economia familiar (4).

O predomínio da extração leiteira nas pequenas propriedades deve-se ao fato de ser considerada vantajosa pelos produtores, porque garante uma renda mensal, oferece poucos riscos de queda brusca da produção, tem uma oscilação de preços relativamente previsível e traz um ganho adicional com a venda dos bezerros. Porém, a dificuldade de manutenção da produção de leite durante o período de estiagem e a ausência, na grande maioria dos lotes, da diversificação produtiva constitui um problema grave para as famílias assentadas (5).

A sazonalidade afeta diretamente os produtores de leite pela redução de sua receita na época da entressafra devido à queda do volume de leite no período, ao mesmo tempo em que eleva os custos de produção, seja pela necessidade de oferecer ao gado volumoso suplementar (silagem de milho, silagem de sorgo, cana e ureia), seja pelo maior uso de concentrados e o maior gasto com mão de obra (6).

Este trabalho foi realizado em dois assentamentos rurais, denominados Assentamento I, localizado em Brejo Alegre (SP) e Assentamento II, localizado em Birigui (SP) que surgiram após a desapropriação da fazenda que pertencia à Empresa J.J. Abdala, em 1986 e 1999, respectivamente. No total foram assentadas 68 famílias, destas 46 no projeto do Assentamento I sendo o restante posteriormente assentadas no Assentamento II.

O presente trabalho teve como objetivo caracterizar o perfil de produtores rurais de dois assentamentos localizados nos municípios de Birigui e Brejo Alegre, São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

O levantamento dos dados foi realizado por meio da aplicação de um questionário socioeconômico junto a 66 famílias dos assentamentos I e II, localizados nos municípios de Brejo Alegre e Birigui, São Paulo. As respostas foram obtidas em visitas aos assentados onde o membro da família mais relacionado com as atividades econômicas da propriedade foi entrevistado. Nas perguntas contemplaram-se um conjunto de variáveis, como o perfil da propriedade (tamanho da área, o tipo de cultura, número de casa por lote, quantidade de moradores no lote, tipos de animais presentes, benfeitorias e equipamentos), o perfil do produtor (idade do titular, quantidade de filhos e grau de escolaridade), as características do domicílio (tipo de recurso utilizado para a construção, tipo de construção, forma de abastecimento e tratamento de água, destino do lixo e do esgoto e tipos de bens duráveis).

Os dados foram organizados na planilha do MS Excel e posteriormente comparados por meio de análises estatísticas descritivas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre as 68 famílias assentadas, em duas não foram encontradas pessoas no momento da entrevista para que pudessem ser entrevistadas.

Na análise das características da propriedade, os terrenos mediam entre 14,5 hectares a 31,3 hectares, estando enquadrados na média encontrada nos estabelecimentos rurais familiares brasileiros, 18,4 hectares, segundo o IBGE (2). As áreas de maior extensão relatadas pertenciam ao Assentamento I; o tamanho do terreno para cada beneficiário era variável, pois a sua base de cálculo vinculava-se a critérios agrônômicos, ambientais e socioeconômicos da área disponível.

Nos assentamentos I e II, localizados nos municípios de Brejo Alegre e Birigui, na região noroeste do Estado de São Paulo, das 66 famílias entrevistadas, 44 eram produtoras de leite, destas 61,4% afirmaram ter esta atividade como a principal fonte de renda. Segundo pesquisa realizada por Sant'Ana et al. (7), nos assentamentos da região de Andradina (SP) a pecuária leiteira foi a principal atividade produtiva. Considerando sua importância e as dificuldades inerentes à mesma implantou-se o projeto de extensão universitária de apoio a pequenas propriedades leiteiras.

Nas 66 propriedades analisadas, a maior parte dessas pessoas destinava as terras para a pecuária (81,8%), com o predomínio para a bovinocultura leiteira, 69,7% reservam pelo menos uma parte do lote para a agricultura cultivando soja e milho durante a safra verão e milho e sorgo durante a safra inverno e 46,7% desenvolviam a olericultura, principalmente as culturas de quiabo, abóbora, mandioca, berinjela e jiló. Uma parte dos produtores, 34,8% cultivavam eucalipto e uma minoria 3% destinavam parte do lote para o cultivo de manga. Verificou-se que 24,2% desenvolviam práticas de agricultura juntamente com a pecuária; 13,6% responderam que destinavam para agricultura, pecuária e também para olericultura.

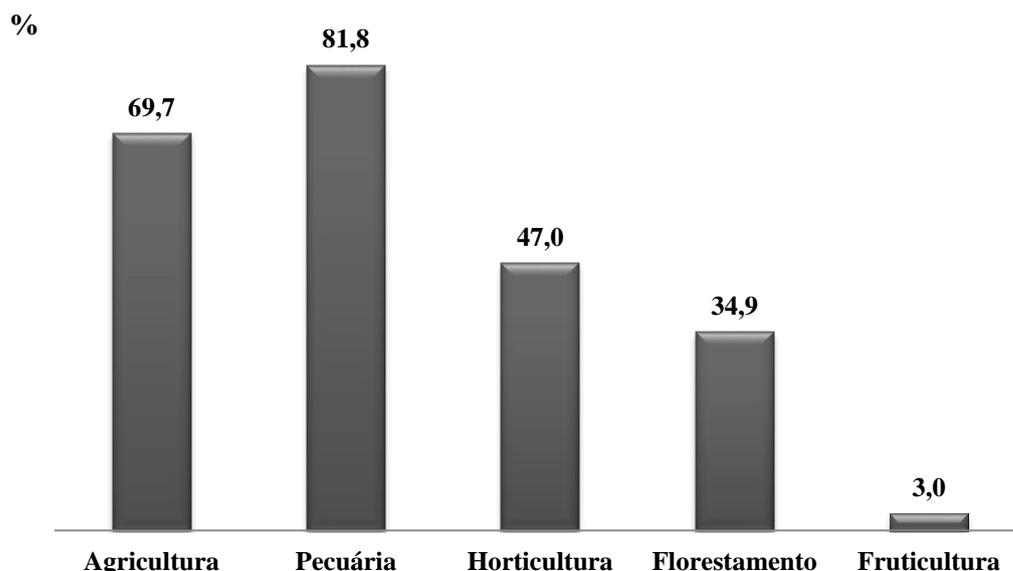


Figura 1. Tipos de atividades econômicas presentes em dois assentamentos rurais localizados nos municípios de Brejo Alegre (SP) e Birigui (SP).

Segundo relatos de alguns produtores, as áreas destinadas para a agricultura e pecuária vêm sofrendo um pequeno decréscimo. No caso da agricultura, este fato tem-se verificado principalmente devido ao alto custo dos insumos agrícolas tornando esta atividade pouco rentável ou até mesmo inviável para o pequeno produtor e, quanto à pecuária leiteira, o principal motivo foi o receio do produtor não se enquadrar nas novas exigências de qualidade que objetiva reduzir o número de bactérias no leite (8). Já o cultivo de hortaliças tem aumentando gradativamente entre as atividades destes agricultores, devido ao acesso aos programas governamentais como, por exemplo, Fome Zero.

Na pesquisa realizada por Vignotto e Tarsiano (9), todas as famílias entrevistadas do assentamento Timboré, pertencentes à Andradina (SP) e Castilho (SP), relataram que possuíam como principal atividade econômica a pecuária leiteira, seguida pelas culturas anuais como milho, feijão e algodão; além disso, produziam café, eucalipto, banana e sorgo com destinação para produção de vassoura. No que se referem às olerícolas, destacava-se a produção de quiabo.

No contexto nacional, segundo França et al. (10), a utilização dos 80,2 milhões de hectares de terra da agricultura familiar 45%, eram destinados às pastagens, enquanto que a área com matas, florestas ou sistemas agroflorestais ocupavam 24%, e as lavouras, 22%. Neste cenário destaca-se a produção de mandioca, feijão, milho, café, arroz, leite e trigo as quais são responsáveis por garantir boa parte da segurança alimentar do país, como importante fornecedora de alimentos para o mercado interno.

Em relação às espécies de animais presentes nas 66 propriedades rurais possuíam em média: quatro cachorros; dois felinos; 37 aves; sete suínos; 23 bovinos; dois equinos; nove ovinos; dois caprinos. Os animais de produção como aves, suínos, ovinos e caprinos são predominantemente para o consumo familiar, o que é um ponto muito importante a ser destacado, pois a produção de autoconsumo gera segurança econômica sendo relevante para permanência do assentado no lote, pois permite que as famílias enfrentem eventuais situações adversas (11).

Entre as 66 famílias entrevistadas, observou-se que 59,1% possuíam uma casa, e 28,3% possuíam duas casas. Observou-se também que as famílias possuíam uma média de três filhos, sendo composta em sua maioria por cinco moradores. Entretanto, havia uma grande variação, já que algumas moradias eram habitadas por vários membros da família. Observou-se que em um lote foram contabilizadas 19 pessoas, enquanto em outros por apenas um morador. Este

índice está acima do tamanho médio encontrado nas famílias brasileiras beneficiadas pela reforma agrária que gira em torno de quatro pessoas, segundo dados da Pesquisa Sobre a Qualidade de Vida, Produção e Renda dos Assentamentos da Reforma Agrária (PQRA) (12). Nas propriedades em que a quantidade de moradores era elevada, apesar da produção do lote ser insuficiente para o sustento de todos, os filhos e familiares continuavam a morar junto com os titulares por não possuírem condições financeiras de sobrevivência em outras localidades; desta forma, muitas vezes residiam na zona rural e se deslocavam diariamente para cidade para trabalharem.

Sobre as benfeitorias e construções existentes, verificou-se que em 66 famílias, 80,3% possuíam curral; 28,7% possuíam barracão e 1,5% possuíam silo para silagem de milho. Dentre as benfeitorias destinadas para a produção encontrada nos assentamentos da região de Andradina, observou-se que em 80% das propriedades havia curral; em 12% havia cerca de arame e em 10% havia silos, as quais, apesar de constituírem-se em estruturas simples, representavam importância relevante no processo produtivo (13). Em relação aos equipamentos e máquinas, verificou-se que das 66 famílias 56,8% possuíam trator; 52,9% possuíam arado; 39,2% possuíam grade de tração mecânica; 47,1% possuíam plantadeira; 43,1% possuíam pulverizador; 39,2% possuíam carreta; 49% possuíam triturador; 17,6% possuíam forrageira; 33,3% possuíam ordenha mecânica; 11,8% possuíam tanque de expansão. À medida que a situação econômica melhorava, os produtores tendiam a investir mais em sua propriedade, e também na compra de equipamentos agrícolas. No assentamento Anhumas, no município de Castilho, apenas vinte por cento dos entrevistados possuíam trator e trinta por cento possuíam triturador, a grande maioria recorria a empréstimos e alugueis para o manejo geral do lote, ou realizavam manualmente, eventualmente com a ajuda de animais (14).

Quanto às características dos assentados, o tempo de permanência do proprietário do assentamento II perdurava por 25 anos, apenas três das famílias entrevistadas tomaram posse posteriormente, tendo então 19 anos de permanência. Neste assentamento ocorreram duas desistências do projeto, e os novos proprietários já permaneciam no lote por cinco e seis anos, respectivamente. No assentamento I, a posse teria ocorrido há 12 anos, e durante o período não ocorreu nenhuma desistência. Este índice mostra certa estabilidade desses assentados nos projetos que apesar das dificuldades muitos dos trabalhadores continuam lutando pela permanência em suas terras mostrando uma realidade contrária ao que muitas vezes é veiculado sobre projetos de assentamentos nos meios de comunicação.

Com relação à faixa etária, observou-se que das 66 famílias 34,8% dos titulares tinham mais de 60 anos; apenas 4,55% tinham menos de 40 anos, sendo que o mais jovem tinha 34 anos e o produtor mais idoso tinha 87 anos. Nos assentamentos da região de Andradina pesquisado por Sant'Ana et al. (15) também foi encontrado de um modo geral uma idade avançada dos titulares dos lotes, com uma faixa etária acima de 50 anos possuindo um agravante de apresentarem número considerável de produtores na faixa etária entre 61 a 70 anos.

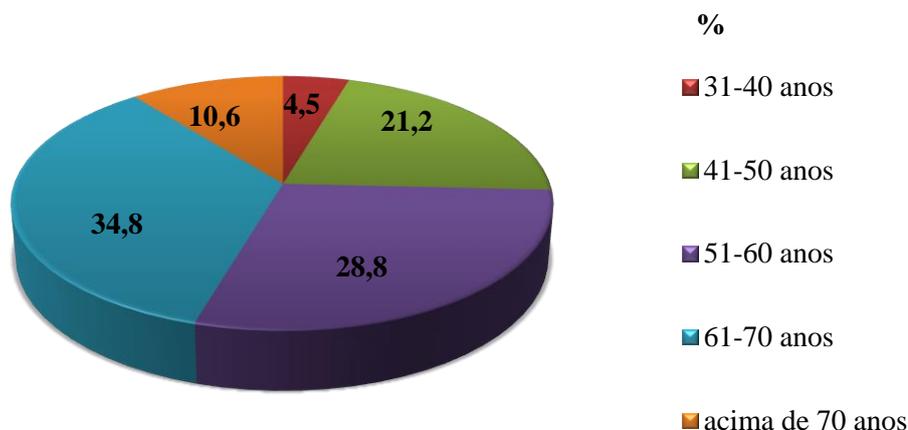


Figura 2. Faixa etária dos titulares em assentamentos de Brejo Alegre e Birigui (SP).

Os responsáveis pelos lotes possuem um baixo grau de escolaridade. Das 66 propriedades, observou-se uma taxa de 19,7% de analfabetos e a sua grande maioria possuía apenas o ensino fundamental incompleto (42,4%). O analfabetismo nos assentamentos do Brasil apresenta um índice de 16,4%, no entanto a proporção de assentados é muito semelhante à média nacional que possui apenas o ensino fundamental incompleto (42,9%) segundo Pesquisa Sobre a Qualidade de Vida, Produção e Renda dos Assentamentos da Reforma Agrária (12). Observou-se que o analfabetismo apresenta uma relação direta com os produtores mais idosos. O baixo índice de escolaridade pode ser explicado pelo difícil acesso a escola e pela necessidade de trabalhar para sobrevivência, principalmente para o mais velhos, de maior idade. O baixo nível de instrução formal no campo é um dos entraves que dificulta a inovação tecnológica e aumenta consideravelmente na medida em que se registra o analfabetismo (16). Essa é uma característica que deve ser observada na assistência técnica, devendo-se apropriar o método de comunicação a estes produtores, pois apresentam uma maior dificuldade de assimilação das inovações tecnológicas.

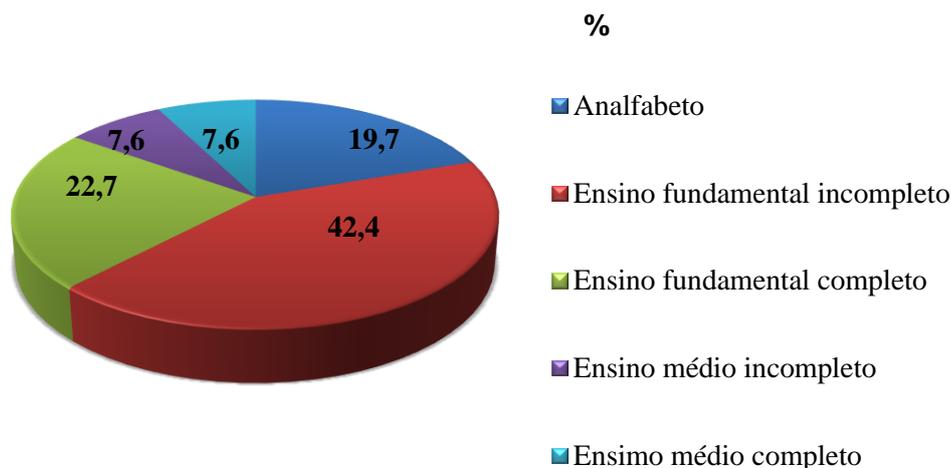


Figura 3. Nível de escolaridade dos titulares dos lotes em assentamentos de Brejo Alegre e Birigui (SP).

Antes da posse da terra, dos 66 produtores, 87,9% já se dedicavam à atividade agropecuária como boia-fria, arrendatários, retireiros; e apenas uma minoria (10,6%) não tinha nenhum contato com a atividade no campo. Na região de Andradina, nos assentamentos Belo Monte e Aroeira a maior parte dos titulares possuíam alguma experiência agrícola antes da implantação no projeto de assentamento, sendo de 77,30% e 100%, respectivamente (7).

Quanto à característica do domicílio, das 66 famílias entrevistadas, a maioria respondeu ter construído com recurso próprio (53%), enquanto 6,1% por meio de financiamento. Todas as casas eram de alvenaria, possuíam abastecimento hídrico por meio de poço (cacimba ou semi-artesiano) e nenhum tipo de análise ou tratamento era realizado na água consumida por estes moradores, o que é preocupante, pois a água é um dos principais fatores de risco à saúde dos seres vivos. Já no estudo de Castro et al. (17), apesar de setenta e nove por cento dos domicílios terem abastecimento com água tratada, o uso de água proveniente de poços e minas era comum no Assentamento Primeiro de Junho de Tumiritinga, Minas Gerais.

Em relação ao destino do esgoto, das 66 famílias entrevistadas, quase todos os moradores (95,4%) afirmaram possuir fossa rudimentar e apenas um morador declarou que lançava o esgoto em uma vala, mas pretendia construir uma fossa séptica assim que possuísse recurso. Na pesquisa realizada por Veiga e Burlandy (18) em um assentamento rural do Rio de Janeiro quanto às condições de saneamento dos domicílios, verificou-se que 34,5% escoavam esgoto por fossa rudimentar. Assim como nesses assentamentos, é comum nas zonas rurais brasileiras a utilização de fossa sem nenhum revestimento, no qual os dejetos tem um contato direto com o solo, presente em quase sessenta por cento dos domicílios rurais (19).

Apenas uma família não possuía energia elétrica. Segundo a Pesquisa sobre a Qualidade de Vida, Produção de Renda nos Assentamentos da Reforma Agrária, PQRA (12), setenta e três por cento dos assentados dizem possuir energia elétrica.

Das 66 propriedades, em 89,4% o lixo era coletado pela prefeitura de Brejo Alegre uma vez por semana, sendo levado ao aterro sanitário e, nos locais não percorridos pelo caminhão de lixo, o mesmo era queimado. No assentamento rural do Rio de Janeiro, em 58,2% dos domicílios o lixo era queimado ou enterrado no lote, e em 19,7% era jogado em terreno baldio (18). No meio rural, a forma predominante de tratamento do lixo é a queima ou enterramento

na propriedade, representando cinquenta e oito por cento do total. Isso evidencia um problema com relação à logística do serviço de coleta de lixo para atender as áreas rurais e também o baixo potencial dos domicílios do campo em reaproveitar os resíduos, principalmente os orgânicos, que poderiam ser utilizados na adubação da lavoura segundo Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios, (19).

O tipo de acesso à comunicação mais comum era a televisão, que estava presente em todas as casas. Das 66 famílias, 92,3% possuíam rádio e 36,9% possuíam computador. Apenas 15,4% possuíam internet. O meio de locomoção mais presente era os automóveis, perfazendo 72,3% e em seguida, as motos, 47,7%. No trabalho de Bezerra e Sant' Ana (20) no assentamento Anhumas, Castilho- SP, o meio de locomoção próprio existia em 45% das propriedades, o que fazia a grande maioria depender basicamente do transporte público para se deslocar.

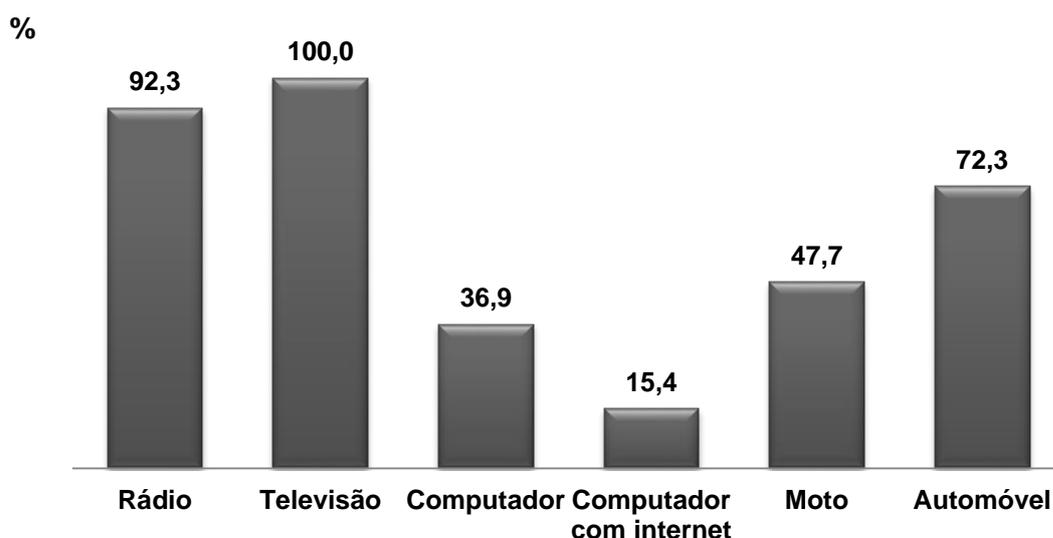


Figura 4. Tipo de bens duráveis presentes nas propriedades dos assentamentos de Brejo Alegre e Birigui (SP).

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, pode-se inferir que a maioria dos assentados entrevistados era produtores de leite, tinha baixo grau de escolaridade e pouco acesso à tecnologia, particularmente à informática.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária [homepage na internet]. Terra da gente. [citada 2012 Ago 21]. Disponível em: http://www.mda.gov.br/portal/publicacoes/pageflipview?pageflip_id=3638155.
2. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [homepage na internet]. Censo Agropecuário 2006. [citada 2012 Ago 21]. Disponível em: www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/agri_familiar_2006/familia_censoagro2006.pdf.

3. Hackbart R. Reforma agrária: uma agenda atual. Folha de São Paulo [Internet]. 2011 [citada 2012 Ago. 21]; Jan. 20: [cerca de 1 p.]. Disponível em: www.incra.gov.br/impresso-reforma-agraria-uma-agenda-atual.
4. Guanziroli CE, Cardim SECS. Novo retrato da agricultura familiar: o Brasil redescoberto. Brasília: Incra; 2000.
5. Colomba AS, Sant'Ana AL, Araujo CM, Vercese F, Bouzo JC. Caracterização da pecuária leiteira no assentamento Estrela da Ilha, Ilha Solteira – SP. In: 45º Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural; 2007 Jul 22-25; Londrina. Anais. Londrina: Sober; 2007.
6. Junqueira RVB, Zoccal R, Miranda JEC. Análise da sazonalidade da produção de leite no Brasil. In: 10 Minas Leite; 2008 Nov 25-26; Juiz de Fora. Anais. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite; 2008.
7. Sant'Ana AL, Tarsitano MAA, Araújo CAM, Bernandes EM, Costa, SMAL. Estratégia de produção e comercialização dos assentados da região de Andradina, Estado de São Paulo. Informações Econômicas. 2007; 5: 29-41.
8. Brasil. Instrução normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite. Diário Oficial da União, Brasília (DF), 2002 Set 21; Seção 1:1-13.
9. Vignotto FM, Tarsitano MAA. Produção e comercialização do leite no assentamento Timboré (SP): o caso da cooperativa agropecuária Timboré, Andradina e Castilho. Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural – SOBER, 2008. [citada 2012 Set 3]. Disponível em: <http://ageconsearch.umn.edu/handle/107934>.
10. França CG, Grossi ME, Marques VPMA. O censo agropecuário 2006 e a agricultura familiar no Brasil. Brasília: MDA; 2009.
11. Santos IP, Ferrante VLSB. Da terra nua ao prato cheio: produção para o consumo familiar nos assentamentos rurais do estado de São Paulo. Araraquara: Fundação Itesp/ Uniará; 2003.
12. Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária [homepage na internet]. Pesquisa sobre a qualidade de vida, produção e renda dos assentamentos da reforma agrária. [citada 2012 Set 1]. Disponível em: <http://pqra.incra.gov.br/>.
13. Simões AC. Caracterização dos agricultores familiares – agentes multiplicadores – em assentamentos rurais da região de Andradina (SP) [dissertação]. Ilha Solteira: Universidade Estadual Paulista; 2006.
14. Bezerra TF, Sant'Ana AL. Caracterização das famílias e das atividades de produção e comercialização do Assentamento Anhumas, em Castilho-SP. In: 43º Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural; 2005 Jul 24-27; Ribeirão Preto. Anais. Ribeirão Preto: Sober; 2005.

15. Sant'Ana AL, Buozo JC, Vercese F, Tarsitano MA, Costa, SMAL. Caracterização das famílias e da produção de quatro assentamentos da região de Andradina- SP. In: In: 44º Congresso da Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural; 2006 Jul 23-27; Fortaleza. Anais. Fortaleza: Sober; 2006.
16. Zoccal R, Souza AD, Gomes AT, Leite JLB. Produção de leite na agricultura familiar. In: 42º Congresso Brasileiro de Economia e Sociologia Rural; 2004 Jul 25-28; Cuiabá. Anais. Cuiabá: Sober; 2004.
17. Castro TG, Campos FM, Priore SE, Coelho FMG, Campos MTFS, Franceschini SCC, et al. Saúde e nutrição de crianças de 0 a 60 meses de um assentamento de reforma agrária, Vale do Rio Doce, MG, Brasil. *Revista Nutrição*. 2004; 17: 167-176.
18. Veiga GV, Burlandy L. Indicadores sócio-econômicos, demográficos e estado nutricional de crianças e adolescentes residentes em um assentamento rural do Rio de Janeiro. *Caderno Saúde Pública*. 2001; 6: 1465-1472.
19. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [homepage na internet]. Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios –2008. [citada 2012 Set 1]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/trabalhoerendimento/pnad2008/default.shtm>.
20. Bezerra TF, Sant'Ana AL. Evolução das atividades produtivas do assentamento Anhumas: lutas e percalços. In: 44º Congresso da Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural; 2006 Jul 23-27; Fortaleza. Anais. Fortaleza: Sober; 2006.

Recebido em: 23/07/2015

Aceito em: 11/04/2017

HISTOPATHOLOGICAL ASSESSMENT OF THE LIVER DURING EXPERIMENTAL INFECTION WITH *Leishmania (Leishmania) chagasi* IN IMMUNOSUPPRESSED BALB/C MICE

Ana Paula Ferreira Lopes Corrêa¹
Maria Cecilia Rui Luvizotto²
Silvio Luis de Oliveira³
Gabriela Capriogli Oliveira⁴
Helio Langoni^{4*}

ABSTRACT

BALB/c mice were experimentally infected with *L. (L.) chagasi* and immunosuppressed for the study of the histopathological changes present in their liver. The 96 studied mice were subdivided into four groups: control (I) – no treatment; immunosuppressed (II) – treatment with dexamethasone (DXM) and pentoxifylline (PTX); infected (III) – infection with *L. (L.) chagasi*; and infected and immunosuppressed (IV) - infection with *L. (L.) chagasi* and treatment with DXM and PTX. The day of infection was considered the day zero and immunosuppression occurred at 60 days P.I. Samples were obtained at distinct moments, 15, 30, 60, 75 and 90 days P.I., by collecting liver fragments for histopathological assessment. There was progressive and constant inflammatory reaction of inflammatory infiltrate and complete granulomas, which was renewed in all observation phases. For inoculated groups, the presence of amastigotes was confirmed by means of immunohistochemistry. The immunosuppressed group showed weak inflammatory reaction and rare incomplete granulomas. Immunosuppression influenced the immune response of the liver, which is capable of controlling murine visceral leishmaniasis.

Keywords: visceral leishmaniasis, BALB/c, immunosuppression, immunohistochemistry, liver.

AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DO FÍGADO DURANTE A INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *Leishmania chagasi (Leishmania)* EM CAMUNDONGOS BALB / C IMUNOSSUPRIMIDOS

RESUMO

Camundongos BALB / c foram infectados experimentalmente com *L. (L.) chagasi* e imunossuprimidos para estudar as alterações histopatológicas no fígado presente. Os 96 ratos estudados foram divididos em quatro grupos: controle (I) - sem tratamento; imunossuprimidos (II) - O tratamento com dexametasona (DXM) e pentoxifilina (PTX); infectado (III) - infecção por *L. chagasi (L.)*; e infectados e imunodeprimidos (IV) - infecção por *L. chagasi (L.)* e tratamento com DXM e PTX. O dia da infecção foi considerado o dia zero e imunossupressão ocorreu 60 dias P.I. As amostras foram obtidas em vários momentos, 15, 30, 60, 75 e 90 dias P.I., por coleta de fragmentos de fígado para avaliação histopatológica. Houve constante reação

¹ PhD in Tropical Diseases – Department of Tropical Diseases and Imaging Diagnosis, Botucatu Medical School, UNESP - Univ Estadual Paulista, Botucatu Campus, São Paulo State, Brazil.

² Department of Animal Clinics, Surgery and Reproduction, School of Veterinary Medicine, UNESP - Univ Estadual Paulista, Araçatuba Campus, São Paulo State, Brazil.

³ Department of Microbiology and Immunology, Biosciences Institute, UNESP - Univ Estadual Paulista, Botucatu Campus, São Paulo State, Brazil.

⁴ Department of Veterinary Hygiene and Public Health, School of Veterinary Medicine and Animal Science, UNESP - Univ Estadual Paulista, Botucatu Campus, São Paulo State, Brazil.

* Correspondence to Helio Langoni: hlangoni@fmvz.unesp.br

inflamatória e infiltrado inflamatório progressivo e granulomas completos, que foi renovado em todas as fases de observação. Para os grupos inoculados, a presença de amastigotas foi confirmada por imuno-histoquímica. O grupo de imunodeprimidos apresentou uma resposta inflamatória fraca e granulomas raros e incompletos. Imunossupressão influenciou a resposta imune do fígado, que é capaz de controlar a leishmaniose visceral murina.

Palavras-chave: leishmaniose visceral, BALB / c, imunossupressão, imuno-histoquímica, fígado.

EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICO DEL HÍGADO DURANTE LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL POR *Leishmania chagasi* (*Leishmania*) EN RATONES BALB / C CON INMUNOSUPRESIÓN

RESUMEN

Ratones BALB / c se infectaron experimentalmente con *L. chagasi* (L.) y inmunosuprimidos para el estudio de los cambios histopatológicos presentes en su hígado. Los 96 ratones estudiados se dividieron en cuatro grupos: control (I) - sin tratamiento; inmunosuprimidos (II) - El tratamiento con dexametasona (DXM) y pentoxifilina (PTX); infectada (III) - la infección con *L. chagasi* (L.); y infectada y inmunosuprimidos (IV) - infección con *L. chagasi* (L.) y el tratamiento con DXM y PTX. El día de la infección fue considerado como el día cero y la inmunosupresión se produjo a 60 días P.I. Las muestras se obtuvieron en momentos distintos, 15, 30, 60, 75 y 90 días P.I., mediante la recopilación de fragmentos de hígado para la evaluación histopatológica. Hubo reacción inflamatoria progresiva y constante de infiltrado inflamatorio y granulomas completos, que fue renovado en todas las fases de observación. Para los grupos inoculados, la presencia de amastigotes se confirmó por medio de inmunohistoquímica. El grupo inmunosuprimidos mostró una reacción inflamatoria débil y granulomas incompletas raras. Inmunosupresión influyó en la respuesta inmune del hígado, que es capaz de controlar la leishmaniosis visceral murino.

Palabras clave: la leishmaniasis visceral, BALB / c, inmunosupresión, inmunohistoquímica, el hígado.

INTRODUCTION

Leishmanias are intracellular parasites of monocytes and macrophages of lymphoid organs like the spleen, the lymph nodes, the bone marrow and the liver. Visceral leishmaniasis (VL) is the most severe manifestation of this disease, which can be fatal, and is among the six endemic diseases considered priority in the world (1). An estimated 500 thousand new cases occur every year in the world (2), while in Brazil at least 3,000 confirmed cases are annually recorded (3).

Co-infection with human immune deficiency virus/acquired immune deficiency syndrome (HIV/aids) is possible, and the World Health Organization (WHO) estimates that of the 30 million people infected by HIV in the world, one-third lives in endemic areas for leishmaniasis (4). This association decreases the life expectancy of patients since HIV/aids causes more rapid visceralization of the infection and human VL shortens the virus latency period (5).

Immunosuppressive therapy modifies the immune response during infection with *Leishmania* spp. Dexamethasone (DXM) has anti-inflammatory and immunosuppressive action (6), inhibiting the transcription of genes that involve innate immunity proteins (7). It also acts as a potent regulator of the adaptive immune response, suppressing maturation, differentiation

and proliferation of T and B cells (8). Pentoxifylline (PTX) has immunomodulatory, anti-inflammatory and antitumorigenic action, inhibiting the production of tumor necrosis factor- α (TNF- α) *in vivo* and *in vitro* (9), besides interfering with the synthesis of other cytokines like IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12 and interferon-gamma (INF- γ) (9,10,11). On the other hand, it stimulates the production of IL-4, IL-10 and IL-13 (12).

Both DMX and PTX act by determining changes in the immune response of Th1 to Th2 profile, mimicking the stress system activation with the release of glucocorticoids, which in turn prevent the release of pro-inflammatory cytokines and their products. Thus, they activate macrophages and, consequently, tissue injury (12). Either isolated or in association, they alter the course of toxoplasmosis and leishmaniasis in murine models (13,14).

Murine models have been widely used in infection with *Leishmania* spp. to study the parasite life cycle, the infection pathogenesis and the parasite-host relationship. It must be emphasized that, besides the genetic characteristics of mice, which define the infection progression or resolution patterns, additional factors may influence the disease evolution such as the inoculum, the inoculation site, and the parasite strain and its origin or isolation source (15).

Development of Th1 response by resistant mouse strains induce the production of interferon-gamma (INF- γ) and the development of minor lesions and low parasitemia. Conversely, susceptible mice induce an inappropriate immune response, developing larger lesions and high parasitemia, and are not capable of controlling the disease, dying due to the infection (16).

During VL, the multiplication of amastigotes in mononuclear phagocytic cells of organs like the spleen, the liver and the bone marrow (17) causes hyperplasia and hypertrophy of lymphoid tissue cells. As the infection progresses, other organs like the lungs and the kidneys are also affected (18). In experimental VL, caused by *L. (L.) donovani* (19), *L. (L.) infantum* or *L. (L.) chagasi* (20,21) the hepatic infection is generally self-limiting and the immune response represents a good example of predominance of mononuclear cells in the granulomatous inflammatory response, involving Kupffer cells, monocytes and TCD4+ and TCD8+ cells.

Molecular and cellular interactions, necessary for the efficient formation of hepatic granuloma, are important in the release of *Leishmania* spp. (22). The cytokines involved in the immune response are INF- γ , IL-12, IL-4 and TNF, and moderate TNF levels are important for the host's hepatic protection by means of local TNF production in the hepatic granuloma (23). Administration of TNF- α causes neovascular necrosis, related to subsequent development of fibrosis (24), recruiting and activating macrophages for the injured tissue and subsequently releasing fibrogenic cytokines (25). The hepatic reaction resolves but at the same time amastigote multiplication in the spleen is out of control (26).

For BALB/c mice experimentally infected with *L. (L.) donovani*, the histopathological changes are granulomas which, in the liver, are shown as mature granulomas and in the spleen and in the bone marrow as immature granulomas. Gutierrez et al. (27) studied the dynamics of their formation, collagen deposition and resolution in the liver, noting the formation of countless granulomas in the first four weeks of infection, which slowly reduced until the 20th week. In the beginning, granulomas are immature, of relatively constant sizes, with amastigotes, and are capable of evading the release mechanisms. The granuloma formation dynamics occurs after parasitemia, when the agent is sequestered by macrophages of the spleen and the liver. In the latter organ, Kupffer cells phagocytize the agent but, although they have endocytic and secretory properties, there is a failure in the production of reactive oxygen intermediates, one of their main antimicrobial mechanisms (28,29). Consequently, the amastigote forms multiply and there is concomitant aggregation of Kupffer cells to form the nucleus of granulomas.

The second step of granuloma formation occurs near or in the hepatic parenchyma and depends on chemotactic factors that induce the migration of inflammatory cells (granulocytes, lymphocytes and monocytes). The rapid migration and early preponderance of T-helper cells

may trigger a series of events. First, there is production of IFN- γ to maintain the reactive oxygen intermediate production by monocytes (30), which in turn are activated, becoming capable of degrading and inactivating phagocytized amastigotes (31). T-helper cells can produce cytokines like IL-2, IL-3 and IL-4, and each of them has its specific roles in the cell-mediated immunity.

Bradley and Kirkley (32) described the course of *L. (L.) donovani* infection for seven mouse strains, mentioning the formation of granulomas in the liver of six of them. Mathias et al. (33), studying infected hamsters to detect total IgG in their lungs and liver, observed that the lesions were progressive in different organs, changing their characteristics along the infection evolution. In the liver, the inflammatory infiltrate of mononuclear cells became more prominent than the hyperplasia of Kupffer cells at the last study moments, while in the lungs, the cell population in the interstitial infiltrate modified during the infection course. Also in the liver, hyperplasia and hypertrophy of Kupffer cells progressively increased from the 7th to the 80th day post-infection, when hyperplasia became less pronounced. Foci of mononuclear cells were observed since the 7th day post-infection, starting in the periportal and centrilobular spaces.

The aim of this study was to analyze the morphological changes in the liver of BALB/c mice that were infected with *L. (L.) chagasi* and immunosuppressed, assessing the organ-specific immune response during infection.

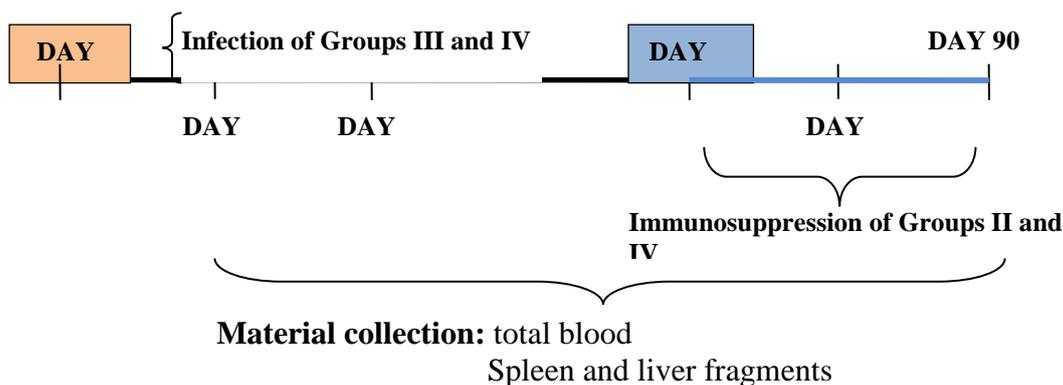
MATERIAL AND METHODS

This experiment was approved by the Ethics Committee on Animal Experimentation of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (FMVZ), UNESP - Univ Estadual Paulista, Botucatu Campus, São Paulo State, Brazil, protocol no. 124/2008-CEEA, and conducted at the Zoonosis Research Center (NUPEZO), Department of Veterinary Hygiene and Public Health, FMVZ, UNESP, Botucatu Campus, São Paulo State, Brazil.

The study included 96 male mice of the isogenic strain BALB/c, aged seven weeks, from the Multidisciplinary Center for Biological Investigation - CEMIB, University of Campinas. The animals were kept in polypropylene boxes allocated to a ventilated shelf (Alesco Ind. & Com. Ltda, Monte Mor - Brazil), receiving commercial animal food specific for their species (Nutrilabor® - Guabi, Campinas, Brazil) and water *ad libitum*.

Four groups of 24 mice each were formed, as follows: **Group I:** 24 BALB/c mice **not infected** and **not immunosuppressed (control)**. **Group II:** 24 BALB/c mice immunosuppressed with pentoxifylline and dexamethasone. **Group III:** 24 BALB/c mice **infected** with *L. (L.) chagasi*. **Group IV:** 24 BALB/c mice **infected** with *L. (L.) chagasi* and **immunosuppressed** with pentoxifylline and dexamethasone.

The experimental design followed the scheme:



Mice of Groups **III** and **IV** were infected by the retro-orbital venous plexus with 10^7 promastigotes/mL saline solution of *L. (L.) chagasi* strain M6445, provided by the Laboratory of Protozoology – Institute of Tropical Medicine, University of São Paulo - IMTSP. For mice of Groups **I** and **II**, the same volume of water was used for injection. **The inoculation day was considered the day zero of infection.**

Animals belonging to Groups **II** and **IV** were immunosuppressed from 60 to 90 days post-infection (P.I.), totaling 30 days. **Dexamethasone** disodium phosphate was used at the dose of **15 mg/kg/day** in a volume of 200 μ L/day, by the intraperitoneal route, and **pentoxifylline 150 mg/kg/day** in a volume of 300 μ L/day, by the subcutaneous route, in the scapular region (13). Water inoculation for animals of Groups **I** and **III** was done by adopting the same volume and the same inoculation route.

Four mice from each group, at 15, 30, 60, 75 and 90 P.I., were subjected to euthanasia in an acrylic chamber by means of administration of isoflurane (5V%) diluted in oxygen (5 L/min), remaining there until cardiac arrest for the collection of liver fragments, which were fixed in formalin solution at 10% and embedded in paraffin for histopathological sections.

The histopathological processing was carried out at the Veterinary Pathology Service of the Department of Veterinary Clinics, FMVZ - UNESP, Botucatu Campus, São Paulo State, Brazil. Liver fragments were cleaved and stored in plastic cassettes which were identified and processed according to the routine methods that involve dehydration, diaphanization and embedding in paraffin. Three- μ m thick histological sections were prepared and stained according to the method of hematoxylin-eosin (HE) for examination under light microscope.

Immunohistochemistry reaction was carried out for 3- μ m liver sections by following the routine methods, which are deparaffinization, hydration, antigen recovery by heat, endogenous peroxidase inhibition and unspecific binding inhibition. Anti-leishmania primary polyclonal antibody at the dilution of 1:800, produced in mice, was kindly supplied by the Laboratory of the Faculty of Medicine of University of São Paulo – FMUSP, LIM 500. Secondary monoclonal antibody bound to commercial biotin, avidin/biotin/peroxidase solution and chromogen 3-3-diaminobenzidine (DAB) were employed according to the instructions of the manufacturer of kit Novolink (Leica® Biosystems Newcastle Ltd., United Kingdom)

RESULTS

The changes evidenced in the histopathological exam, according to the moments and groups, were: Animals of Group I (control) had preserved hepatic parenchyma structure, showing hepatocytes with a central nucleus, acidophilic cytoplasm, Kupffer cells, as well as vascular and biliary excretion structures. The hepatic tissue of Group II (immunosuppressed), subjected to immunosuppression for 15 and 30 days, kept the same histological characteristic of Group I.

At 15 days P.I., histological analysis evidenced that the liver of animals of Groups III (infected) and IV (infected and immunosuppressed) had hepatic inflammatory reaction translated by perivascular and multifocal lymphohistiocytic infiltrate, especially surrounding the centrilobular vein and the portal tract. The grouping layout of inflammatory cells mimicked the initial formation of granulomas. Amastigote forms were identified in the cytoplasm of macrophages in inflammation foci, as well as in Kupffer cells that were hyperplastic (Fig. 1).

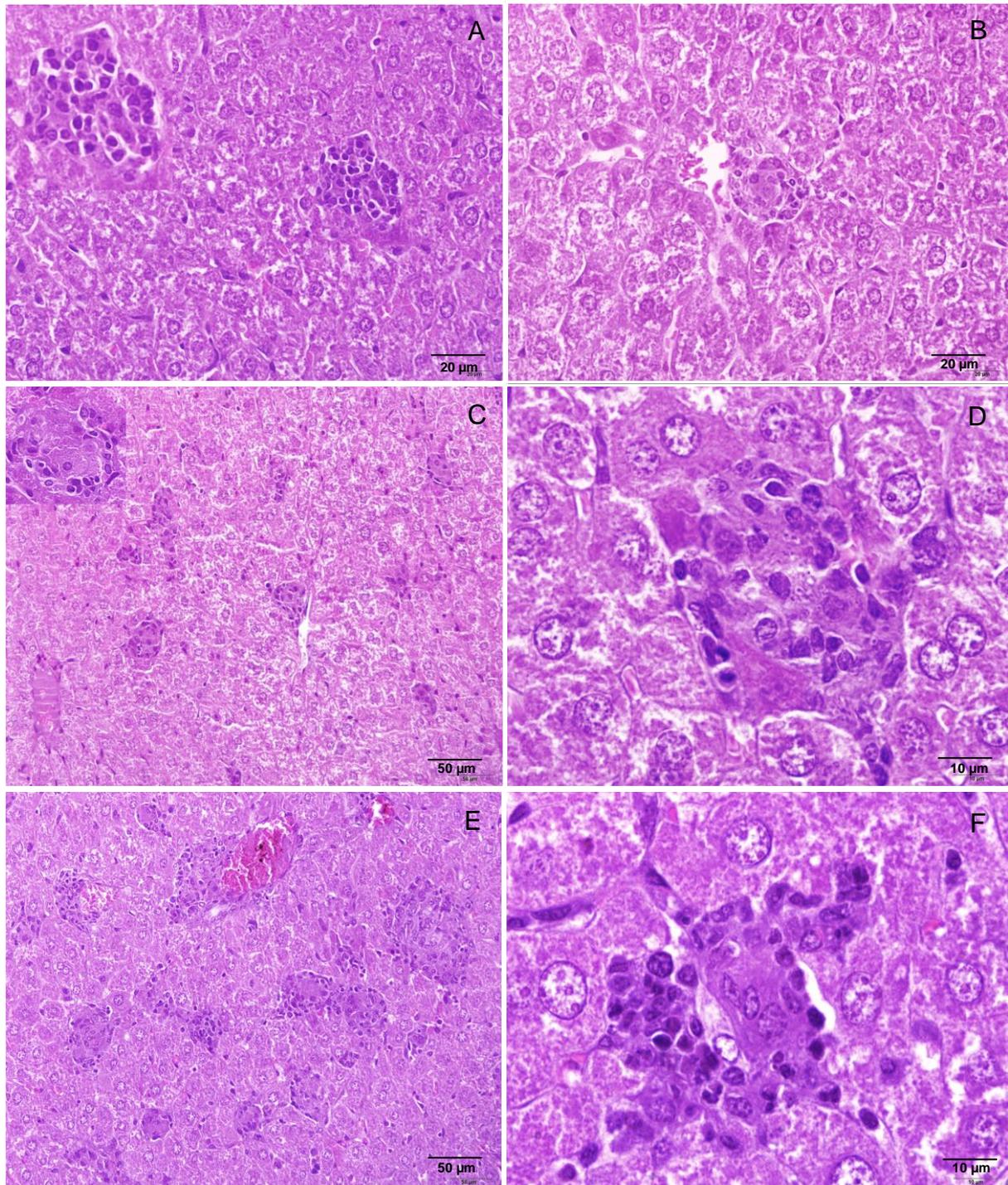


Figure 1. Histopathological analysis of BALB/c mouse liver sections stained with HE. (A-B) 15 days post-infection. (A) Granulomatous reaction; in detail, presence of intracellular amastigotes. (B) Perivascular granulomatous reaction. (C-D) 30 days post-infection. (C) Disseminated granulomas; in detail, intracellular amastigotes. (D) Granulomas with intracellular amastigotes. (E-F) 60 days post-infection. (E) Multifocal granulomas. (F) Cells morphologically similar to the giant cell with intracellular amastigotes.

At 30 days P.I., Groups III and IV had inflammatory reaction of greater amplitude which revealed, in association with the lymphohistiocytic infiltrate, the presence of neutrophils obtaining conformation of incomplete granulomas diffusely distributed in the hepatic parenchyma. Such granulomas showed groups of macrophages full of amastigotes among

neutrophils and were surrounded by lymphocytes and epithelioid cells. At this studied moment, there was infiltration of densely parasitized lymphocytes and macrophages around the vascular routes and the portal space (Fig. 1).

At 60 days, Groups III and IV had inflammatory foci with marked characteristics of granulomas and greater organization and extension, which highly compromised the hepatic parenchyma in the form of complete and incomplete granulomas, always evidencing the amastigote forms of the agent. Cells morphologically similar to giant cells were also observed. Mononuclear cells with characteristics of plasmocytes were evidenced in the composition of granulomas, in addition to fibroblast proliferation (Fig. 1).

At 75 days P.I., Group III evidenced the same characteristics shown on day 60 P.I., differing only for greater compromising of the hepatic parenchyma, probably due to the coalescence of both granulomas and neoformed granulomas (Fig. 2).

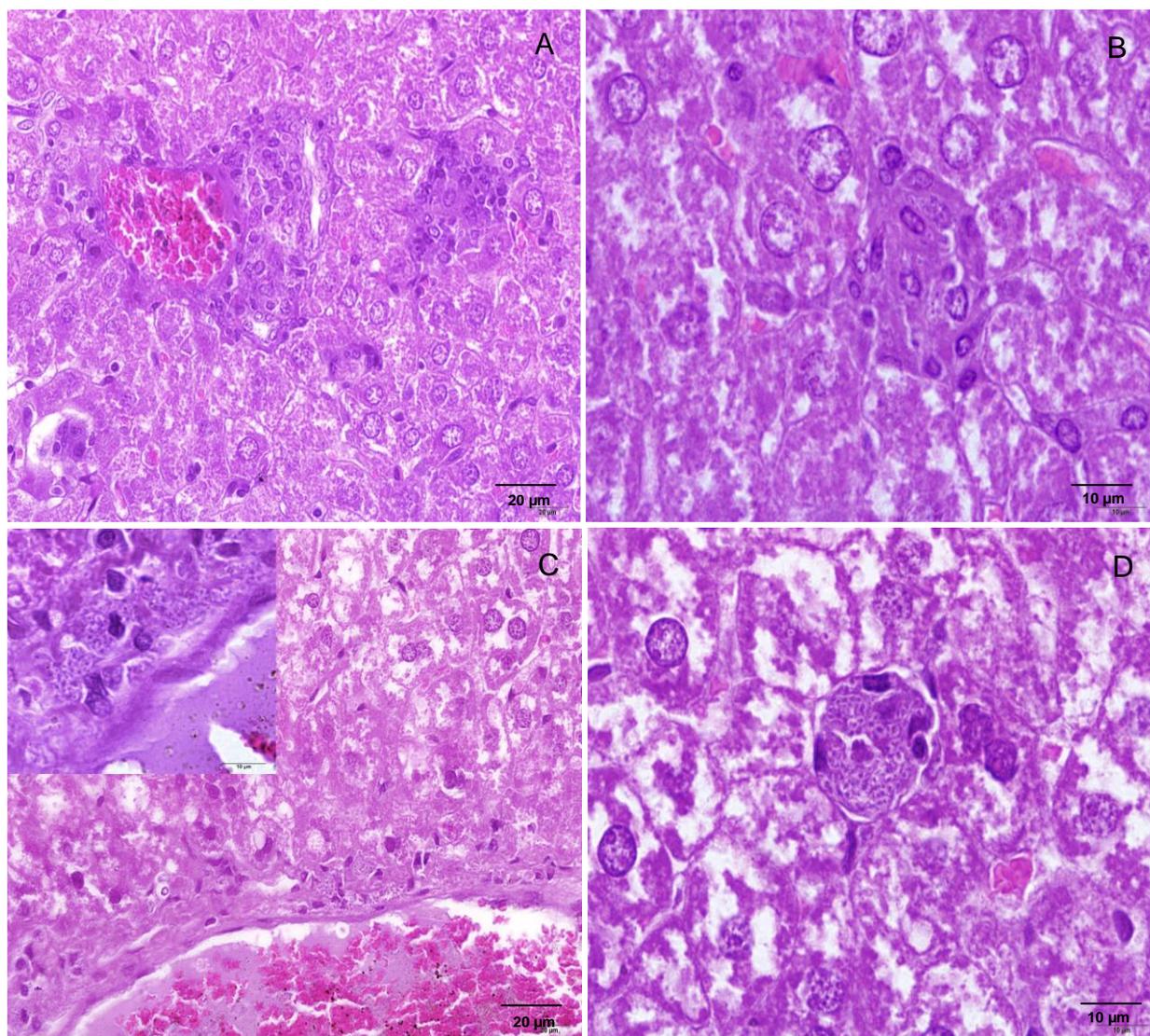


Figure 2. Histopathological analysis of BALB/c mouse liver sections, at 75 days post-infection, stained with HE. (A-B) Group III (infected). (A) Perivascular granuloma. (B) Granuloma with intracellular amastigotes. (C-D) Group IV (infected and immunosuppressed). (C) Minimal perivascular inflammatory reaction; in detail, amastigote forms. (D) Granulomas with intracellular amastigotes.

For Group IV, at 75 days, there was diffuse vacuolization of hepatocytes, minimal focal inflammatory reaction translated by groupings of parasitized lymphocytes and macrophages

frequently associated with polymorphonuclear cells. Amastigotes were predominant in Kupffer cells (Fig. 2). There was similar inflammatory reaction around the vessels and the portal space. For this same group, at 90 days, histopathological changes were discreet, compared to those at 75 days, and a multifocal inflammatory reaction of discreet intensity persisted; however, a more evident fibroblastic reaction could be detected as perivascular, portal and capsular, in association with intense and specially portal parasitism (Fig. 3).

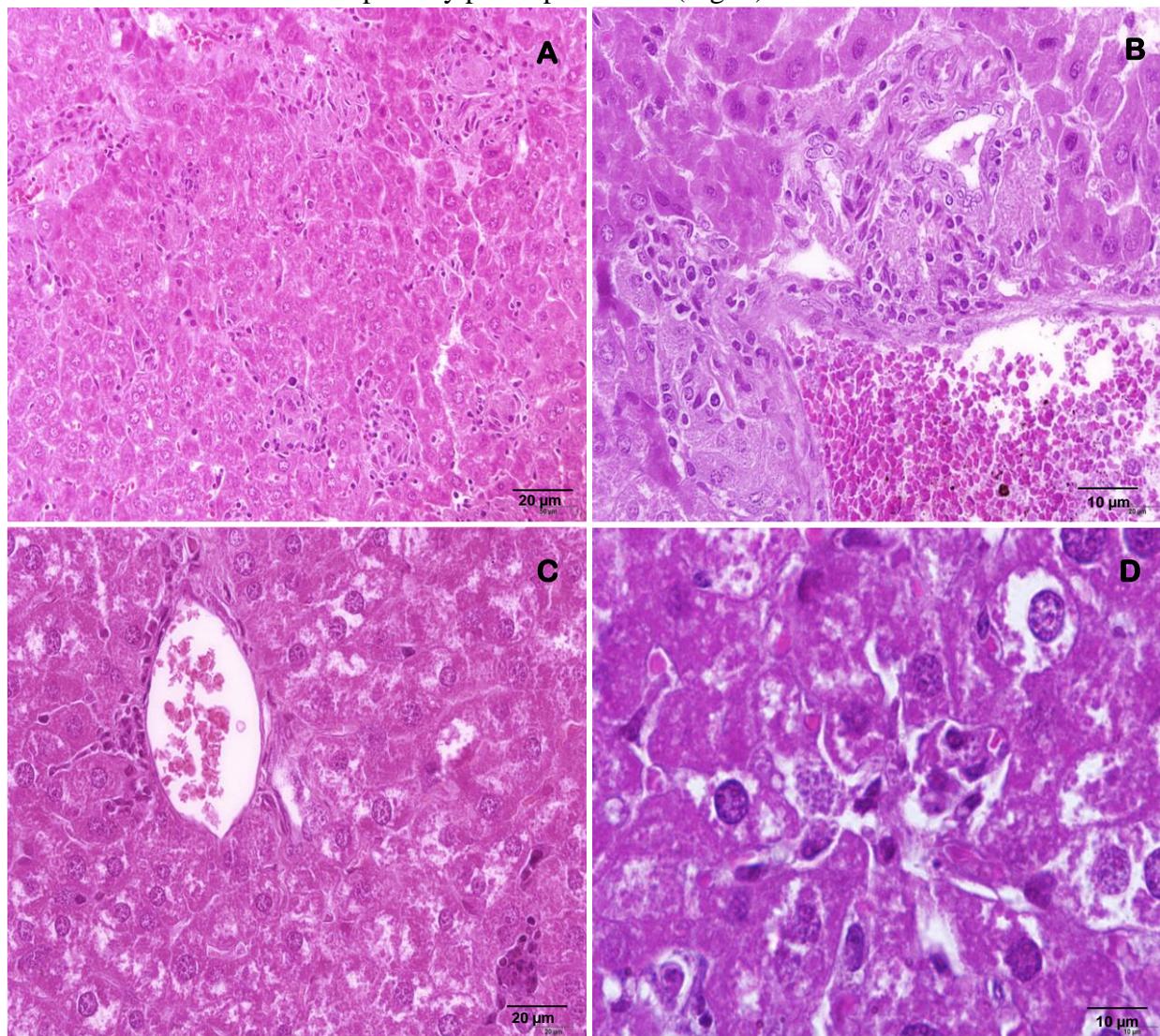


Figure 3. Histopathological analysis of BALB/c mouse liver sections, at 90 days post-infection, stained with HE. (A-B) Group III (infected). (A) Multifocal granuloma. (B) Perivascular granuloma with intracellular amastigotes. (C-D) Group IV (infected and immunosuppressed). (C) Minimal perivascular inflammatory reaction. (D) Minimal inflammatory reaction with intracellular amastigotes.

At 90 days, Group III had disseminated compromising of the hepatic parenchyma caused mostly by organized granulomas, but there were others with initial formation morphology translated by groupings of neutrophils surrounded by macrophages, lymphocytes and plasmocytes, besides epithelioid cells. Amastigotes were a constant in disseminated granulomatous inflammation foci. Fibroblastic proliferation was more marked in the composition of perivascular granulomas, spreading throughout the parenchyma and hepatic capsule of fibrotic aspect (Fig. 3).

Light microscopy of tissue sections subjected to immunohistochemistry reaction indicated positive labeling for amastigote forms of *L. (L.) chagasi* in the inoculated groups and analyzed moments (Fig. 4 and Fig. 5).

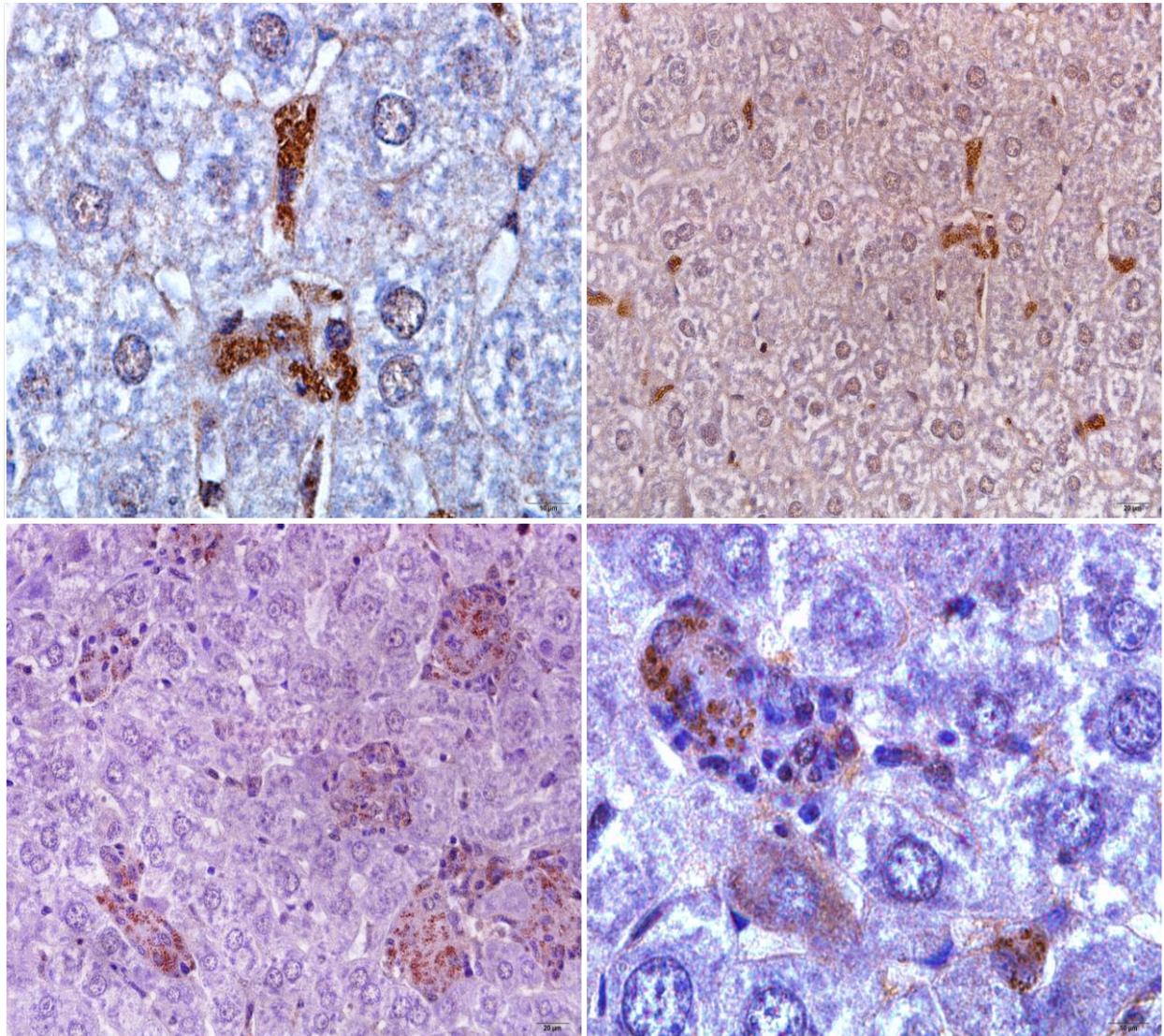


Figure 4. BALB/c mouse liver sections subjected to immunohistochemistry reaction. Detection of amastigote forms of *Leishmania (Leishmania) chagasi* immunolabeled in the cytoplasm of macrophages and Kupffer cells. (A-B) 15 days post-infection. (C) 30 days post-infection. (D) 60 days post-infection.

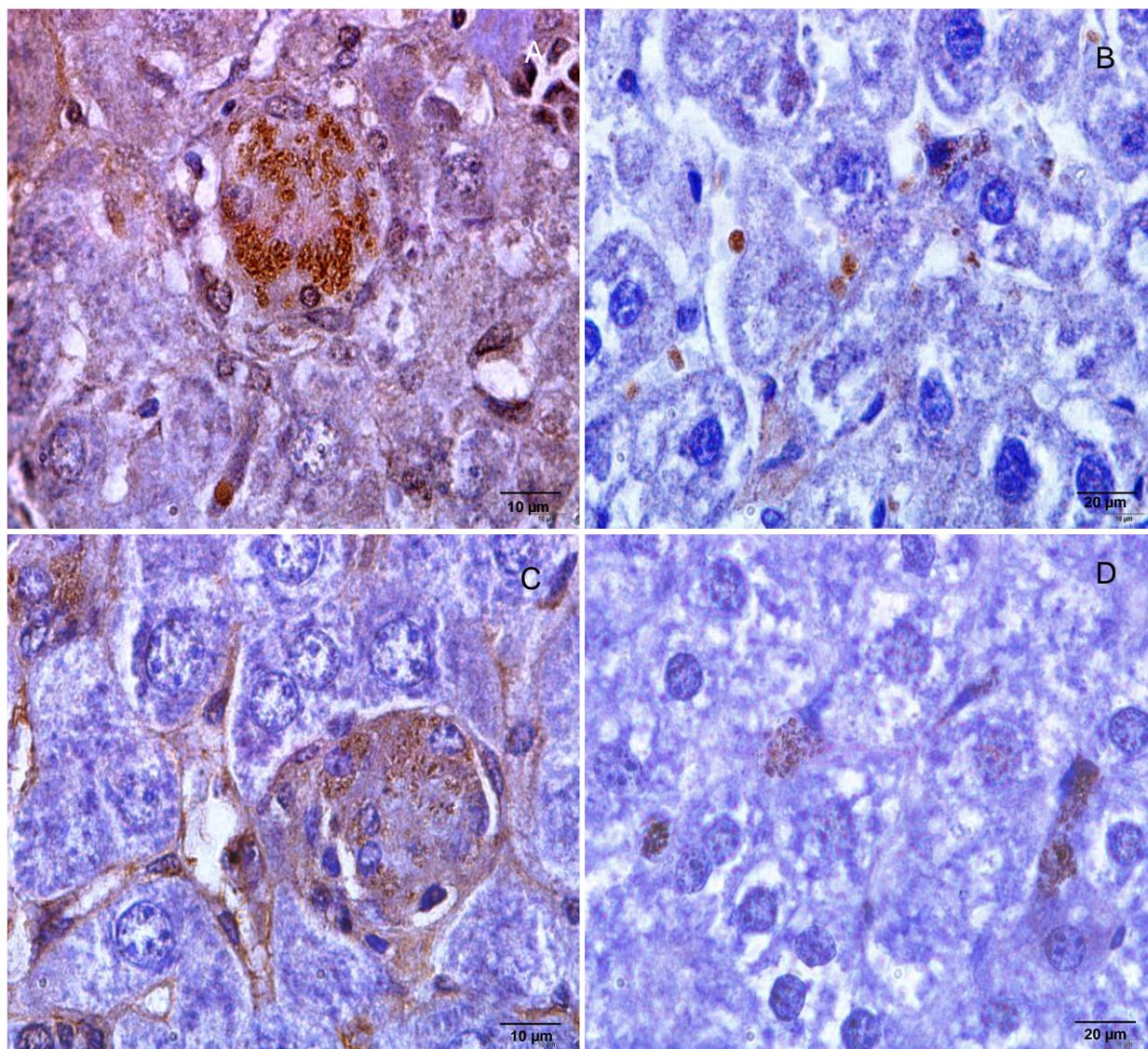


Figure 5. BALB/c mouse liver sections subjected to immunohistochemistry reaction. Detection of amastigote forms of *Leishmania (Leishmania) chagasi* immunolabeled in the cytoplasm of macrophages and Kupffer cells. (A-B) Groups III and IV (respectively), 75 days post-infection. (C-D) Groups III and IV, 90 days post-infection.

DISCUSSION AND CONCLUSION

All groups were analyzed at all moments, although Groups I and II were not infected and served as control of the organ structures, compared to Groups III and IV. Inflammatory reaction was observed for Groups III and IV at all moments, but for Group III it was intense and progressive until the last moment, while for Group IV it was weak on the 75th day P.I. and rare, but not absent, on the 90th day P.I. This could possibly be detected if the assessment had occurred later.

For infected animals, the inflammatory reaction was progressive, showing different characteristics, and the infection became chronic from the beginning of the focal inflammatory infiltrate to the complete formation of granulomas. This aspect was constant, corroborating Gutierrez et al. (27), who studied the dynamics of hepatic granuloma formation. Hyperplasia and hypertrophy of Kupffer cells, at every analyzed moment, is characteristic of systemic diseases, according to Mathias et al. (33). Macrokaryotic hepatocytes from 60 to 90 days P.I.

indicate regeneration of hepatic cells during infection with *L. (L.) chagasi*, characteristic of this organ.

Epithelioid cells were noted from 30 days P.I. to the end of the experiment, demonstrating the beginning of granuloma formation, when macrophages lose their phagocytic role and start to produce cytokines. Necrosis of hepatocytes in association with hepatic fibrosis may occur due to the action of TNF- α , produced in the hepatic granuloma (23) as well as to the release of fibrogenic cytokines (25).

The parasite densely populating macrophages and Kupffer cells was also a constant for Groups III and IV. At 90 days P.I., for Group IV, the parasite was in the light of large blood vessels, which probably explains the stimulus and the characteristics of the intense immune reaction in this organ. There was not morphological expression of diffuse hepatic fibrosis characteristic of the infection resolution in the liver, possibly due to the study period.

On the other hand, for the immunosuppressed group, we can consider that the observed changes were expected. Vacuolized cytoplasm is characteristic of the use of glucocorticoids; it occurs due to liquid accumulation and was also found for mice of Group II. Weak or rare inflammatory reaction, showing rare complete granulomas, is due to the anti-inflammatory action of DXM and PTX.

ACKNOWLEDGEMENTS

To CAPES for the doctoral scholarship.

REFERENCES

1. World Health Organization. Communicable Disease Profile. Baghdad: WHO; 2003.
2. Desjeux P. Leishmaniasis: public health aspects and control. Clin Dermatol. 1996; 325-329.
3. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Ministério da Saúde – MS [Internet]. Brasília: Sinan; 2004 [cited 2014 May 10]. Available from: dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/index.php
4. World Health Organization. Leishmania and HIV in Gridlock. Geneva: WHO/Joint United Nations Programme on HIV/AIDS; 1998.
5. Ferreira MS, Borges AS. Some aspects of protozoan infections in immunocompromised patients: a review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2002;97:443-57.
6. Webster JJ, Tonelli L, Sternberg EM. Neuroendocrine regulation of immunity. Annu Rev Immunol. 2002;20:125-63.
7. Rogatsky I, Ivashkev LB. Glucocorticoid modulation of cytokine signaling. Tissue Antigens. 2006;68:1-12.
8. Akdis CA, Blesken T, Akdis M, Alkan SS, Heusser CH, Blaser K. Glucocorticoids inhibit human antigen-specific and enhance total IgE and IgG4 production due to differential effects on T and B cells in vitro. Eur J Immunol. 1997;27:2351-7.

9. Strieter RM, Remick DG, Ward PA, Spengler RN, Lynch JP, Larrick J, et al. Cellular and molecular regulation of tumor necrosis factor-alpha production by pentoxifylline. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;155:1230-6.
10. Currie MS, Rao KM, Padmanabhan J, Jones A, Crawford J, Cohen HJ. Stimulus-specific effects of pentoxifylline on neutrophil CR3 expression, degranulation, and superoxide production. *J Leukoc Biol.* 1990;47:244-50.
11. D' Hellencourt CL, Diaw L, Cornillet P, Guenounou M. Differential regulation of 348 TNF alpha, IL-1 beta, IL-6, IL-8, TNF beta, and IL-10 by pentoxifylline. *Int J 349 Immunopharmacol.* 1996; 18, 739-748.
12. Elenkov IJ. Glucocorticoids and TH1/TH2 balance. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1024:138-46.
13. Gangneux JP, Chau F, Sulahian A, Derouin F, Garin YJ. Effects of immunosuppressive therapy on murine *Leishmania infantum* visceral leishmaniasis. *Eur Cytokine Netw.* 1999;10:557-9.
14. Sumyuen MH, Garin YJ, Derouin F. Effect of immunosuppressive drug regimens on acute and chronic murine toxoplasmosis. *Parasitol Res.* 1996;82:681-6.
15. Pereira BA, Alves CR. Immunological characteristics of experimental murine infection with *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. *Vet Parasitol.* 2008;158:239-55.
16. Miles SA, Conrad SM, Alves RG, Jeronimo SMB, Mosser DM. A role for IgG immune complexes during infection with the intracellular pathogen *Leishmania*. *J Exp Med.* 2005;201:747-54.
17. Sanchez MA, Diaz NL, Zepa O, Negron E, Convit J, Tapia FJ. Organ-specific immunity in canine visceral leishmaniasis: analysis of symptomatic and asymptomatic dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*. *Am J Trop Med Hyg.* 2004;70:618-24.
18. Duarte MI, Corbett CE. Leishmaniose visceral. In: Brasileiro Filho G. Bogliolo Patologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1994. p.1150-60.
19. Smelt SC, Engwerda CR, McCrossen M, Kaye PM. Destruction of follicular dendritic cells during chronic visceral leishmaniasis. *J Immunol.* 1997;158:3813-21.
20. Rousseau D, Demartino S, Anjuère F, Ferrua B, Fragaki K, Le Fichoux Y, Kubar J. Sustained parasite burden in the spleen of *Leishmania infantum*-infected BALB/c mice is accompanied by expression of MCP-1 transcripts and lack of protection against challenge. *Eur Cytokine Netw.* 2001;12:340-7.
21. Wilson ME, Sandor M, Blum AM, Young BM, Metwali A, Elliott D, et al. Local suppression of IFN-gamma in hepatic granulomas correlates with tissue-specific replication of *Leishmania chagasi*. *J Immunol.* 2006;156:2231-9.
22. Murray HW. Tissue granuloma structure-function in experimental visceral leishmaniasis. *Int J Exp Pathol.* 2001;82:249-67.

23. Tumang M, Keogh C, Moldawer LL, Helfgott DC, Teitelbaum R, Hariprashad J, et al. Role and effect of TNF-alpha in experimental visceral leishmaniasis. *J Immunol.* 1994;153:768-75.
24. Lefaix JL, Delanian S, Vozenin MC, Leplat JJ, Tricaud Y, Martin M. Striking regression of subcutaneous fibrosis induced by high doses of gamma rays using a combination of pentoxifylline and alpha-tocopherol: an experimental study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1999;43:839-47.
25. Hallahan DE, Halmovitz-Friedman A, Kufe DW. The role of cytokines in radiation oncology. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA. *Important advances in oncology.* Philadelphia: Lippincott; 1993. p.71-80.
26. Engwerda CR, Ato M, Kaye PM. Macrophages, pathology and parasite persistence in experimental visceral leishmaniasis. *Trends Parasitol.* 2004;20:524-30.
27. Gutierrez Y, Maksem JA, Reiner NE. Pathologic changes in murine Leishmaniasis (*Leishmania donovani*) with special reference to the dynamics of granuloma formation in the liver. *Am J Pathol.* 1984;114:222-30.
28. Lepay DA, Nathan CF, Steinman RM, Murray HW, Cohn ZA. Murine Kupffer cells. Mononuclear phagocytes deficient in the generation of reactive oxygen intermediates. *J Exp Med.* 1985;161:1079-96.
29. Lepay DA, Steinman RM, Nathan CF, Murray HW, Cohn ZA. Liver macrophages in murine listeriosis. Cell-mediated immunity is correlated with an influx of macrophages capable of generating reactive oxygen intermediates. *J Exp Med.* 1985;161:1503-12.
30. Murray HW, Spitalny GL, Nathan CF. Activation of mouse peritoneal macrophages in vitro and in vivo by interferon-gamma. *J Immunol.* 1985;134:1619-22.
31. Murray HW. Cell-mediated immune response in experimental visceral 409 leishmaniasis. II. Oxygen-dependent killing of intracellular *Leishmania donovani* 410 amastigotes. *J Immunol.* 1982; 129, 351-357.
32. Bradley DJ, Kirkley J. Regulation of *Leishmania* populations within the host. I. The variable course of *Leishmania donovani* infections in mice. *Clin Exp Immunol.* 1977;30:119-29.
33. Mathias R, Costa FAL, Goto H. Detection of immunoglobulin G in the lung and liver of hamsters with visceral leishmaniasis. *Braz J Med Biol Res.* 2001;34:539-43.
34. McElrath MJ, Murray HW, Cohn ZA. The dynamics of granuloma formation in experimental visceral leishmaniasis. *J Exp Med.* 1998;167:1927-37.

Recebido em: 11/07/2016

Aceito em: 11/04/2017

Comitê de Avaliadores

Adelina Maria da Silva
 Adriana Evangelista-Rodrigues
 Ailton Vitor Pereira
 Alan Maia Borges
 Alessandro F. T. Amarante
 Alexander Welker Biondo
 Alexandre Oba
 Alexandre Vaz Pires
 Alice Maria M. P. Della Libera
 Alice Fernandes Alfieri
 Alda Lúcia Gomes Monteiro
 Altivo José de Castro
 Alvimar José da Costa
 Américo G. da Silva Sobrinho
 Ana Carolina B. C. Fonseca Pinto
 Ana Liz Garcia Alves
 Ana Paula F. R. L. Bracarense
 Ana Sílvia A. M. T. Moura
 Ana Terezinha Tavechio
 Andrey Pereira Lage
 Andriago Barboza de Nardi
 Annelise de Souza Traldi
 Antonio Carlos C. Lacrete Júnior
 Antônio Carlos Paes
 Antonio João Scandolera
 Antônio Sérgio Ferraudó
 Antonio Waldir Cunha da Silva
 Áureo Evangelista Santana
 Bernardete Miranda dos Santos
 Bruna P. A. da Fonseca
 Bruno Watanabe Minto
 Caris Maroni Nunes
 Carla Forte Maiolino Molento
 Carla Lopes de Mendonça
 Carlos Augusto A. Valadão
 Carlos Roberto Conti Naumann
 Carolina Madeira Lucci
 Cassiano Victória
 Cecílio Soares Filho
 Célia Regina Orlandelli Carrer
 Celso A. Rodrigues
 Cezinande de Meira
 Ciniro Costa
 Cláudia Valéria S. Brandão
 Cláudio Dias Timm
 Claudio Scapinello
 Daisy Pontes Netto
 Daniel Augusto Barroso Lessa
 Delphim da Graça Macoris
 Denise Botelho de O. Braga
 Dilermundo Miranda da Fonseca
 Dirlei Antônio Berto
 Domingos da Silva Leite
 Edson Ramos de Siqueira
 Eduardo Arruda T. Lanna
 Eduardo Bagagli
 Eduardo Francisquine Delgado
 Eduardo Furtado Flores
 Eduardo Harry Birgel Júnior
 Eduardo Paulino da Costa
 Edviges Maristela Pituco
 Eliana Curvelo
 Peterson Triches Dornbusch

Eliana Roxo
 Eunice Oba
 Evelise Oliveira Telles
 Fabiano Montiani Ferreira
 Felipe Masiero Salvani
 Fernanda da Cruz L. e Alvarenga
 Fernando Antônio de Avila
 Fernando Ferreira
 Fernando Pandolfo Bortolozzo
 Flávia de Rezende Eugênio
 Francisco Carlos Faria Lobato
 Francisco Leydson Formiga
 Feitosa
 Frederico Ozanam Papa
 Geder Paulo Herrmann
 Gilson Helio Toniollo
 Gustavo Ferrer Carneiro
 Helenice de Lima González
 Helenice de Souza Spinosa
 Humberto Tonhati
 Iolanda Aparecida Nunes
 Ivan Roque de Barros Filho
 Ivo Wentz
 Jackson Victor de Araújo
 Jane Megid
 Jean Carlos Ramos da Silva
 Jean Guilherme F. Joaquim
 Jener Alexandre S. Zuanon
 João Carlos Pinheiro Ferreira
 João Guilherme P. Filho
 João Luiz Horácio Faccini
 João Pessoa Araújo Júnior
 João Ricardo Dittrich
 José Antônio Viana
 José Augusto B. Afonso
 José Carlos de Andrade Moura
 José Dantas Ribeiro Filho
 José Domingos Guimarães
 José Fernando Machado Menten
 José Juradir Fagliari
 José Laerte Nörnberg
 José Nicolau Prospero Puoli Filho
 José Paes de A. N. Pinto
 José Paes de Oliveira Filho
 José Roberto Kfoury Júnior
 José Roberto Sartori
 José Vasconcelos Lima Oliveira
 Joselito Nunes Costa
 Jovanir I. Müller Fernandes
 Juliany Gomes Quitzan
 Julieta Rodini Engrácia de Moraes
 Júlio César de Freitas
 Kátia Denise Saraiva Bresciani
 Laerte Ferreira
 Lara Borges Keid
 Leandro Rodello
 Lílian Gregory
 Lisiane de A. Martins
 Lissandro Gonçalves Conceição
 Luciana Morganti Ferreira Maselli
 Luciano José da Costa Figueiredo
 Luís Carlos Vulcano

Luís Gustavo Corbellini
 Luiz Alberto do Lago
 Luiz Augusto do Amaral
 Luiz Celso Hygino da Cruz
 Luiz Ernani Henkes
 Luiz Francisco Zafalon
 Luiz Henrique de Araújo Machado
 Magda Alves de Medeiros
 Marcelo Beltrão Molento
 Marcelo George Mungai Chacur
 Marcelo Resende de Souza
 Marcelo Vasconcelos Meireles
 Márcia C. da Sena Oliveira
 Márcia Marinho
 Márcia Valéria Rizzo S. Szabó
 Marcia Oliveira Lopes
 Márcio Machado Ladeira
 Marco A. F. Lopes
 Marco Antonio Alvarenga
 Marco Antonio Lemos de Oliveira
 Marconi Rodrigues de Farias
 Marcos Amaku
 Marcos Chalhoulb Coelho Lima
 Marcos Jun Watanabe
 Marcos Veiga dos Santos
 Margareth Elide Genovez
 Maria Angélica Miglino
 Maria Cecília Rui Luvizotto
 Maria de Lourdes R. S. da Cunha
 Maria Denise Lopes
 Maria Jaqueline Manprim
 Maria Lucia Gomes Lorenço
 Maria Lúcia Zaidan Dagli
 Maria Luiza Delavechia
 Maria Madalena Pessoa Guerra
 Maria Terezinha S. Peraçoli
 Márcia Valéria Rizzo S. Szabó
 Maria Verônica de Souza
 Marília Martins Melo
 Mary Marcondes
 Mauricio Costa Alves da Silva
 Mayra Elena O. D'Avila
 Assumpção
 Milton Hissashi Yamamura
 Mônica Vicky Bahr Arias
 Nei Moreira
 Nelson Carneiro Baião
 Nelson Moraes
 Nereu Carlos Preste
 Nilson Roberto Benites
 Noeme Sousa Rocha
 Pacífico Antônio Diniz Belém
 Paulo Alberto Lovatto
 Paulo César Ciarlini
 Paulo Fernando Machado
 Paulo Francisco Domingues
 Paulo Henrique Franceschini
 Paulo Henrique Jorge da Cunha
 Paulo Michel Roehe
 Paulo Roberto Brandão
 Paulo Roberto de Lima Meirelles
 Paulo Roberto Rodrigues Ramos
 Priscilla Anne Melville

Raimundo Souza Lopes
Raphael Lúcio Andreatti Filho
Raquel Y. A. Baccarim
Raul Franzolin Neto
Regina Kiomi Takahira
Renato Cesar Sacchetto Tôres
Renato Silva de Sousa
Renée Laufer Amorim
Ricardo Augusto Mendonça Vieira
Ricardo de Oliveira Orsi
Ricardo J. Del Carlo
Roberta Lemos Freire
Roberto Calderón Gonçalves
Roberto de Oliveira Roça
Roberto Sartori Filho
Roberto Soares de Castro
Rodrigo Martins Soares
Rodrigo Otávio Silveira Silva
Rogério de Paula Lana
Rogério Giufrida
Rogério Martins Amorim
Ronaldo Lopes Oliveira
Rosana M. O. Clark
Rosângela Zacarias Machado
Rosangela Locatelli Dittrich
Rubens Antônio Carneiro
Sandra de Moraes Gimenes Bosco
Sandra Mara Araújo Crispim
Sebastião de Campos Valadares Filho
Sergio Borges Mano
Sheila Canavese Rahal
Sílvia M. Nishida
Simone Baldini Lucheis
Simone de Carvalho Balian
Simone Tostes de Oliveira
Sony Dimas Bicudo
Stefano Hagen
Stélio Pacca Loureiro Luna
Tereza Cristina C. da Silva
Tilde Rodrigues Froes
Valéria Marçal Félix de Lima
Valéria Nobre L. S. Oliva
Vamilton Alvares Santarém
Vanerli Beloti
Vania Maria de V. Machado
Venício José de Andrade
Vera Lúcia M. Hall
Victor Cruz Rodrigues
Virgínia Bodelão Richini Pereira
Wagner dos Reis
Wagner Luis Ferreira
William Koury Filho

REVISTA “VETERINÁRIA E ZOOTECNIA”

NORMAS PARA APRESENTAÇÃO DE TRABALHOS

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

ARTIGOS CIENTÍFICOS

Devem ser estruturados de acordo com os seguintes itens:

1. Página de rosto, com:

- Título do trabalho em português, em inglês e em espanhol, fonte Times New Roman, tamanho 12, com espaçamento simples, em negrito e centralizado, em letra maiúscula. Quando necessário, indicar a entidade financiadora da pesquisa, como primeira chamada de rodapé;
- Nomes completos dos autores, em que somente a primeira letra de cada nome deve ser maiúscula, do lado direito da página. Digitá-los, separados um por linha, com **chamadas** de rodapé numeradas e em sobrescrito, **que indicarão** o cargo e o endereço profissional dos autores, seguidos da instituição onde o trabalho foi desenvolvido ou às quais estão vinculados;
- Nome, endereço, telefone, fax e correio eletrônico, para correspondência;
- Em caso de envolvimento de seres humanos ou animais de experimentação, encaminhar o parecer da Comissão de Ética ou equivalente, assinalando, no trabalho, antes das referências, a data de aprovação.

2. Página com resumo, abstract e resumen

- Tanto o resumo, como o abstract e o resumen devem ser seguidos do título do trabalho, no respectivo idioma, e conter no máximo 400 palavras cada um, com informações referentes à introdução, metodologia, resultados e conclusões. O texto deve ser justificado e digitado em parágrafo único e espaçamento simples, começando por RESUMO. O abstract, e o resumen, devem ser tradução fiel do resumo. Independente da língua em que o artigo for apresentado, deverá conter o resumo em português, inglês e espanhol.
- Devem conter, no máximo, cinco palavras-chave, keywords, e palabras clave que identifiquem o conteúdo do texto.

3. A estrutura do artigo deverá conter:

Introdução: Deve ser clara, objetiva e relacionada ao problema investigado e à literatura pertinente, bem como aos objetivos da pesquisa. A introdução estabelece os objetivos do trabalho.

Material e Métodos: Deve oferecer informações de reprodutibilidade da pesquisa, de forma clara e concisa, como variáveis, população, amostra, equipamentos e métodos utilizados, inclusive os estatísticos.

Resultados: Apresentação dos resultados obtidos, que devem ser descritos sem interpretações e comparações. Poderá ser sob a **forma de tabelas**, em folha à parte, no máximo de cinco, ordenadas em algarismos arábicos e encabeçadas pelo título, de acordo com as normas de apresentação tabular da ABNT/WBR 6023/2000 da Associação Brasileira de Normas Técnicas, identificadas no texto como Tabela; sob a **forma de figuras**, nos casos de gráficos, fotografias, desenhos, mapas, etc., ordenadas em algarismos arábicos, até no máximo de seis, e citadas no texto como Figura. Devem ser identificadas em folha à parte, onde deve constar o título do artigo. **Fotografias** podem ser em preto e branco ou coloridas, identificadas com o(s) nome(s) do(s) autor(es) no verso. No caso de **desenhos originais**, a impressão deve ser em papel adequado, de qualidade.

Discussão: Deve ser entendida como a interpretação dos resultados, confrontando com a literatura pertinente, apresentada na introdução. Se julgar conveniente, os resultados e a discussão poderão ser apresentados conjuntamente.

Conclusões: É a síntese final, fundamentada nos resultados e na discussão.

Referências: Devem ser apresentadas de acordo com as normas Vancouver (<http://www.icmje.org/>).

Deverão ser editorados em Microsoft Word for Windows, para edição de textos, Excel (qualquer versão) para gráficos, formato JPEG ou GIF (imagem) para fotografias, desenhos e mapas, formato A4 (21,0 x 29,7 cm), em espaço duplo, mantendo margens de 2,5 cm, nas laterais, no topo e pé de cada página, fonte Times New Roman, tamanho 12 e numeração consecutiva das páginas em algarismos arábicos, a partir da folha de identificação. Deverão também apresentar **numeração nas linhas, reiniciando a contagem a cada nova página**. Não serão fornecidas separatas. Os artigos estarão disponíveis no formato PDF no endereço eletrônico da revista. Para as demais seções da revista são válidas as normas anteriores. Não devem exceder a 15 páginas. Abreviaturas não usuais devem ser empregadas após escritas por extenso na primeira utilização.

ARTIGOS DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os artigos de revisão bibliográfica serão publicados nas línguas portuguesa, inglesa e espanhola, quando o autor apresentar contribuição científica, relevante na área específica do assunto abordado, a convite dos editores.

Deverão conter: Título (português, inglês e espanhol), resumo com palavras-chave, abstract com keywords e resumen com palabras claves, introdução, desenvolvimento do assunto, considerações finais e referências. Deverão conter no máximo 20 páginas e 60 referências.

RELATOS DE CASO

Não devem ser estruturados, como os artigos. Devem apresentar o título em português, em inglês e espanhol, resumo com palavras-chave, abstract com keywords, resumen com palabras claves e referências. Devem conter no máximo cinco páginas, três tabelas ou figuras e 15 referências.

COMUNICAÇÕES CURTAS

São relatos contendo dados inéditos e relevantes de estudos originais, como, por exemplo, resultados preliminares de uma pesquisa. Devem ser apresentadas com, no máximo, cinco páginas, uma tabela e 10 referências. A estrutura deve respeitar as normas para relatos de caso.

REFERÊNCIAS E CITAÇÕES

As referências devem ser numeradas consecutivamente e listadas na ordem em que são mencionadas no texto. As referências devem ser identificadas no texto, nas tabelas e legendas com números arábicos, entre parênteses, seguindo a mesma sequência. Os títulos das revistas devem ser abreviados de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus* disponível em: <http://www.nlm.nih.gov>.

Exemplos

Citações

O material deve ser mantido em compressas embebidas em solução fisiológica para evitar o ressecamento (5).

Aulisa (1) administrou heparina, por via intramuscular, em cobaias.

Udupa & Prasad (9) utilizaram osteoclasia manual do úmero sem imobilização

Herbsman et al. (7) realizaram osteoclasia manual no fêmur e não imobilizaram.

O rato apresenta níveis mais elevados de heparina que o homem (35,42,51).

O mesmo autor obteve resultados semelhantes, mesmo com metodologias diferentes (22-26).

Referências

Indique até seis autores seguidos de et al.

1 Artigo de revista

Andrade SF, Sakate M. Intoxicação por amitraz: revisão. Vet Not. 2004;10:1-15.

Modolo JR, Stachissini AVM, Gennari SM, Dubey JP, Langoni H, Padovani CV, et al. Frequência de anticorpos anti-Neospora caninum em soros de caprinos do estado de São Paulo e sua relação com o manejo dos animais. Pesq Vet Bras. 2008;28:597-9.

2 Organização como autor

Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 12nd ed. Washington; 1975.

Universidade Federal de Viçosa. SAEG: sistema de análises estatísticas e genéticas: manual do usuário: versão 7.1. Viçosa; 1997.

3 Livro

Modolo JR, Stachissini AVM, Castro RS, Ravazzolo AP. Planejamento de saúde para o controle da artrite-encefalite caprina. São Paulo: Cultura Acadêmica; 2003.

4 Capítulo de livro

Corrêa MC, Corrêa CNM. Estafilococias em geral. In: Corrêa MC, Corrêa CNM. Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos. 2ª ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992. p.91-103.

Mendes AA, Saldanha ESPB. A cadeia produtiva da carne de aves no Brasil. In: Mendes AA, Naas IA, Macari M. Produção de frangos de corte. Campinas: FACTA, 2004. p.1-22

5 Artigos apresentados em congressos, reuniões, seminários etc

Malhado CHM, Piccinin A, Gimenez JN, Ramos AA, Gonçalves HC. Modelos polinomiais para descrever a curva de postura de codornas. In: Anais do 3º Congresso Nordestino de Produção Animal; 2004, Campina Grande. Campina Grande: Universidade Federal da Paraíba; 2004. p.1-3

6 Teses, dissertações e outros trabalhos acadêmicos

Mortari AC. Avaliação da técnica de transposição do músculo semitendinoso para reparo do diafragma pélvico: estudo experimental em cães [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2004.

7 Publicações disponíveis na Internet

Vasconcelos JLM. Endometrite subclínica em vacas leiteiras. Campinas; 2004 [cited 2004 Jan 16]. Available from: <<http://www.milkpoint.com.br>>.

JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE AND ANIMAL SCIENCE**RULES FOR PRESENTATION OF PAPERS**

The **Journal of Veterinary Medicine and Animal Science**, from School of Veterinary Medicine and Animal Science - UNESP, Botucatu, publishes original scientific and review papers, case reports and short communications related to Veterinary Medicine and Animal Science with semestral periodicity. The journal is open to national and/or foreign contributions (in English or Spanish) under the author's full responsibility.

Publication is conditioned to preliminary evaluation by the president of the editorial board, that analyses the merit and formal aspects of the work, according to the category of submitted paper and established editorial rules. If adequate, the article is subjected to review by two experts in the field. Opinion of reviewers are kept undisclosed. There are no possibility of identification of authors and reviewers. The articles not accepted will be returned to the authors.

Manuscripts must be submitted at the journal website <http://www.fmvz.unesp.br/rvz>.

Prof. Helio Langoni

Revista "Veterinária e Zootecnia"

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP - Botucatu

18618-000 – Dist. Rubião Junior – SP – Brasil

INSTRUCTIONS TO AUTHORS**SCIENTIFIC PAPERS**

Must be prepared according to the following items:

1. Title page:

- Title of the manuscript in Portuguese, English and Spanish, using Times New Roman font 12, simple spacing, bold and centered, with the words in upper case. When necessary, indicate the financial support as first footnote;

- Full authors names, where only the first letter of each name must be in upper case at the right side of the page. The authors' names must be typed separated by line, with numbered superscript **footnotes, which will indicate** the position and author's professional address, followed by the name of the institution where the work was done or to where it is linked;

- Name, address, telephone number, fax and e-mail address for correspondence;

- In case of involvement of human or experimental animals include the Ethics Committee approval or equivalent, and type before the bibliographic references with date of approval.

2. Abstract in Portuguese, English, and Spanish

- The "resumo", abstract and "resumen" must be followed by the title in the respective language and should not exceed 400 words each, with information regarding introduction, methods, results and conclusions. Text must be justified and in a single paragraph, simple spacing, beginning with the "RESUMO". Independent of the paper language, the abstract must be submitted in English, Portuguese and Spanish.

- Must include a maximum of five "palavras-chave", keywords, and palabras claves that identify the text content.

3. The structure of the paper must include:

Introduction: Clearly state the objective of the study with brief overview of the investigated problem and literature review.

Material and Methods: Provide a concise description of the experimental methods, variables, population in study, equipment, as well as the statistics, in sufficient detail to allow other researches to reproduce the results.

Results: The results should be described without interpretation and comparisons. The results may include **tables**, which should come in a separate sheet (maximum of 5 tables) and numbered consecutively in Arabic numerals, with the title on the top, according to the rules of table presentation by ABNT/WBR 6023/2000 from Associação Brasileira de Normas Técnicas, and identified in the text as Table; **figures**, in case of graphs, photographs, drawings, maps, etc, numbered consecutively in Arabic numerals (maximum of six), cited in the text as Figure. **Photographs** may be black and white or color, identified with the author's name in the back. **Original drawings** must be printed in high quality paper.

Discussion: Should be the interpretation of the results, relative to other relevant studies, presented in the introduction. If convenient, the results and discussion may be presented together.

Conclusions: The final synthesis, based on the results and discussion.

References: Should be presented according to Vancouver rules (<http://www.icmje.org/>), and arranged in alphabetical order, by author's last name (examples in the end of the instructions).

Manuscripts **should be** edited in Microsoft Word for Windows, for text, Excel (any version) for graphs, JPEG or GIF format (images) for photographs, drawings and maps, A4 format paper (21,0 x 29,7 cm), double spaced, leaving at least 2,5 cm margins, (lateral, top and bottom of page), Times New Roman font, size 12 and numbered in Arabic numerals, beginning in the identification page. The authors will have to present numeration in the lines, restarting the counting to each new page. Illustrations and legends must be presented on separate sheets.

Reprints will not be offered. The articles will be available in PDF format at the journal website. The same rules apply for all the other sections of the journal. The manuscripts should not exceed 15 pages. Unusual abbreviations should be used only after first time citation.

REVIEW ARTICLES

The review articles will be published in Portuguese, English or Spanish, if it provides scientific contribution that is relevant in the area, when invited by the editors. The review articles must include: Title (Portuguese, English and Spanish), resumo with palavras-chave, abstract with key words and resúmen with palabras-claves, introduction, subject overview, conclusion e references. Must contain a maximum of 20 pages and 60 references.

CASE REPORTS

Should not be prepared with the same structure as the articles. The case reports must present the title in Portuguese, English and Spanish, resumo with palavras-chave, abstract with keywords and resúmen with palabras claves and references. Must contain a maximum of five pages, three tables or figures and 15 references.

SHORT COMMUNICATIONS

These are reports with new and relevant data of original studies, as preliminary results of a research. Must be presented with a maximum of five pages, one table and ten references. The structure should follow the same rules for case reports.

REFERENCES AND CITATIONS

References should be numbered consecutively in order in which they are first mentioned in the text, tables, and legends by Arabic numbers in parentheses in same sequence. The titles of journals should be abbreviated according to the style *List of Journals Indexed in Index Medicus* available from: <http://www.nlm.nih.gov>.

Examples:

Citations

O material deve ser mantido em compressas embebidas em solução fisiológica para evitar o ressecamento (5).

Aulisa (1) administrou heparina, por via intramuscular, em cobaias.

Udupa & Prasad (9) utilizaram osteoclasia manual do úmero sem imobilização

Herbsman et al. (7) realizaram osteoclasia manual no fêmur e não imobilizaram. O rato apresenta níveis mais elevados de heparina que o homem (35,42,51). O mesmo autor obteve resultados semelhantes, mesmo com metodologias diferentes (22-26).

References

List the first six authors followed by et al.

1 Journal article

Andrade SF, Sakate M. Intoxicação por amitraz: revisão. *Vet Not.* 2004;10:1-15.

Modolo JR, Stachissini AVM, Gennari SM, Dubey JP, Langoni H, Padovani CV, et al. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros de caprinos do estado de São Paulo e sua relação com o manejo dos animais. *Pesq Vet Bras.* 2008;28:597-9.

2 Organization as author

Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis.* 12nd ed. Washington; 1975.

Universidade Federal de Viçosa. SAEG: sistema de análises estatísticas e genéticas: manual do usuário: versão 7.1. Viçosa; 1997.

3 Book

Modolo JR, Stachissini AVM, Castro RS, Ravazzolo AP. Planejamento de saúde para o controle da artrite-encefalite caprina. São Paulo: Cultura Acadêmica; 2003.

4 Chapter in a book

Corrêa MC, Corrêa CNM. Estafilococias em geral. In: Corrêa MC, Corrêa CNM. *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos.* 2ª ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992. p.91-103.

Mendes AA, Saldanha ESPB. A cadeia produtiva da carne de aves no Brasil. In: Mendes AA, Naas IA, Macari M. *Produção de frangos de corte.* Campinas: FACTA, 2004. p.1-22

5 Conference paper

Malhado CHM, Piccinin A, Gimenez JN, Ramos AA, Gonçalves HC. Modelos polinomiais para descrever a curva de postura de codornas. In: *Anais do 3º Congresso Nordestino de Produção Animal; 2004, Campina Grande.* Campina Grande: Universidade Federal da Paraíba; 2004. p.1-3

6 Dissertation

Mortari AC. Avaliação da técnica de transposição do músculo semitendinoso para reparo do diafragma pélvico: estudo experimental em cães [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2004.

7 Electronic material on Internet

Vasconcelos JLM. Endometrite subclínica em vacas leiteiras. Campinas; 2004 [cited 2004 Jan 16]. Available from: <<http://www.milkpoint.com.br>>.

REVISTA “VETERINARIA Y ZOOTECNIA”

NORMAS PARA PRESENTACIÓN DE TRABAJOS

La Revista **Veterinaria y Zootecnia**, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – UNESP, Campus de Botucatu, publica artículos científicos originales, artículos de revisión de bibliografía, estudios de caso y comunicaciones cortas, relacionadas con las áreas de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, con periodicidad semestral, en las lenguas Portugués, Español o Inglés, siendo los conceptos y opiniones emitidas, de exclusiva responsabilidad de los autores.

La publicación depende de la evaluación preliminar del Presidente del Consejo Editorial, que analiza la relevancia, y los aspectos formales, de acuerdo con la categoría del artículo sometido y las normas editoriales establecidas. Si es aprobado, se adopta el mérito de la evaluación por pares, se envía para dos Revisores, de acuerdo con el área. Los conceptos además de la imparcialidad, serán mantenidos bajo estricta reserva, sin que exista la posibilidad de identificación entre autores y evaluadores. Los artículos no publicados serán devueltos.

Los trabajos deben ser enviados pela página WEB de la revista <http://www.fmvz.unesp.br/rvz>

Prof. Helio Langoni

Revista “Veterinaria y Zootecnia”

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP - Botucatu

18618-000 – Dist. Rubião Junior – SP – Brasil

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

Deben ser estructurados de acuerdo con los siguientes puntos:

1. Página principal, con:

- Título del trabajo en portugués, inglés y en español, tipo de letra Times New Roman, número 12, con espacio entre líneas sencillo, en negrilla y centrado, en letra mayúscula. Cuando sea necesario, indicar la entidad que financia la investigación, como primer pie de página;
- Nombres completos de los autores, en los cuales solamente la primera letra de cada nombre debe ser mayúscula, en lado derecho de la página. Digitalarlos separados un por línea, con **notas de pie** de página numeradas y en sobrescrito, **que indicarán** el cargo y la dirección profesional de los autores, seguidos de la institución donde el trabajo fue realizado o en las cuales están vinculados;
- Nombre, dirección, teléfono, fax y correo electrónico para correspondencia.
- En el caso de involucrar seres humanos o animales de experimentación, enviar el concepto de la Comisión de Ética o equivalente, destacando en el trabajo antes de las referencias y fecha de aprobación, así como el envío de la copia del concepto.

2. Página con resumen en Portugués, Inglés y Español.

- Tanto el “resumo”, como el “abstract”, así como el resumen, deben estar seguidos del título del trabajo, en el idioma respectivo y contener, como máximo 400 palabras cada uno, con informaciones referentes a la introducción, metodología, resultados y conclusiones. El texto debe estar ajustado (justificado) y digitado en un solo párrafo y con espacio entre líneas sencillo iniciando por el “RESUMO”. El “Abstract”, y el Resumen, deben ser fiel traducción del “Resumo”. Independiente da la lengua que el artículo fue presentado deberá contener el resumen en portugués, inglés y español.

- Deben contener como máximo, cinco “palavras-chave” “keywords”, y palabras clave que identifiquen el contenido del texto.

3. La estructura del artículo deberá contener:

Introducción: debe ser clara, objetiva y relacionada al problema investigado, y a la literatura pertinente, así como con los objetivos de la investigación. La introducción establece los objetivos del trabajo.

Materiales y Métodos: debe ofrecer informaciones de reproductibilidad de la investigación, de forma clara y concisa, como variables, población, muestra, equipos, o métodos utilizados, inclusive los estadísticos.

Resultados: Presentación de los resultados obtenidos, que deben ser descritos, sin interpretaciones y comparaciones. Podrá ser bajo la **forma de tablas**, en hojas separadas, con máximo de cinco, ordenadas en algarismos arábigos, y encabezadas por el título, de acuerdo con las normas de presentación tabular de las normas ABNT/WBR 6023/2000 de la Asociación Brasileña de Normas Técnicas, ABNT, identificadas en el texto como Tabla; bajo la **forma de figuras** en los casos de gráficos, fotografías, dibujos, mapas, etc., ordenadas en algarismos arábigos hasta un máximo de seis, y citadas en el texto como Figura. **Fotografías** pueden ser en blanco y negro o a colores; identificadas con el nombre del autor o autores al lado opuesto. En el caso de **dibujos originales**, la impresión debe ser en papel adecuado, de calidad.

Discusión: Debe ser entendida como la interpretación de los resultados, confrontando la literatura pertinente, descrita en la introducción. De ser conveniente los resultados y discusión podrán ser presentados conjuntamente.

Conclusiones: Es la síntesis final, fundamentada en los resultados y en la discusión.

Referencias: Deben ser presentadas de acuerdo con las normas de Vancouver (<http://www.icmje.org/>), y el arreglo organización debe ser en orden alfabético por apellido del autor (modelos anexos al final).

Deberán ser editados en Microsoft Word for Windows, para edición de textos, Excel (cualquier versión) para gráficos, formato JPEG o GIF (imagen) para fotografías, formato A4 (21,0 x 29,7 cm), a doble espacio, manteniendo márgenes de 2,5 cm, en las laterales, parte superior e inferior de cada página, fuente Times New Roman, número 12 y numeración consecutiva de las páginas en números arábigos, a partir de la hoja de identificación. Deberán presentar también la numeración en las líneas, recomenzando la cuenta a cada página nueva. Ilustraciones y leyendas deben ser presentadas en hojas separadas.

No se ofrecerán separatas. Los artículos estarán disponibles en el formato PDF en la página WEB de la revista. Para las demás secciones de la revista son válidas las normas anteriores. No deben exceder las 15 páginas. Abreviaturas no usuales, deben ser empleadas después de haber sido escritas por extenso en la primera utilización.

ARTÍCULOS DE REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los artículos de la revisión bibliográfica serán publicados en los idiomas portugués, inglés y español, cuando el autor presente contribución científica, importante en el área específica del asunto abordado, y por invitación de los editores.

Deberán contener: Título (portugués, inglés y español), resumen con palavras-chave, abstract con keywords e resumen con palabras claves, introducción, desarrollo del tema, conclusión y referencias. Deberán contener como máximo 20 páginas y 60 referencias (citas bibliográficas).

ESTUDIOS DE CASO

No deben ser subdivididos, como para los artículos. Deben presentar el título en portugués, en inglés y español, resumen con palavras-chave, abstract con key words e resumen con palabras-claves y referencias. Deben contener como máximo cinco páginas, tres tablas o figuras y 15 referencias bibliográficas.

COMUNICACIONES CORTAS

Son relatos con datos inéditos y relevantes de estudios originales, como por ejemplo resultados preliminares de una investigación. Deben ser presentados como máximo en cinco páginas, una tabla y 10 referencias bibliográficas. La estructuración debe respetar las normas para estudios de caso.

REFERENCIAS E CITACIONES

Numerar las referencias consecutivamente según el orden en que se mencionen por primera vez en el texto. En éste, en los cuadros y leyendas, las referencias se identificarán mediante números arábigos entre paréntesis. Abreviar los títulos de las revistas según *List of Journals Indexed in Index Medicus* disponible en: <http://www.nlm.nih.gov>.

Ejemplos

Citations

O material deve ser mantido em compressas embebidas em solução fisiológica para evitar o ressecamento (5).

Aulisa(1) administrou heparina, por via intramuscular, em cobaias.

Udupa & Prasad (9) utilizaram osteoclasia manual do úmero sem imobilização

Herbsman et al. (7) realizaram osteoclasia manual no fêmur e não imobilizaram.

O rato apresenta níveis mais elevados de heparina que o homem (35,42,51).

O mesmo autor obteve resultados semelhantes, mesmo com metodologias diferentes (22-26).

Referencias

Mencionan los seis primeros autores seguidos de la abreviatura et al.

1 Artículo de periódico

Andrade SF, Sakate M. Intoxicação por amitraz: revisão. Vet Not. 2004;10:1-15.

Modolo JR, Stachissini AVM, Gennari SM, Dubey JP, Langoni H, Padovani CV, et al. Frequência de anticorpos anti-Neospora caninum em soros de caprinos do estado de São Paulo e sua relação com o manejo dos animais. Pesq Vet Bras. 2008;28:597-9.

2 Organización como autor

Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 12nd ed. Washington; 1975.

Universidade Federal de Viçosa. SAEG: sistema de análises estatísticas e genéticas: manual do usuário: versão 7.1. Viçosa; 1997.

3 Libro

Modolo JR, Stachissini AVM, Castro RS, Ravazzolo AP. Planejamento de saúde para o controle da artrite-encefalite caprina. São Paulo: Cultura Acadêmica; 2003.

4 Capítulo en libro

Corrêa MC, Corrêa CNM. Estafilococias em geral. In: Corrêa MC, Corrêa CNM. Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos. 2ª ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992. p.91-103.

Mendes AA, Saldanha ESPB. A cadeia produtiva da carne de aves no Brasil. In: Mendes AA, Naas IA, Macari M. Produção de frangos de corte. Campinas: FACTA, 2004. p.1-22

5 Ponencias o conferencias en simposio, congreso, reuniones, etc .

Malhado CHM, Piccinin A, Gimenez JN, Ramos AA, Gonçalves HC. Modelos polinomiais para descrever a curva de postura de codornas. In: Anais do 3º Congresso Nordestino de Produção Animal; 2004, Campina Grande. Campina Grande: Universidade Federal da Paraíba; 2004. p.1-3

6 Tesis

Mortari AC. Avaliação da técnica de transposição do músculo semitendinoso para reparo do diafragma pélvico: estudo experimental em cães [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2004.

7 Medios electrónicos en Internet

Vasconcelos JLM. Endometrite subclínica em vacas leiteiras. Campinas; 2004 [cited 2004 Jan 16]. Available from: <<http://www.milkpoint.com.br>>.