

Veterinária e Zootecnia

Vet e Zootec.

2016 março; 23(1): 001-155

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 ZOOTECCIA
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
UNESP – Campus de Botucatu
18618-970 – Dist. Rubião Jr. – Botucatu – SP – Brasil
Portal: <http://www.fmvz.unesp.br/rvz>
E-mail: vetzootecnia@fmvz.unesp.br
Tel. +55 14 3880 2094

Publicação trimestral
Solicita-se permuta / *Exchange desired*
Biblioteca do Campus de Botucatu
18618-970 – Distrito de Rubião Júnior – Botucatu – SP – Brasil

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. 23, n.1, mar. (2016)
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 ZOOTECCIA* 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. Julio Cezar Durigan

Vice-Reitor

Prof^a. Dr^a. Marilza Vieira Cunha Rudge

Pró-Reitor de Pesquisa

Prof^a Dr^a Maria José Soares Mendes Giannini

Pró-Reitor de Pós-Graduação

Prof. Dr. Eduardo Kokubun

Pró-Reitor de Graduação

Prof. Dr. Laurence Duarte Colvara

Pró-Reitor de Extensão Universitária

Prof^a Dr^a Mariângela Spotti Lopes Fujita

Pró-Reitor de Administração

Prof. Dr. Carlos Antonio Gamero

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Administração da FMVZ

Diretor

Prof. Dr. José Paes de Almeida Nogueira Pinto

Vice-Diretor

Prof^a Dr^a Maria Denise Lopes

Botucatu
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
FMVZ
2016

EXPEDIENTE**Comissão Editorial**

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

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

18618-970 - 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	7
ARTIGOS DE REVISÃO/REVIEW ARTICLES/ARTÍCULOS DE REVISIÓN	
AVERMECTINAS NO AGRONEGÓCIO BRASILEIRO: UMA SOLUÇÃO OU UM PROBLEMA?/AVERMECTINS IN BRAZILIAN AGRIBUSSINESS: A SOLUTION OR A PROBLEM?/AVERMECTINAS EM AGRONEGOCIO BRASILEÑO: UMA SOLUCIÓN O UN PROBLEMA?. Susanne Rath, Cláudia Hoffmann Kowalski Schroder ,Caio Rodrigues Silva ,Fabricio de Oliveira Ferreira, Andreza Camilotti Dionizio ,Sandra Maria Dal Bosco.....	8
ANISAKIDOSE HUMANA: ZOONOSE COM RISCO POTENCIAL PARA CONSUMIDORES DE PESCADO CRU/ HUMAN ANISAKIDOSE: ZOONOSIS WITH POTENTIAL HAZARD TO CONSUMERS OF RAW FISH / ANISAKIDOSE EN EL HOMBRE: ZOONOSIS CON RIESGO POTENCIAL PARA LOS CONSUMIDORES DEL PESCADO CRUDO. Maria Emília de Souza, Elaine de Oliveira Cardoso, Lidiane Alves Leal, Talita Maria Pinheiro de Lima, Rômulo César Clemente Toledo	25
BOTULISMO EM CÃES: REVISÃO DE LITERATURA / BOTULISM IN DOGS: REVIEW ARTICLE / BOTULISMO EN CANINOS: REVISIÓN DE LITERATURA. Carolina Lechinski de Paula, Carmen Daza Bolaños, Márcio Garcia Ribeiro.....	38
ZOONOSES EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO: ASPECTOS GERAIS / ZOONOSES IN ANIMAL PRODUCTION: GENERAL ASPECTS / ZOONOSIS EN ANIMALES DE PRODUCCIÓN: ASPECTOS GENERALES. Samea Fernandes Joaquim, Giulia Soares Latosinski, Natalia Moraes Dias, Gabriela Amorim Campos, Lucas Emanuel Ferreira Canuto, Helena Maria Kiel Francisco Petillo, Cassiano Victória, Helio Langoni	49
RELATOS DE CASO/CASE REPORTS/ESTUDIOS DE CASO	
PARAGANGLIOMA EM CÃO ASSOCIADO À FALÊNCIA CARDÍACA: RELATO DE CASO / CANINE PARAGANGLIOMA ASSOCIATE WITH BANKRUPTCY CARDIAC: CASE REPORT/ PARAGANGLIOMA EN PERRO ASOCIADA CON LA INSUFICIENCIA CARDÍACA: REPORTE DE UN CASO. Diogo Sousa Zanoni, Raquel Beneton Ferioli, José Guilherme Xavier, Júlio Lopes Sequeira, Renée Laufer Amorim.....	72
RELATO DE CASO: DEGENERAÇÃO TESTICULAR EM CÃO PELO USO DE DORAMECTINA/ CASE REPORT: TESTICULAR DEGENERATION IN DOG BY DORAMECTIN / CASO CLÍNICO: DEGENERACIÓN TESTICULAR EN PERRO POR USO DORAMECTINA. Romildo Romualdo Weiss, Melina Andrea Formighieri Bertol, Ana Claudia Machinski Rangel De Abreu, Rubia Carolina Sella, Bruna Lampe Zielinski, Bruna Natali Da Costa	78
COMUNICAÇÃO CURTA/ SHORT COMMUNICATION/ COMUNICAIÓN CURTA	
ESTUDOS PRELIMINARES DOS EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA EM TILÁPIAS DO NILO MACHOS (<i>Oreochromis niloticus</i>) (Linnaeus, 1759) / PRELIMINARY STUDIES OF GAMMA RADIATION EFFECTS IN MALE NILE TILAPIA FISHES (<i>Oreochromis niloticus</i>) (Linnaeus, 1759)/ ESTUDIOS PRELIMINARES DE LOS EFECTOS DE LA RADIACIÓN GAMMA EN MACHOS DE TILAPIA DEL NILO (<i>Oreochromis niloticus</i>) (Linnaeus, 1759). Fernando Henrique Rodrigues Borin, Paulo Roberto Rodrigues Ramos, Helton Carlos Delicio, Marco Antonio Rodrigues Fernandes, Joel Mesa Hormaza.....	83
CAPACIDADE DE SUPORTE, PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO DOSSEL FORRAGEIRO DE TRÊS GRAMÍNEAS IRRIGADAS OU NÃO NO PERÍODO SECO / SUPPORT CAPACITY, PRODUCTION AND COMPOSITION OF THREE GRASSES SWARD OR NOT IRRIGATED DURING THE DROUGHT/ LA CAPACIDAD DE CARGA, PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE FORRAJES DE TRES GRAMÍNEAS IRRIGADAS O NO DURANTE LA ESTACIÓN SECA. Vinícius Silva Oliveira, Juliana Caroline Santos Santana, Jucileia Aparecida da Silva Moraes, Camila Batista Santos, Irla Gabriela Souza Lima.....	88

ARTIGOS/ARTICLES/ARTÍCULOS

- APLICAÇÃO E CONTRIBUIÇÃO DA CROMOENDOSCOPIA COM LUGOL, ÍNDIGO CARMIM E AZUL DE METILENO NO TRATO DIGESTÓRIO SUPERIOR DE CÃES / USE AND CONTRIBUTION OF CHROMOENDOSCOPY WITH LUGOL, INDIGO CARMIN AND METHYLENE BLUE IN THE UPPER DIGESTIVE TRACT OF DOGS / APLICACIÓN Y CONTRIBUCIÓN DE LA CROMOENDOSCOPIA CON LUGOL, ÍNDIGO CARMÍN Y AZUL DE METILENO EN EL TRACTO DIGESTIVO SUPERIOR DE LOS PERROS.** Emerson Legatti, Sabrina de Almeida Moreira, Carolina Quarterone, Luiz Carlos Vulcano, Sheila Canavese Rahal, Luiz Eduardo Naresse.....93
- AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DO SISTEMA DIGESTÓRIO DO BAGRE DE CANAL CRIADO EM CATIVEIRO / MORFOLOGY AND MORPHOMETRY OF THE DIGESTIVE SYSTEM OF THE CHANNEL CATFISH RAISED IN CAPTIVITY / MOROFLOGÍA Y MORFOMETRÍA DEL SISTEMA DIGESTIVO DEL BAGRE DE CANAL CREADO EM CAUTIVERIO.** Milena Toporovicz da Silva, Jorge Henrique Carneiro, Vânia Pais Cabral Castelo Campos105
- AVALIAÇÃO DAS PERDAS PROTEICAS NO *POST MORTEM* DE FRANGOS DE CORTE POR MÉTODO ELETROFORÉTICO/ EVALUATION OF PROTEIN LOSS IN *POST MORTEM* OF BROILER BY ELECTROPHORETIC METHOD/ EVALUACIÓN DE LA PÉRDIDA DE PROTEÍNAS EN *POST MORTEM* EN POLLOS POR MÉTODO ELECTROFORÉTICO.** Luciana Beckhauser Moraes, Juan Carlos Corti Lubeck, Paulo Roberto Rodrigues Ramos, Roberto Oliveira Roça, Paulo Tadeu Figueira114
- DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE SUBSTÂNCIAS COM AÇÃO ANTIMICROBIANA NOS LEITES UAT E PASTEURIZADO COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE ITABUNA-BAHIA / DETECTION OF RESIDUES OF SUBSTANCES WITH ANTIMICROBIAL ACTION IN THE UHT MILK AND PASTEURIZED MILK SOLD IN THE CITY OF ITABUNA-BAHIA / DETECCION DE RESIDUOS DE SUSTANCIAS CON ACCION ANTIMICROBIANA EN LA LECHE UAT Y PASTEURIZADA COMERCIALIZADAS EN LA CIUDAD DE ITABUNA-BAHIA.** Uílío Macks Barros Brito, Leonara Martins de Souza, Pedro Alexandre Gomes Leite, Antônio Roberto da Paixão Ribeiro123
- CARACTERÍSTICAS MORFOGÊNICAS E ESTRUTURAIS DO CAPIM-PIATÃ EM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA / MORPHOGENETIC AND STRUCTURAL CHARACTERISTICS OF GRASS PIATÃ IN SYSTEM CROP-LIVESTOCK INTEGRATION / MORFOGENÉTICA Y LAS CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DEL PASTO PIATÃ INTEGRACIÓN CULTIVO-GANADERÍA.** Andréia da Cruz Quintino, Roberto Giolo de Almeida, Joadil Gonçalves de Abreu, Manuel Claudio Motta Macedo.....131
- FORMAÇÃO DE EDUCADORES MULTIPLICADORES PARA VIGILÂNCIA E PREVENÇÃO DE ZONOSSES EM MUNICÍPIO DE MÉDIO PORTE NO BRASIL: DA ANÁLISE DAS NECESSIDADES EM SAÚDE À APLICAÇÃO PRÁTICA DE RESULTADOS/ FORMATION OF MULTIPLIER EDUCATORS FOR SURVEILLANCE AND ZONOSSES PREVENTION IN A MEDIUM CITY IN BRAZIL: FROM THE ANALYSIS OF HEALTH NEEDS TO THE PRACTICAL APPLICATION OF RESULTS/ FORMACIÓN DE EDUCADORES MULTIPLICADORES PARA LA VIGILANCIA Y LA PREVENCIÓN DE LAS ZONOSIS EN UN MUNICIPIO BRASILEÑO DE TAMAÑO MEDIO: DESDE EL ANÁLISIS DE LAS NECESIDADES DE SALUD HASTA LA APLICACIÓN PRÁCTICA DE LOS RESULTADOS.** Tassia Cristina Bello de Vasconcelos.....139

EDITORIAL

IMPORTÂNCIA DA ASSESSORIA PARA AS REVISTAS CIENTÍFICAS

Contornando problemas, chegamos ao novo volume da Revista Veterinária e Zootecnia (V. 23, n.1). Momentos como esse nos mostram que vale a pena a continuidade de uma ideia e que também há pessoas interessadas em pesquisa de qualidade, para a manutenção das revistas científicas. Se por um lado os autores são importantes, temos que lembrar e enaltecer a assessoria científica que abnegadamente permite que elas cresçam e se mantenham.

É a partir da avaliação criteriosa dessa assessoria que são aceitos ou rejeitados os artigos nas diferentes modalidades em que uma Revista publica. Esse é um ponto crucial para a manutenção e periodicidade das revistas científicas. Entre os editores de revistas, temos vivenciado essa dificuldade crescente com relação ao tempo para a conclusão na emissão dos pareceres. Agradecemos aos assessores da Revista Veterinária e Zootecnia que tem contribuído em tempo hábil para envio da conclusão de pareceres. Agradecemos por esta parceria de comprometimento com a qualidade na divulgação da ciência produzida no país.

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: Avermectinas no agronegócio brasileiro: uma solução ou um problema?; Anisakidose humana: zoonose com risco potencial para consumidores de pescado cru; Botulismo em cães: revisão de literatura; Zoonoses em animais de produção: aspectos gerais. Os relatos de caso: Paraganglioma em cão associado à falência cardíaca: relato de caso; Relato de caso: degeneração testicular em cão pelo uso de doramectina. As comunicações curtas: Estudos preliminares dos efeitos da radiação gama em tilápias do Nilo machos (*Oreochromis niloticus*) (Linnaeus, 1759); Capacidade de suporte, produção e composição do dossel forrageiro de três gramíneas irrigadas ou não no período seco. Os artigos originais: Aplicação e contribuição da cromoendoscopia com lugol, índigo carmim e azul de metileno no trato digestório superior de cães; Avaliação morfológica e morfométrica do sistema digestório do bagre de canal criado em cativeiro; Avaliação das perdas proteicas no *post mortem* de frangos de corte por método eletroforético; Detecção de resíduos de substâncias com ação antimicrobiana nos leites UAT e pasteurizado comercializados no município de Itabuna-Bahia; Características morfogênicas e estruturais do capim-piatã em sistema de integração lavoura-pecuária; Formação de educadores multiplicadores para vigilância e prevenção de zoonoses em município de médio porte no Brasil: da análise das necessidades em saúde à aplicação prática de resultados.

Prof. Helio Langoni
Editor-Chefe

AVERMECTINAS NO AGRONEGÓCIO BRASILEIRO: UMA SOLUÇÃO OU UM PROBLEMA?

Susanne Rath¹
Cláudia Hoffmann Kowalski Schroder²
Caio Rodrigues Silva³
Fabricio de Oliveira Ferreira⁴
Andreza Camilotti Dionizio⁵
Sandra Maria Dal Bosco¹

RESUMO

As avermectinas têm sido amplamente empregadas na agropecuária para o controle de endo e ectoparasitas, permitindo alavancar o agronegócio pela produção de alimentos e produtos derivados de origem animal com qualidade sanitária. No entanto, o uso desta classe de fármacos na medicina veterinária tem sido também o mais discutido no país, em decorrência do número elevado de embargos à exportação que o Brasil teve nos últimos anos devido à presença de resíduos em carnes e subprodutos. Neste contexto, reside a questão se o uso de avermectinas representa uma solução para os pecuaristas ou um problema para o governo, que tem tomado decisões a fim de limitar o uso destas. Esse artigo de revisão discute essa temática com base nas informações levantadas em bancos de dados governamentais e não governamentais e aponta as principais deficiências e alternativas nos diferentes setores da cadeia produtiva.

Palavras-chave: avermectinas, agronegócio, antiparasitários na medicina veterinária, segurança alimentar, registro de medicamentos.

AVERMECTINS IN BRAZILIAN AGRIBUSSINESS: A SOLUTION OR A PROBLEM?

ABSTRACT

Avermectins have been widely used in agriculture for the control of endo and ectoparasites, allowing the agribusiness to produce food and products of animal origin with relative health quality. However, the abusive use of these drugs has also been the most discussed in the country, due to the presence of residues in food of animal origin above their maximum limits, causing a food safety problem and economic losses from trade embargoes on exports. In this context, remains the question if the use of avermectin is a solution for ranchers or a problem for the government, which has taken decisions to limit their use. This review article discusses this issue based on the information gathered in governmental and non-governmental databases and points out the major vulnerabilities and alternatives of the different sectors in the productive chain.

¹ Pós-doc. Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.

² Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas. Contato principal para correspondência.

³ Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.

⁴ Doutorado em Química, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.

⁵ Mestrado em Química, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.

Keywords: avermectins, agribusiness, antiparasitic in veterinary medicine, food safety, drug registration.

AVERMECTINAS EM AGRONEGOCIO BRASILEÑO: UMA SOLUÇÃO O UN PROBLEMA?

RESUMEN

Las avermectinas han sido ampliamente utilizados en la agricultura para controlar endo y ectoparásitos, permitiendo la agroindustria apalancamiento mediante la producción de alimentos y productos relacionados de origen animal con calidad sanitaria. Sin embargo, el uso de este tipo de medicamentos en la medicina veterinaria también ha sido el más discutido en el país, debido al alto número de embargos de exportación que Brasil tenía en los últimos años debido a los residuos en la carne y subproductos. En este contexto se encuentra la cuestión de si el uso de avermectina es una solución para los ganaderos o un problema para el gobierno, que ha tomado decisiones para limitar el uso de estos. Este artículo de revisión se analiza esta cuestión en base a la información recogida en las bases de datos gubernamentales y no gubernamentales, y señala las principales deficiencias y alternativas en diferentes sectores de la cadena productiva.

Palabras clave: avermectina, la agroindustria, antiparasitarios en la medicina veterinaria, la seguridad alimentaria, el registro de medicamentos.

INTRODUÇÃO

O agronegócio brasileiro é um setor em franca expansão e estima-se que represente atualmente um quinto do Produto Interno Bruto (PIB). O país, com foco na competitividade e emprego de tecnologia, tem delineado um caminho para a sustentabilidade do setor.

A bovinocultura é uma parte na soma do setor da agropecuária e de grande contribuição para o PIB brasileiro e vem ajudando a mantê-lo numa taxa de crescimento positivo, como ocorreu em 2014. As perspectivas para o ano de 2015 (1) indicam que o agronegócio será o setor de destaque da economia brasileira, podendo representar 23% do PIB brasileiro, sendo o único setor com crescimento expressivo previsto, comparado com os demais setores da economia.

O amplo emprego de antiparasitários na bovinocultura, tem contribuído com esse sucesso. Os parasitas, além de reduzirem a produtividade dos animais, podem levar a um aumento da suscetibilidade a outras doenças. Segundo Grisi e Scott (2), estima-se um potencial de prejuízo na bovinocultura mundial de US\$ 13,96 bilhões se não fossem empregados compostos com atividade parasiticida.

A grande demanda por esses produtos no país pode ser verificada considerando-se o expressivo número de indústrias voltadas à sua produção instaladas no Brasil. Em 2013, o faturamento do mercado nacional de produtos farmacêuticos veterinários chegou a R\$ 3.956 milhões (3).

Esse recurso farmacológico, no entanto, quando usado indiscriminadamente ou quando as boas práticas de produção não forem seguidas, podem não ser eficazes para o propósito ao qual são destinados, levando à disseminação de doenças entre os animais e/ou conduzindo a presença indesejada de resíduos nos produtos oriundos dos animais tratados oferecendo, portanto, risco à saúde humana.

Neste contexto reside a questão se o uso de avermectinas representa uma solução para os pecuaristas, ou um problema para o governo, que tem tomado decisões a fim de limitar o uso destas, e cuja questão motivou a redação deste artigo.

Os indicadores apresentados neste trabalho foram compilados a partir de parâmetros disponíveis em bancos de dados eletrônicos de instituições governamentais e na literatura especializada. As informações sobre o número de dias de carência para abate de bovinos que receberam o medicamento, limite de ingestão diária aceitável e limite máximo de resíduo em carne bovina seguro para o consumo humano adotados pelas agências responsáveis foram levantados nos bancos de dados das seguintes instituições: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), European Medicines Agency (EMA) e Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC). As formulações, composição, dosagem, duração e carência para os medicamentos à base de avermectinas indicados pelos seus fabricantes foram obtidos das bulas dos medicamentos veterinários, disponíveis no Sindicato Nacional da Indústria para a Saúde Animal (SINDAN). Os dados sobre o senso pecuário de bovinos e o número de cabeças abatidas no Brasil foram adquiridos a partir do relatório anual do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Dados da legislação brasileira vigente foram consultados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

DESENVOLVIMENTO DO ASSUNTO

O Agronegócio

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de alimentos e matérias-primas e entre os principais fatores que permitem essa posição de destaque estão a vasta disponibilidade de áreas para a produção, o fato de ser detentor de 12 a 18% da água doce do planeta e também de possuir um clima favorável para a agropecuária, o que tem, indubitavelmente, alavancado o agronegócio brasileiro, dotando-o de extrema competitividade no comércio mundial.

O mercado de carnes, com destaques para a bovina, a suína e a de frango, é um mercado em franca expansão. Segundo dados de 2013 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (4), o país tem o maior rebanho bovino comercial do mundo, ultrapassando a marca de 213 milhões de cabeças.

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a projeção para os próximos dez anos é de que a produção de carne de frango cresça 3,9% ao ano e de que a de carne bovina tenha um incremento de 2,0% ao ano. A produção de carnes deve passar de 26,5 milhões de toneladas em 2013 para 35,8 milhões em 2023, o que representaria um acréscimo de 34,9% em um período de dez anos. O abate trimestral de animais, segundo o relatório de Estatísticas da Produção Pecuária, gira em torno de 8,5 milhões de cabeças de bovinos, 9,4 milhões de cabeças de suínos e 1,4 bilhões de cabeças de frango. Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, São Paulo, Minas Gerais e Rondônia lideraram os abates bovinos, com 70,6% do total. No Estado de São Paulo foram abatidos 3.348.472 cabeças em 2012, o que representou a produção de 8.930 mil toneladas de carne (5).

As projeções realizadas pelo MAPA indicam ainda elevadas taxas de crescimento para a exportação destes três tipos de carnes. Em 2012, o Brasil exportou carne bovina para 142 mercados, carne de frango para 152, e a carne suína para 75 mercados. Em 2013 foram exportadas 1.769 mil toneladas de carne bovina, 4.114 mil toneladas de carne de frango e 620 mil toneladas de carne suína. De acordo com os dados do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), em 2014, o Brasil possuiu o maior rebanho comercial do mundo, foi o maior exportador de carne bovina e foi o segundo maior produtor de carne (6).

A Indústria farmacêutica

Ao mesmo tempo em que se verifica um significativo aumento da produção de carnes no mercado nacional, constata-se também um crescimento em ritmo acelerado da indústria da saúde animal, sustentado principalmente pelo regime de criação intensiva. A indústria de produtos farmacêuticos veterinários corresponde ao segmento de saúde animal responsável

por manter a saúde e a produtividade dos diversos rebanhos em todo o mundo, bem como por garantir a segurança e a abundância do alimento produzido.

A grande demanda por esses produtos no país pode ser verificada considerando-se o expressivo número de indústrias voltadas à sua produção instaladas no Brasil, principalmente no estado de São Paulo. Em dezembro de 2014, de acordo com o Compêndio de Produtos Veterinários (CPVS), publicado pelo Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal (7) com o apoio da Coordenação de Fiscalização de Produtos Veterinários (CPV) do MAPA, o número de produtos veterinários registrados foi de 3.005, provenientes de 114 empresas diferentes. Em 2013, o faturamento do mercado nacional de produtos farmacêuticos veterinários chegou a R\$ 3.956 milhões. Deste montante, 27% corresponderam a comercialização de vacinas, 25% de antiparasitários e 16% de antimicrobianos. Cabe destacar que 56,3% do total de fármacos veterinários comercializados em 2013 foram destinados aos ruminantes (3).

Os dados do SINDAN apontam para o amplo emprego de antiparasitários na bovinocultura, justificado, entre outros, pela necessidade do controle de parasitoses para tornar a atividade mais eficaz e competitiva. Os parasitas, além de reduzirem a produtividade dos animais, podem levar a um aumento da suscetibilidade a outras doenças. O carrapato (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*), que infesta 80% de todo o rebanho bovino no país, leva a uma diminuição do ganho de peso do animal, redução na produção de leite, injúrias no couro, entre outros, o que resulta na redução de produtividade dos animais (8). Segundo Grisi e Scott (2), estima-se um potencial de prejuízo na bovinocultura mundial de US\$ 13,96 bilhões se não fossem empregados compostos com atividade parasiticida que combatam nematódeos gastrintestinais, carrapatos, mosca dos chifres, bernes, bicheiras e mosca dos estábulos. Como consequência desses fatos o segmento das avermectinas, segundo o SINDAN, movimenta, no Brasil, entre R\$ 400 a 500 milhões por ano.

Atualmente existem registrados no MAPA cento e trinta e quatro produtos veterinários para bovinos contendo fármacos da classe das avermectinas, os quais incluem a ivermectina, a abamectina, a doramectina e a eprinomectina.

A descoberta das avermectinas

O desenvolvimento das avermectinas foi resultado de uma colaboração entre a empresa norte americana Merck & Co. Inc. e o Instituto Kitasato do Japão em 1973 (9). O trabalho de cooperação visava o descobrimento de novos metabólitos de fermentação que fossem bioativos. Pesquisadores do Instituto Kitasato isolavam organismos das amostras de solo e realizavam testes preliminares *in vitro* para avaliar a possível presença de bioatividade (8). Os isolados ativos promissores eram então enviados à Merck, responsável por testes *in vivo*.

A amostra n° OS3153, contendo um microrganismo do solo japonês isolado por Satoshi Omura e Ruiko Oiwa, que apresentava elevada atividade anti-helmíntica, foi recebida em New Jersey em março de 1974. Os testes foram realizados na Merck pelo microbiologista Yulin Kong, usando o caldo de fermentação, sendo que o microrganismo responsável pela atividade (fungo actinomiceto) foi identificado como uma nova espécie de *Streptomyces*, sendo, segundo sugestão de Sarah Currie, denominado de *S. avermitilis*. Cabe destacar que o actinomiceto que produz avermectina é raro, uma vez que após cinco anos de sua descoberta mais de 250.000 amostras de solo testadas foram negativas para a presença deste. Apenas uma única amostra de origem italiana apresentou resultado positivo.

Foi verificado que a atividade anti-helmíntica residia no micélio do microrganismo e que a fermentação do *Streptomyces avermitilis* produzia quatro pares homólogos de lactonas macrocíclicas com estruturas correlacionadas, que foram denominadas de A₁, A₂, B₁ e B₂. Cada um destes compostos apresentava um homólogo de composição majoritária e outro de composição minoritária, sendo então subdivididos os quatro grupos originais em oito, a saber: A_{1a}, A_{1b}, A_{2a}, A_{2b}, B_{1a}, B_{1b}, B_{2a} e B_{2b} (Figura 1). Os compostos “A” têm um grupo metoxila no

carbono 5 e os do grupo “B”, um 5-hidroxi substituinte. Os compostos da série “1” tem uma dupla ligação entre os carbonos 22,23, enquanto os da série “2” apresentam uma ligação simples com um grupo hidroxila no carbono 23. Os compostos designados com a letra “a” apresentam um grupo sec-butila no carbono 25 e os de letra “b”, um grupo isopropila na mesma posição (10).

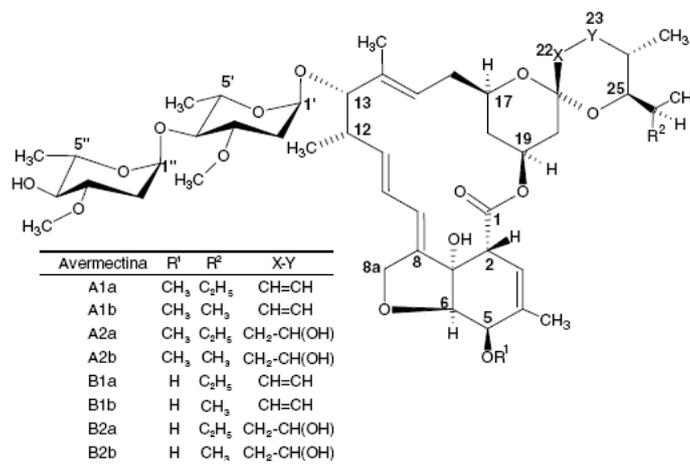


Figura 1. Estrutura das avermectinas, adaptado de Li (11).

A mais importante destas oito avermectinas, devido à sua alta potência contra um amplo espectro de parasitas em mamíferos, assim como a pestes na agricultura, é a B_{1a}, também conhecida como abamectina. A partir desta descoberta, inúmeras modificações químicas na estrutura dos compostos do grupo das avermectinas foram realizadas no intuito de reduzir a toxicidade destas em animais. A saturação da dupla ligação entre os carbonos 22 e 23 deu origem à droga revolucionária 22-23 diidro avermectina B₁ (majoritariamente B_{1a}), denominada de ivermectina. A redução da dupla ligação originou um composto com eficácia e segurança maior do que o composto original, sendo introduzido comercialmente em 1981 para o controle de nematódeos endoparasíticos e artrópodes ectoparasíticos em animais (8,9). A ivermectina é altamente efetiva contra carrapatos (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*), um dos parasitas mais importantes nos trópicos e subtropicais (8). Mas não só na medicina veterinária a ivermectina teve sucesso comercial. Em 1988, foi empregada pela primeira vez para tratar a onchocerciasis em humanos e atualmente é prescrita para o tratamento de diversas infecções internas por nematódeos e ectoparasitoses (8).

Avermectinas registradas para uso em bovinos

A primeira formulação injetável à base de ivermectina 1% para administração subcutânea em bovinos e ovinos revolucionou a quimioterapia anti-parasitária (Ivomec[®], Merck Sharp & Dohme Research Laboratories - atualmente Merial Limited). O sucesso comercial foi tão grande que dentro de um período de cinco anos a venda desse medicamento representou 16% das vendas mundiais de antiparasitários (12). Em 1998, a ivermectina com um teor de 3,15% do insumo ativo, formulação denominada de longa ação (13), foi lançada no Brasil, pelo laboratório farmacêutico Merial Saúde Animal sob a marca registrada de Ivomec Gold[®], com a capacidade de produção estimada em 70 milhões de doses/ano. Os medicamentos de longa ação têm a vantagem de reduzir o stress nos animais e diminuir o custo com a mão de obra relacionada ao manejo (2). No entanto, cabe destacar que com o aumento da dose nas formulações de longa ação, também há um aumento considerável do período de carência. Enquanto as formulações injetáveis de 1% de ivermectina têm um período de carência de 42 dias, as de longa ação (3,15 a 4%) requerem um período de carência de até 133 dias.

As doses e os períodos de carência das formulações injetáveis contendo avermectinas no mercado nacional são variados. Para a ivermectina, as doses a serem aplicadas variam de 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.v. a 800 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.v. (correspondendo a teores de 0,2 a 4% m/v do fármaco) e para a abamectina de 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.v. a 2000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.v. (correspondendo a teores de 1 a 10% m/v do fármaco) (Figura 2). Para a doramectina apenas existem registradas duas formulações com concentração de 1% m/v de uso subcutâneo ou intramuscular e para a eprinomectina uma formulação de uso tópico de 0,5% m/v (7).

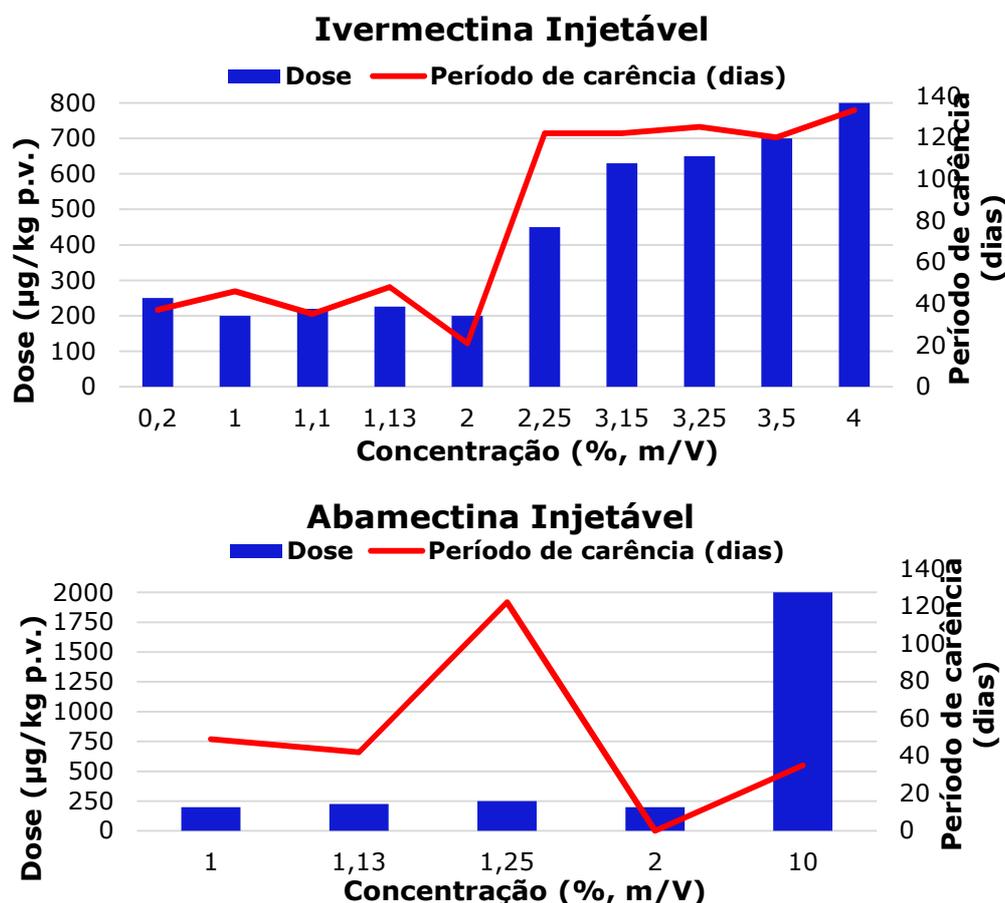


Figura 2. Período de carência e dose para as formulações injetáveis de ivermectina e abamectina. Baseado nos dados do SINDAN (7).

Em relação aos teores dos fármacos nessas formulações injetáveis, 70 e 87% dos registros de ivermectina e abamectina, respectivamente, dizem respeito a formulações contendo 1% do fármaco (Figura 3).

Atualmente, os principais fármacos da família das avermectinas empregados na medicina veterinária são: ivermectina, abamectina, doramectina e eprinomectina. Dentre elas, a eprinomectina é a única avermectina aprovada para o controle de nematódeos gastrointestinais em vacas lactantes (14).

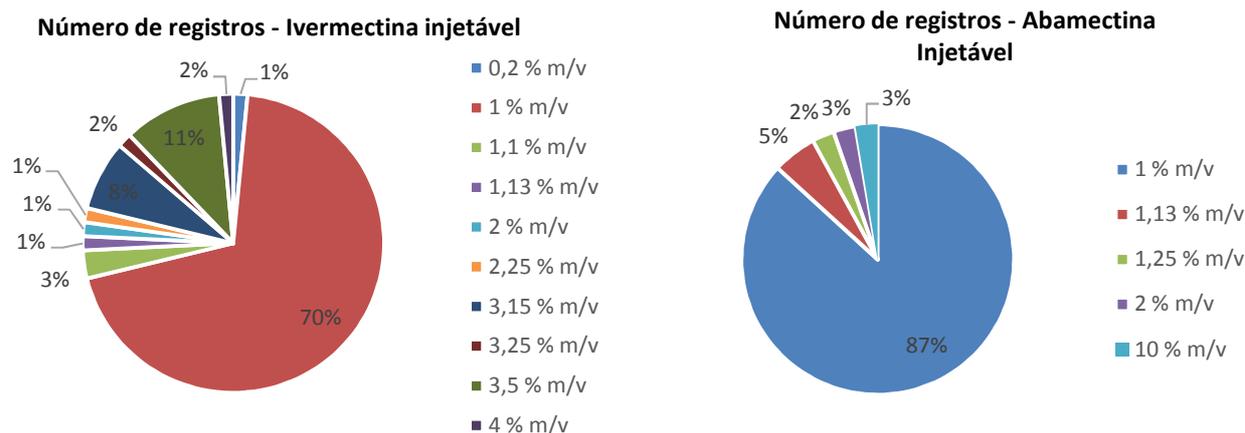


Figura 3. Teores de ivermectina e abamectina nas formulações injetáveis registradas no MAPA. Baseado nos dados do SINDAN (7).

No Brasil, a ivermectina e a abamectina foram introduzidas de forma precursora no mercado de antiparasiticidas em 1981 e 1985, respectivamente. Passados dez anos do lançamento da primeira molécula de avermectina no Brasil, a patente sobre alguns tipos de bases expirou, decorrendo no aparecimento de várias marcas diferentes de avermectinas no mercado, principalmente contendo o princípio ativo ivermectina (15).

Até dezembro de 2014 tínhamos disponível no país 131 formulações de avermectinas para bovinos registradas por diferentes laboratórios (7), sendo que 41 empresas comercializam 77 formulações contendo a ivermectina e 34 empresas são responsáveis por disponibilizar 54 medicamentos veterinários contendo o fármaco abamectina (Tabela 1). As demais avermectinas, doramectina e eprinomectina, totalizam apenas três formulações disponíveis comercialmente para bovinos.

Tabela 1. Dados sobre os registros, as empresas e as formulações comercialmente contendo avermectinas para uso em bovinos no mercado nacional. Baseado nos dados do SINDAN (7).

	Ivermectina	Abamectina	Doramectina	Eprinomectina
Número de registros	77	54	2	1
Número de empresas	41	34	2	1
Formulação oral	1	1		
Formulação subcutânea ou intramuscular	4	1	2	
Formulação tópica ou pour-on	9	15		1
Formulação subcutânea	63	37		
Concentração maior do que 1%	20	5		
Concentração até 1% com PC > 35 dias	13	15		
Denominado de LA	8	6		
Concentração até 1%, denominado de LA	3	4		

PC: período de carência; LA: longa ação.

Neste mesmo levantamento sobre as formulações disponíveis no mercado nacional, foram verificadas irregularidades, como falta do ano de registro junto ao MAPA ou ausência da informação do período de carência (Figura 4). A eprinomectina e doramectina não foram incluídas nesta figura, uma vez que existe apenas uma formulação de eprinomectina de uso tópico (*pour-on*) no mercado sem período de carência e duas de doramectina. Um dos dois medicamentos contendo doramectina não apresenta o período de carência.

Também se avaliou bulas e rótulos de 17 medicamentos comerciais contendo ivermectina e 8 contendo o fármaco abamectina, todos disponíveis em agropecuárias no Brasil. Para a ivermectina, um estava sem bula e somente 2 continham a data de validade do

medicamento. Observou-se ainda que 3 apresentavam a seguinte observação na bula “Proibido o uso deste produto em bovinos de corte criados em regime de confinamento, semi-confinamentos e em regime extensivo na fase de terminação”. Apesar desta informação não ser obrigatória na bula desses medicamentos, ela poderia auxiliar o pecuarista no cumprimento da IN SDA N° 48 (16). No caso dos medicamentos contendo a abamectina, 1 deles estava sem a bula dentro da embalagem, somente 1 continha a data de validade e 3 tinham a seguinte observação citada acima.

No que tange à fiscalização de medicamentos veterinários no Brasil, existe ainda uma grande lacuna dentro do MAPA quanto à avaliação da conformidade dos produtos que estão sendo comercializados no mercado nacional. Desde 2008, existe uma demanda para que essa fiscalização seja realizada e desde então o Laboratório Nacional Agropecuário de São Paulo (Lanagro-SP) tem preparado sua estrutura para atender essa necessidade. O objetivo final é que, juntamente com os laboratórios credenciados pelo próprio MAPA, essa rede possa realizar as análises fiscais de conformidade de teor de ativos, impurezas presentes e produtos de degradação, testes de desempenho (dureza, friabilidade, viscosidade), identificação de ativos e contaminação cruzada no caso de rações. Embora o Lanagro-SP tenha iniciado a fiscalização do teor de ivermectina e abamectina em medicamentos, o número de amostras analisadas ainda é bastante reduzido.

Medicamentos registrados no SINDAN

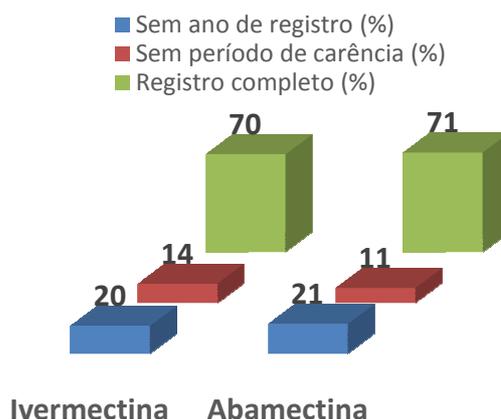


Figura 4. Irregularidades nos registros de formulações injetáveis contendo ivermectina e abamectina. Baseado nos dados do SINDAN (7).

Além disso, após 30 anos de formulações contendo avermectinas estarem disponíveis no mercado, a grande variedade de marcas comerciais, associadas às eficientes campanhas de marketing e à diminuição relativa dos preços dos produtos, tem levado a um uso intenso e indiscriminado de anti-helmínticos nos rebanhos, o que tem favorecido o aparecimento de resistência parasitária, sendo este um tema atual e amplamente discutido internacionalmente (17). A resistência aos anti-helmínticos do grupo das lactonas macrocíclicas tem feito com que a exploração de algumas espécies animais corra o risco da falta de sustentabilidade, o que tem levado as indústrias de saúde animal a desenvolver e introduzir novos produtos anti-helmínticos no mercado, como o monepantel (Novartis), emodepside (Bayer) e derquantel em associação com abamectina (17,18).

Legislação dos antiparasitários

O Decreto-Lei n° 467 de 1969 (19) foi a primeira tentativa do Ministério da Agricultura de harmonizar os conceitos referentes aos produtos de uso veterinário e trouxe critérios para sua fiscalização, comercialização e registro. Em 1995, o Decreto-Lei n° 1662 (20) ampliou as definições e trouxe os critérios para funcionamento dos estabelecimentos que fabricassem,

manipulassem, fracionassem, comercializassem, importassem ou exportassem produtos veterinários, bem como critérios de qualidade das matérias primas e produtos acabados. Esse decreto citava também os testes que deveriam ser apresentados para solicitação do registro de produtos e todas as informações que deveriam conter as bulas e os rótulos. No ano seguinte à publicação do Decreto-Lei nº 1662 o MAPA publicou a Portaria nº 74 (21) que trata do roteiro para registro de produtos veterinários. O Decreto-Lei nº 1662 foi revogado em 2004, pelo Decreto nº 5053 (22), que estava vigente até o início deste ano, quando foi publicado o Decreto nº 8448, de 06 de maio de 2015 (23).

No que diz respeito especificamente aos antiparasitários, em 1997, foi publicada a Portaria nº 48 (24) que regulamenta o licenciamento e/ou renovação de licença desses produtos, definindo critérios nos testes de eficácia para a espécie animal utilizada experimentalmente. Também foi a partir desta publicação que iniciou-se a comercialização de fármacos formulados contendo avermectinas com concentrações superiores à preparação de 1% até então comercializadas.

Segundo a Portaria nº 48, uma formulação de um antiparasitário é considerada de longa ação, ação prolongada ou ação profilática quando, em comparação com outra formulação convencional com base no mesmo ingrediente ativo, mantiver nível plasmático terapêutico ou atividade antiparasitária por um período de tempo consideravelmente maior, devendo sua ação ser comprovada com referências bibliográficas oficiais, referências científicas internacionalmente reconhecidas ou por experimentação própria conduzida dentro de metodologia científica. De acordo com esse regulamento, considera-se avermectina de longa ação:

- Produtos a base de ivermectina, abamectina, doramectina e moxidectina que contenham em sua formulação mais de 1% deste princípio ativo;
- Produtos a base de ivermectina, abamectina, doramectina e moxidectina que contenham em sua formulação até 1% deste princípio ativo e na sua indicação de uso conste o termo Longa Ação;
- Produtos a base de ivermectina, abamectina, doramectina e moxidectina que contenham em sua formulação até 1% deste princípio ativo, e período de carência superior a 35 dias.

No entanto, 14 anos após essa publicação, o MAPA publicou a Instrução Normativa SDA nº 48 (16) que proíbe o uso de avermectinas cujo período de carência seja superior a 28 dias em bovinos de corte criados em regime de confinamento e semi-confinamento e também em bovinos de corte criados em regime extensivo, quando na fase de terminação. Em maio de 2014, com a publicação da Instrução Normativa nº 13 (25) o MAPA proibiu a fabricação, manipulação, fracionamento, comercialização, importação e uso de avermectinas de longa ação em qualquer produto para uso veterinário, suspendendo também todos os registros de produtos acabados enquadrados nesta descrição. Essas duas últimas publicações demonstram uma mudança de paradigma no que diz respeito à utilização de avermectinas de longa ação no rebanho brasileiro, certamente influenciada pelos embargos internacionais à carne bovina brasileira ocorridos nos últimos anos.

Segundo essa Instrução Normativa, em 2014, 33 dos 77 medicamentos contendo ivermectina registrados e comercialmente disponíveis no mercado contendo ivermectina estavam em desacordo e para a abamectina 20 de 54 formulações teriam de ser retiradas do mercado (Tabela 1). De fato essa decisão foi amplamente discutida pela indústria e agropecuaristas, uma vez que não seria a retirada dos medicamentos de longa ação do mercado que iriam reduzir os níveis de resíduos nos produtos se as boas práticas veterinárias não fossem respeitadas. A articulação do setor produtivo fez com que o SINDAN protocolasse uma ação ordinária no Tribunal Regional Federal (TRF) em maio de 2014

solicitando a suspensão da Instrução Normativa nº 13 de 29 de maio de 2014, que proibia a fabricação, manipulação, fracionamento, comercialização e importação de avermectinas de longa ação. Em 27 de março de 2015 o juiz federal do TRF do Distrito Federal concedeu a suspensão da Instrução Normativa nº 13 com o argumento de que a suspensão do uso do produto de longa ação não se fundamenta na existência de qualquer perigo à saúde humana.

Resíduos de avermectinas em produtos de origem animal

O uso de medicamentos veterinários na criação de animais é um recurso útil e muitas vezes necessário, mas leva também à presença indesejada de resíduos dos fármacos nos produtos oriundos dos animais tratados oferecendo, portanto, risco à saúde humana.

Com base em estudos toxicológicos e farmacocinéticos, o Comitê Científico de Especialistas em Aditivos Alimentares da FAO (JECFA, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) realiza a avaliação do risco associado à presença de resíduos de fármacos veterinários em alimentos, assessorando o Codex Alimentarius em suas decisões. Nestas avaliações, são estabelecidos a ingestão diária aceitável (IDA) do fármaco e seu limite máximo de resíduo (LMR) em diferentes tecidos de animais tratados. Até a presente data, o JECFA já avaliou 106 fármacos de uso veterinário (26).

Os valores estabelecidos pelo JECFA são considerados por todos os países membros da ONU. No entanto, a EMA responsabiliza-se pela constante discussão e determinação de índices seguros de LMR e IDA para o comércio de produtos de origem animal na Comunidade Europeia. No Brasil, a Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA) do MAPA criou o PNCRC, responsável pelo monitoramento de resíduos e contaminantes em produtos de origem animal. Na Tabela 2 são apresentados os LMR e IDA para as quatro avermectinas estabelecidos pelo JECFA e comparados aos adotados pela EMA e PNCRC.

A ivermectina foi a primeira avermectina a ser avaliada pelo JECFA, em 1991, na sua 36ª reunião. Nesta, foi estabelecida uma IDA de até 1,0 µg/kg p.c./dia. Esse valor foi estabelecido com base nas avaliações toxicológicas e estudos farmacocinéticos nos quais foram aplicados, por via subcutânea, 0,2 mg/kg p.c. de ivermectina em bovinos. Foi constatado que os resíduos de ivermectina estavam alocados principalmente no fígado, gordura, rins e músculo dos animais tratados. Cabe ressaltar que nesta reunião não foram estabelecidos LMR, visto que, a concentração residual de ivermectina em animais abatidos depois de respeitados os 28 dias de carência foi persistentemente baixo, salvo na região no corpo do animal onde era aplicado o medicamento, próximo ao limite de detecção (LD = 3,0 µg/kg) dos métodos analíticos disponíveis na época da avaliação.

Nas reuniões seguintes do JECFA (40ª (1993), 44ª (1995), 54ª (2000) e 78ª (2013)) foram estabelecidos LMR para a ivermectina, com base na IDA estabelecida em 1991. Em 1993, concluiu-se que, por segurança, era necessário serem estabelecidos os LMR para a gordura (40 µg/kg) e o fígado (100 µg/kg) bovinos. Em 2000, na 54ª reunião do JECFA, foi incluído o LMR para o leite (10 µg/kg).

Tabela 2: LMR e IDA para as avermectinas estipulados pelo JECFA, EMA, PNCRC e FDA.

Avermectina	Reunião/Ano	LMR em Bovinos ($\mu\text{g}/\text{kg}$)					Carên- cia (dias)	IDA ($\mu\text{g}/\text{kg}/$ dia)
		Músculo	Fígado	Rim	Gordura	Leite		
JECFA								
Eprinomectina	50 ^a /1998	100	2000	300	250	20	-	10.0
Abamectina	45 ^a /1995	10	50	50	-	5	-	0.2
	46 ^a /1996	10	100	50	100	5	-	1.0
Doramectina	46 ^a /1996	10	100	30	150	-	>35	0.5
	52 ^a /1999	10	100	30	150	-	28	0.5
	63 ^a /2004	10	100	30	150	15	28	1.0
Ivermectina	36 ^a /1991	≤ 1	-	-	-	-	28	1.0
	40 ^a /1993	≤ 1	100	-	40	-	28	1.0
	44 ^a /1995	≤ 1	100	-	40	-	28	1.0
	54 ^a /2000	≤ 1	100	-	40	10	28	1.0
	78 ^a /2013	4	100	-	40	10	28	1.0
EMA								
Eprinomectina	EMEA/MRL/114/96	30	600	100	30	30	-	5
	EMEA/MRL/520/98	50	1500	300	250	20	-	5
	EMA/CVMP/29109/12	50	1500	300	250	20	-	5
Abamectina	EMEA/MRL/692/99	20	25	20	50	-	-	0.25
	EMEA/MRL/838/02	20	20	20	10	-	-	2.5
Doramectina	EMEA/CVMP/126676/06	40	100	60	150	-	-	1
Ivermectina	EMEA/MRL/915/04	-	100	30	100	-	-	10
	EMA/CVMP/294840/14	30	100	30	100	-	-	10
PNCRC								
Eprinomectina	2014	100	2000	-	-	20	-	-
Abamectina	2014	10	100	-	-	10	-	-
Doramectina	2014	10	100	-	-	15	-	-
Ivermectina	2014	10	100	-	-	10	-	-
FDA								
Ivermectina	NADA Number: 128-409	650	1600	-	-	-	-	-

Referência: FAO, EMA, FDA e PNCRC

Uma vez que resíduos de ivermectina foram detectados em músculo bovino, em 2010 a Comissão Europeia submeteu à EMA uma solicitação para que fosse estabelecido um LMR para esse tecido, alertando que a ausência de um valor levava à falta de clareza sobre os níveis de resíduos de ivermectina em músculo bovino aceitáveis para o consumo humano. No entanto, um LMR para o músculo bovino (4 $\mu\text{g}/\text{kg}$) veio a ser recomendado somente em 2013, durante a 78^a reunião do JECFA. Em 2014, a EMA recomendou um LMR para o músculo bovino de 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$. No Brasil, a instrução normativa SDA n^o 11, de 7 de maio de 2014, adota um LMR de 10, 100 e 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para o músculo, o fígado e o leite, respectivamente (27). É importante salientar que desde 2004 a eprinomectina, abamectina e doramectina não foram objeto de pauta dos encontros do comitê JECFA, embora medicamentos com esses insumos farmacêuticos continuem em comercialização em larga escala no mercado pecuário. A Tabela 2 mostra os valores de IDA e os LMR para as quatro avermectinas em fígado, músculo, rim e leite desde as primeiras avaliações em 1991, assim como os valores estabelecidos pelo JECFA e os adotados pela Comunidade Europeia e Brasil. Para a ivermectina, que é o fármaco mais empregado dentre as avermectinas na criação de bovinos temos três valores distintos de LMR para o músculo: 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (JECFA), 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (EMA) e 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (PNCRC). O valor do LMR superior adotado na Comunidade Europeia em relação ao estabelecido pelo JECFA advêm do maior valor (10 vezes) estabelecido para a IDA

pela EMA. A não harmonização destes valores leva a problemas na exportação de produtos de origem animal quando esses fármacos forem aplicados.

Dados publicados no PNCRC de 2012 (28) revelam que naquele ano quatro amostras de fígado estavam contaminadas por ivermectina ou abamectina, correspondendo a 2,56 % das amostras analisadas. No caso do músculo, duas amostras apresentaram concentrações acima do LMR permitido, correspondendo a 0,65 % das amostras analisadas.

Já nos dados apresentados pelo PNCRC de 2013 (29), apenas uma amostra de fígado e uma amostra de músculo estavam com concentração acima dos LMR permitido para essas matrizes, correspondendo a 0,65 e 0,42 % das amostras analisadas, respectivamente.

Barreiras sanitárias

O Brasil tem sido um dos maiores exportadores mundiais do setor de carne bovina, tendo como dois grandes importadores os Estados Unidos e a União Europeia. No entanto, esta posição está frequentemente ameaçada pelas limitações do próprio setor, que está continuamente exposto a enfermidades que afetam a produtividade e por restrições tarifárias e não tarifárias pelos maiores mercados mundiais (30).

Todavia, mesmo com toda a representatividade no comércio internacional, visualiza-se que a cadeia da carne bovina brasileira ainda necessita avançar e superar muitas barreiras como a existência de políticas protecionistas e a adequação às exigências técnicas e sanitárias dos países que integram o bloco dos grandes mercados consumidores.

Nos países que integram a Comunidade Europeia, existe um sistema de notificação chamado RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed) que permite um intercâmbio de informações rápido e eficaz entre os Estados Membros e a Comissão sempre que se detectam riscos para a saúde humana na cadeia alimentar humana ou animal. Segundo o Regulamento nº 178/2002 do Parlamento Europeu (31), existem dois tipos de notificações RASFF: (i) notificações de mercado e (ii) rejeições de fronteira. Um membro da rede envia uma notificação de mercado, quando o risco é encontrado em um produto para alimentação humana ou animal colocado no mercado. A rejeição de fronteira é notificada quando a entrada de um produto é recusada na Comunidade Europeia.

O Brasil tem enfrentado um número considerável de notificações RASFF pela Comunidade Europeia devido a presença de resíduos de ivermectina em carne bovina. Em 2010, houve uma notificação procedente da Itália informando a presença de ivermectina em carne cozida congelada destinada a produção de produtos enlatados. Na época, a Comunidade Europeia não havia definido um LMR para ivermectina na carne e os Estados Unidos operavam com um LMR de 10 µg/kg. Assim, a EMA definiu como limite de ação para ivermectina, o valor de 30 µg/kg (32).

Até 2010, as autoridades brasileiras também não haviam estabelecido LMR para resíduos de ivermectina em produtos cárneos. Após as exportações de carne processada terem sido temporariamente suspensas em maio daquele ano pelos Estados Unidos, as exportações da carne industrializada brasileira caíram 22%. Esse cenário motivou uma série de ações corretivas introduzidas pelo governo brasileiro, como a publicação da Instrução Normativa SDA nº 48 de 2011 e a inclusão no Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC) (33) das análises de músculo bovino quanto a presença de avermectinas (34). No entanto, mesmo com essas medidas, recentemente nova violação ocorreu pela presença de ivermectina na carne bovina industrializada exportada para os Estados Unidos. Esse fato, entre outros, motivou a publicação da Instrução Normativa nº 13 de 2014, conforme já citado anteriormente.

Segundo o portal RASFF (32), desde junho de 2010 até dezembro de 2014, ocorreram 56 notificações referentes à presença de ivermectina em carne bovina e subprodutos, sendo que destas, 55 dizem respeito à carne bovina vinda do Brasil. Destas, 43 dizem respeito a rejeições de fronteira, sendo que nesses casos, o produto foi destruído ou reenviado para o

Brasil. Dentre os países que emitiram mais notificações estão o Reino Unido (21 notificações), Bélgica (10 notificações) e Itália (08 notificações), sendo que a amostra mais contaminada foi analisada em 2011 e correspondeu a 1.359 µg/kg de ivermectina em uma amostra de carne cozida desossada congelada proveniente do Brasil e destinada ao Reino Unido.

Em relação a abamectina, dentre as oito notificações registradas no Portal, somente uma refere-se a amostra de carne proveniente do Brasil. Trata-se de uma amostra de carne enlatada destinada a Alemanha que foi destruída após ser determinada a presença de 20,7 µg/kg do contaminante.

Já no que diz respeito a doramectina, duas notificações de fronteira ocorreram até o momento, sendo que ambas dizem respeito a amostras de carne enlatada proveniente do Brasil e destinadas a Noruega e ao Reino Unido.

Desafios a serem superados

Através desta revisão foi possível observar que tanto os dados de registro disponibilizados pelo site do SINDAN como os dados constantes nas bulas e rótulos dos medicamentos estão incompletos, tais como a ausência do ano de registro, período de carência e data de validade. Principalmente a falta de informação sobre o período de carência pode gerar dúvidas ao pecuarista e ser mais um fator desencadeante da presença de resíduos de avermectinas nos produtos de origem animal acima do permitido.

Apesar do número elevado de medicamentos veterinários comercializados no Brasil, a fiscalização por parte do MAPA ainda é incipiente. Embora o Laboratório Nacional Agropecuário de São Paulo (Lanagro-SP) tenha iniciado a fiscalização do teor de ivermectina e abamectina em medicamentos veterinários, o número de ensaios realizados e de amostras analisadas ainda é bastante reduzido.

A conscientização do pecuarista quanto a importância de aplicar os medicamentos nos animais conforme as boas práticas veterinárias, isto é, observando as instruções de uso contidas na bula dos mesmos (espécie alvo, dosagem, via de administração ou período de carência) também é uma medida simples e eficaz que poderia reduzir os riscos de disseminar doenças entre os animais (subdosagem) bem como os riscos relacionados a presença de resíduos nos alimentos acima dos LMR permitidos (superdosagem).

Há de se lembrar também que ainda não existem medicamentos genéricos aprovados no país pelo MAPA para uso na medicina veterinária apesar da legislação já estar preparada para o registro desses produtos (23). Assim, os medicamentos disponíveis no mercado podem não ter bioequivalência estatisticamente comprovada com o medicamento de referência ou original instituído para um determinado tipo e tratamento. Esses fatos implicam na possibilidade de que existam diferenças de farmacocinética e de períodos de carência para um mesmo fármaco contemplado em duas formulações de medicamentos diferentes. Avaliando a comercialização desses produtos no mercado nacional é possível observar um grande número de medicamentos com características e especificações similares e com diferentes períodos de carência (Figura 2). Além do problema acima mencionado, essa variedade de doses e períodos de carência nas formulações disponíveis, dificulta o correto uso pelo pecuarista.

Neste sentido, é importante que seja realizada uma revisão dos períodos de carência dos medicamentos veterinários a base de avermectinas, com foco no tecido do local de aplicação e a revisão dos processos de licenciamento dos produtos existentes no mercado. Essa tem sido inclusive uma solicitação da Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne (ABIEC).

Outro aspecto importante a ser considerado é o desrespeito do local de aplicação no local do animal. As avermectinas são compostos lipofílicos e sabe-se que existe uma concentração maior da avermectina no local de aplicação. Portanto, é importante avaliar se o corte da carne no local que recebeu a administração do medicamento pode ser destinado ao

consumo humano. Além disso, é importante que os órgãos de fiscalização que atuam junto aos frigoríficos fiquem atentos ao controle de qualidade das carnes e enviem aos laboratórios oficiais e credenciados do MAPA amostras de fígado e músculo dos animais abatidos, para que os ensaios previstos no PNCRC possam ser realizados. Para isso, faz-se importante uma amostragem representativa seguindo normas internacionais.

Um problema levantado por meio desta revisão é que, atualmente, a prática de adquirir produtos veterinários de forma ilegal representa um prejuízo de 15% do segmento de saúde animal ou R\$ 600 milhões anualmente. O crescimento das vendas pela internet, de modo geral, tem contribuído para este aumento das vendas de produtos veterinários ilegais. Uma campanha lançada recentemente pelo SINDAN (35), chamada Campanha Antipirataria de Produtos de Uso Veterinário, identificou inúmeros sites que vendem estes produtos, e as imitações estão cada vez mais sofisticadas, com embalagens que parecem legítimas, incluindo informações técnicas, endereços e nomes de responsáveis técnicos. Não há um mapeamento preciso sobre os tipos de medicamentos mais pirateados, mas, sabe-se de que uma boa parte é destinada ao gado de corte (35). A iniciativa tem por objetivo informar e educar todos os elos da cadeia produtiva de proteína animal sobre os riscos e os malefícios do uso de medicamentos veterinários falsificados, contrabandeados, sem registro e formulações caseiras já que não é possível garantir sua eficiência sanitária, não havendo nenhuma comprovação de que se trata de um medicamento que proteja o animal.

A facilidade em se adquirir um fármaco para uso veterinário sem a receita de um médico veterinário é outro ponto muito importante a ser considerado. Existem inúmeros fármacos registrados para uso humano e veterinário e muitos deles podem ser obtidos em lojas agropecuárias e pela internet sem controle das autoridades sanitárias. Como exemplo, é possível adquirir antimicrobianos como norfloxacin (uso humano e animal) pela internet sem receita em sites de produtos veterinários. No entanto, sua venda para uso humano é controlada pela retenção de receita pela RDC nº 20 (36). Outro exemplo é o clenbuterol, um anabolizante proibido para uso humano, mas facilmente adquirido pela internet em sites de produtos veterinários. O mesmo é usado por fisiculturistas para obter rápida queima de gordura antes de campeonatos. Ainda em relação a esse assunto, o MAPA avalia ainda a necessidade de se instituir a venda de produtos antiparasitários sob receita arquivada de um médico-veterinário, visando prover o uso racional destes produtos. No entanto, até o momento, esses produtos ainda podem ser facilmente adquiridos pela internet.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do levantamento de dados realizado, surgem algumas indagações relacionadas aos processos envolvidos com a administração dos medicamentos veterinários nos rebanhos e também relativos à qualidade dos mesmos, o que tem reflexo no produto final, que é a carne bovina, um dos motores do agronegócio brasileiro.

A necessidade de investimentos em uma política sanitária correta, com fiscalização eficiente, e a urgência em se iniciar um processo de rastreabilidade confiável, que abranja toda a cadeia de carne e garanta a credibilidade dos produtos brasileiros no mercado internacional, são pontos fundamentais para o país manter e expandir as exportações de carnes e derivados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq/MAPA/SDA 064/2008 e 476501/2013-0) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Proc. 2009/10443-1 e 2013/09543-7) pelos auxílios recebidos. Caio Rodrigues-Silva (processo 2014/16622-3) e Sandra Dal Bosco (processo

2014/16995-4), Fabrício de O. Ferreira (processo 2013/25670-9) agradecem a FAPESP pelas bolsas de pós-doutoramento e doutorado concedidas. Cláudia H.K. Schröder (processo 350404/2014-3) agradece ao CNPq pela bolsa de pesquisa concedida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. Relatório PIBAGRO Brasil: GDP Agribusiness – Brazil Outlook. Piracicaba: CEPEA; 2014.
2. Grisi L, Scott FB. Lactonas Macroclílicas (avermectinas) de longa ação no controle de parasitismo em bovinos. *Hora Vet.* 2014;34:5.
3. Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal [Internet]. São Paulo: SINDAN; 2012 [cited 2014 Dec 9]. Available from: <http://www.sindan.org.br/sd/sindan/index.html>.
4. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [Internet]. Rio de Janeiro: IBGE; 2013 [cited 2015 Jun 19]. Available from: http://www.ibge.gov.br/biblioteca/visualizacao/periodicos/2/bn_2013_v21.pdf.
5. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada [Internet]. Piracicaba: CEPEA; 2014 [cited 2015 Jun 19]. Available from: <http://www.visioneventos-es.com.br/arquivos/evento/201BE12E311.pdf>.
6. United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service [Internet]. Washington: USDA; 2014 [cited 2014 Dec 10]. Available from: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline>.
7. Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal [Internet]. São Paulo: SINDAN; 2014 [cited 2014 Dec 30]. Available from: <http://www.cpvvs.com.br/cpvvs/>.
8. Crump A, Omura S. Ivermectin, ‘Wonder drug’ from Japan: the human use perspective. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 2011;87:13-28.
9. Campbell WC. History of avermectin and ivermectin, with notes on the history of other macrocyclic lactone antiparasitic agents. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012;13:853-65.
10. Omura S, Crump A. The life and times of ivermectin - a success story. *Nat Rev Microbiol.* 2004;2:984-9.
11. Li M, Chen Z, Lin X, Zhang X, Song Y, Wen Y, et al. Engineering of avermectin biosynthetic genes to improve production of ivermectin in *Streptomyces avermitilis*. *Bioorg Med Chem Lett.* 2008;18:5359-63.
12. Bloomfield G. Endoparasites: the veterinary market. Richmond: Animal Pharm Bookshop, PJB Publications; 1988.
13. Rosenthal H. Antiparasitário Ivomec ganha nova fórmula. [Internet]. Recife: Jornal do Comercio; 1998 [cited 2015 Oct 27]. Available from: http://www2.uol.com.br/JC/_1998/2209/ec2209n.htm.

14. Chagas ANS, Vieira LS, Aragão WR, Navarro AMC, Villela LCV. Anthelmintic action of eprinomectin in lactating Anglo-Nubian goats in Brazil. *Parasitol Res.* 2007;100:391-4.
15. Eddi CNA, Caracostantogolo J. Use of macrocyclic lactones to control cattle parasites in South America. In: Vercruyysse J R, Rew RS. *Macrocyclic lactones in antiparasitic therapy.* Wallingford: CBI Publishing; 2002. p.262-71.
16. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Instrução Normativa SDA nº 48 de 28 de dezembro de 2011. *Diário Oficial da União.* 29 Dez 2011.
17. Wolstenholme AJ, Kaplan RM. Resistance to macrocyclic lactones. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012;13:873-87.
18. Kaminsky R, Ducray P, Jung M, Clover R, Rufener L, Bouvier J, et al. A new class of anthelmintics effective against drugresistant nematodes. *Nature.* 2008;452:176-80.
19. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Decreto-Lei nº 467 de 13 de fevereiro de 1969. *Diário Oficial da União.* 14 Fev 1969.
20. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Decreto nº 1662 de 6 de outubro de 1995. *Diário Oficial da União.* 9 Out 1995.
21. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Portaria nº 74 de 19 de junho de 1996. *Diário Oficial da União.* 20 Jun 1996.
22. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Decreto nº 5053, de 22 de abril de 2004. *Diário Oficial da União.* 23 Abr 2004.
23. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Decreto nº 8448 de 6 de maio de 2015. *Diário Oficial da União.* 7 Maio 2015.
24. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Portaria nº 48 de 16 de maio de 1997. *Diário Oficial da União.* 16 Maio 1997.
25. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Instrução Normativa nº 13 de 28 de maio de 2014. *Diário Oficial da União.* 30 Maio 2014.
26. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Food Safety and Quality [Internet]. Geneva: JECFA; 2014 [cited 2014 Nov 3]. Available from: <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/en/>.
27. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Instrução normativa SDA no 11 de 7 de maio de 2014 [Internet]. São Paulo: MAPA; 2014 [cited 2015 Mar 15]. Available from: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/CRC/IN%2011%20-%20PNCRB%202014.pdf.
28. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Instrução Normativa SDA nº 7 de 27 de março de 2013 [Internet]. São Paulo: MAPA; 2013 [cited 2015 Jan 16]. Available from: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/CRC/Instru%C3%A7%C3%A3o%20Normativa%207%20-%202013%20Resultados%20PNCRB%202012.pdf.

29. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Portaria SDA nº 60 de 5 de maio de 2014 [Internet]. São Paulo: MAPA; 2014 [cited 2015 Jan 16]. Available from: <http://www.lex.com.br/legis_25493834_PORTARIA_N_60_DE_5_DE_MAIO_DE_2014.aspx>.
30. Rubin LDS, Ilha ADS, Waquil PD. O comércio potencial brasileiro de carne bovina no contexto de integração regional. *Rev Econ Sociol Rural*. 2008;46:1067-94.
31. European Commission. Regulation nº 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002. *Official Journal of the European Communities* L031. 1 Feb 2002.
32. European Commission. RASFF. Directorate general for health and consumer protection: preliminary annual report [Internet]. 2010 [cited 2014 Nov 29]. Available from: http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/docs/rasff_annual_report_2010_en.pdf.
33. Rubensam G, Barreto F, Hoff RB, Pizzolato TM. Determination of avermectin and milbemycin residues in bovine muscle by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and fluorescence detection using solvent extraction and low temperature cleanup. *Food Control*. 2013;29:55-60.
34. Mauricio AQ, Lins ES, Alvarenga MB. A national residue control plan from the analytical perspective – The Brazilian case. *Anal Chim Acta*. 2009;637:333-6.
35. Denuncieprodvetpirata. Campanha Antipirataria de Produtos de Uso Veterinário [Internet]. 2014 [cited 2015 Jun 19]. São Paulo: SINDAN; 2014. Available from: <http://www.denuncieprodvetpirata.org.br>.
36. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). RDA nº 20 de 9 de maio de 2011 [Internet]. *Diário Oficial da União*. 9 de maio de 2011; Sec. 1:39 [cited 2014 Dec 2]. Available from: <http://www.anvisa.gov.br/sngpc/Documentos2012/RDC%2020%202011.pdf>.

Recebido em: 19/06/2015

Aceito em: 25/09/2015

ANISAKIDOSE HUMANA: ZOONOSE COM RISCO POTENCIAL PARA CONSUMIDORES DE PESCADO CRU

Maria Emília de Souza¹
Elaine de Oliveira Cardoso¹
Lidiane Alves Leal¹
Talita Maria Pinheiro de Lima¹
Rômulo César Clemente Toledo²

RESUMO

Ao longo dos últimos anos no Brasil e no mundo, vem se observando um aumento no consumo de pescado de água doce e marinha. Alimentos de origem animal apresentam um grande potencial como veiculador de doenças, as chamadas DTA's (doenças veiculadas por alimentos) e com o pescado não é diferente. Dentre os agentes que podem parasitar o pescado e infectar humanos, têm-se os trematódos e nemátodos, sendo que as larvas de nematódos infectantes da família Anisakidose ocorrem com maior frequência. A anisakíose ou anisakidose humana é uma parasitose gastrointestinal causada pela ingestão acidental de larvas infectantes de nemátodos da família *Anisakidae* presente no pescado e que em alguns casos, pode se manifestar com reações de hipersensibilidade. É uma parasitose de distribuição mundial que apresenta algumas dificuldades para o diagnóstico da doença em humanos. Seu controle pode ser feito com o adequado preparo e cocção do pescado, em temperaturas superiores a 60°C por no mínimo 10 minutos. Para evitar a infecção humana por larvas da família *Anisakidae* quando do consumo de pescado cru, além de se preconizar o consumo de um produto de qualidade sanitária satisfatória, é importante que o mesmo tenha sido submetido à temperatura de congelamento de -20°C por um período de pelo menos 24 horas para inativação das larvas.

Palavras-chave: Anisakidose, *Anisakis simplex*, pescado, *Pseudoterranova decipiens*.

HUMAN ANISAKIDOSE: ZOONOSIS WITH POTENTIAL HAZARD TO CONSUMERS OF RAW FISH

ABSTRACT

Over the last years in Brazil and in the world, has been an increase of the consumption of fish from freshwater and marine. Animal foods have great potential to causing foodborne and the fish is no different. Trematodes and nematodes are common parasites in freshwater and marine fish. The nematodes of the *Aniskidae*'s famally occur more frequently. Aniskiasis is a human disease caused by ingestion of larval nematodes belonging to the family *Anisakidae*. It is a parasitic disease with a worldwide distribution that presents some difficulties for the diagnosis in humans. The control of this disease can be done with a correct cooking of the fish and seafood at high temperatures over 60°C for 10 minutes and before eating raw fish or seafood, submit it at freezing temperature of -20°C for 24 hours for inactivation of the larvae.

Keywords: Anisakidose, *Anisakis simplex*, fish, *Pseudoterranova decipiens*.

¹ Pós Graduada em Higiene e Segurança Alimentar no Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro IFTM/ Campus Ituiutaba. Contato principal para correspondência.

² Professor Doutor em Microbiologia Agrícola do Curso de Pós Graduação Lato Sensu em Higiene e Segurança Alimentar do Instituto Federal do Triângulo Mineiro/ Campus Ituiutaba.

ANISAKIDOSE EN EL HOMBRE: ZOONOSIS CON RIESGO POTENCIAL PARA LOS CONSUMIDORES DEL PESCADO CRUDO

RESUMEN

En los últimos años en Brasil y en todo el mundo, se observó un aumento en el consumo de pescado de agua dulce y marina. Los alimentos de origen animal tienen un gran potencial como diseminador de enfermedades y con el pescado no es diferente. Los helmintos que parasitan el pescado y intoxican al hombre son trematodos y nematodos, y las larvas de los nematodos de la familia Anisakidae producen patología en el hombre con más frecuencia. La anisakiosis es una parasitosis que se produce en el hombre debido al consumo de pescado crudo o insuficientemente cocinado parasitado con larvas de *Anisakis* sp. y reacciones alérgicas pueden manifestarse. Las larvas *Anisakis* se inactivan al someter los pescados a tratamientos térmicos que se alcancen temperaturas superiores a 60°C en un tiempo de 10 minutos. El hombre se intoxica con la ingesta de peces e cefalópodos en estado crudo o no bien cocidos. Para consumir pescado crudo o prácticamente en crudo deberán congelarse a una temperatura igual o inferior a -20°C durante un período de al menos 24 horas.

Palabras clave: Anisakidosis, *Anisakis simplex*, pescado, *Pseudoterranova decipiens*.

INTRODUÇÃO

Ao longo dos últimos anos no Brasil, vem sendo observado um aumento crescente no consumo de pescados de água doce e marinha incluindo espécies naturais e importadas. Este aumento no consumo de peixes e frutos do mar é decorrente da adesão da população à tradicional culinária japonesa que inclui o consumo de pescado cru em pratos como sashimi, sushi e ceviche (1). Nas últimas décadas, registrou-se um aumento no consumo mundial *per capita* de pescados passando de 9 para 16Kg/ ano e, no Brasil, a média de consumo de pescado registrado no período entre 2001 a 2003 foi de 5 a 10Kg/ano (2).

Alimentos de origem animal apresentam um grande potencial como veiculadores de doenças, as chamadas DTA's (doenças transmitidas por alimentos) e com o pescado não é diferente. O pescado apresenta perigos sanitários em potencial quando consumido cru, dentre os quais, a presença de toxinas naturais, micro-organismos patogênicos, histamina e parasitas são os mais frequentes e de maior importância para a saúde do homem (3). As ictiozoonoses (enfermidades transmitidas a humanos pelo consumo de pescado e produtos de pesca contaminados com bactérias, vírus e parasitas) constituem perigo sanitário e não devem ser ignoradas, pois mesmo alguns destes organismos não sendo patogênicos, eles são capazes de originar agravos à saúde do homem em virtude da ingestão de pescado contaminado (4).

Neste sentido, a contaminação humana por parasitas está associada ao consumo de pescados cru, mal cozidos ou que não tenham sido congelados em temperaturas e tempos adequados para inviabilizar as larvas de parasitas (5). Existe uma grande variedade de agentes que podem parasitar o pescado, porém uma pequena parcela desses parasitas é capaz de causar enfermidades em humanos (6). Dentre os agentes que podem parasitar o pescado e contaminar humanos, temos os trematodos e nematodos. Em relação aos nematodos, as larvas infectantes da família *Anisakidae* ocorrem com maior frequência (7).

Na família *Anisakidae*, as principais espécies de importância em saúde pública são *Anisakis simplex*, *Pseudoterranova decipiens* e *Contracaecum osculatum* (8). A anisakiose ou anisakidose humana é uma parasitose gastrointestinal causada pela ingestão acidental de larvas infectantes de nematodos da família *Anisakidae* presente no pescado (9), e que em alguns casos, pode se manifestar com o desenvolvimento de reações de hipersensibilidade em pessoas previamente sensibilizadas às toxinas produzidas pelo parasita (10).

Diante da importância em saúde pública e econômica da Anisakidose como parasitose humana e o crescente aumento no consumo de pescado, o presente trabalho teve por objetivo por meio de uma revisão de literatura, elucidar a comunidade científica sobre a importância de maiores estudos sobre a epidemiologia e o diagnóstico desta parasitose, além de contribuir com informações para os adeptos ao consumo de alimentos à base de pescado cru a necessidade e a importância de se consumir alimentos de boa procedência e de qualidade sanitária satisfatória.

AGENTE ETIOLÓGICO

A família *Anisakidae* inclui espécies que parasitam peixes, répteis, mamíferos e aves piscívoras. As espécies que compõem esta família são dependentes do ambiente aquático para que o seu ciclo de vida ocorra e para que o ciclo de vida se complete é necessária a participação de invertebrados e peixes como hospedeiros intermediários ou paratênicos (11). As larvas pertencentes ao Gênero *Anisakis*, *Pseudoterranova* e *Contracaecum* são as que ocorrem com maior frequência (12,13). Rego et al. (14) descreveram a presença de larvas pertencentes ao Gênero citado parasitando anchovas (*Pomatomus saltator*) e Barros e Amato (15) descreveram a presença de *Anisakis* sp. e *Contracaecum* sp. parasitando peixe espada (*Trichiurus lepturus*), sendo ambos os estudos realizados no litoral do Rio de Janeiro.

Segundo Batet (16) o termo Anisakiosis refere-se à doença causada em específico pelo parasita *Anisakis simplex* e Anisakidosis refere-se à doença causada pelas diferentes espécies da família *Anisakidae*, porém na literatura ambos os termos são usados igualmente. Relatos científicos apontam o Gênero *Anisakis* como o mais frequentemente encontrado em peixes parasitados e conseqüentemente o maior causador de infecções humanas.

O *Anisakis* spp. é um nemátodo que apresenta cinco fases de desenvolvimento, em que ocorrem mudas, sendo que os mamíferos marinhos (hospedeiros definitivos) e peixes abrigam as larvas L3. A forma larvar L3 pode acidentalmente ser ingerida por humanos, sendo a forma responsável por causar a doença (17). As larvas infectantes L3 apresentam a seguinte descrição: larvas pequenas medindo de 9 a 36mm, com presença de esôfago, ventrículo, intestino, cutícula estriada transversalmente, lábios discretos com uma projeção em forma de dente na extremidade anterior, sistema excretor assimétrico, sendo exemplificados nas Figuras 1 e 2 (18).



Figura 1. Espécies representantes da família *Anisakidae*. *Anisakis* spp. (direita) e *Pseudoterranova decipiens* (esquerda) (7).



Figura 2. Exemplar de larva L3 de *Anisakis simplex* (18).

EPIDEMIOLOGIA

A Anisakidose é uma doença que não apresenta especificidade em relação a seu hospedeiro, sendo que a presença do parasita é descrita em todos os oceanos e em uma grande diversidade de espécies de peixes e cefalópodes (16). Os reservatórios dos nemátodos são mamíferos marinhos que parasitados no trato digestivo eliminam ovos que eclodem na água, se transformam em larvas de estágio tardio. Essas larvas por sua vez infectam crustáceos que predados por peixes se infectam com as larvas que se transformam em larvas L3, tornando-se então potenciais fontes de infecção para humanos quando estes ingerem pescado cru ou insuficientemente cozido (19).

No Brasil, já se tem o relato do parasitismo por larvas da família *Anisakidae* em diferentes espécies de peixe de água doce e salgada. Silva-Júnior et al. (20), em um estudo realizado na Área de Proteção Ambiental do Rio Curiaú, Macapá, Estado do Amapá, registraram em 76% dos peixes coletados a presença de larvas de anisakuídeos, sendo que a maior quantidade de larvas foi encontrada no estômago dos peixes (46,05%) seguido do intestino (34,85%). Os peixes estudados pertencem à espécie *Acestrorhynchus lacustris*, sendo um componente da fauna importante para subsistência da população local.

No estudo realizado por Bicudo et al. (21), oitenta espécies de cabrinha (*Prionotus punctatus*) provenientes de Angra do Reis, litoral do Rio de Janeiro foram examinadas, sendo encontradas três espécies de larvas da família *Anisakidae*: *Anisakis* spp., *Hysterothylacium* spp. e *Raphidascaris* spp presentes no mesentério e fígado dos peixes. Dias et al. (22), ao estudarem espécimes de peixe porco (*Aluterus monoceros*) comercializados em estabelecimento de pescado no Rio de Janeiro, encontraram larvas de *Anisakis* spp. e *Contracaecum* spp. com uma prevalência de 16%. Resultados semelhantes foram encontrados por Saad e Luque (23). Ao avaliarem a musculatura de pargo (*Pagrus pagrus*), encontraram larvas de *Anisakis* spp., *Contracaecum* spp., *Hysterothylacium* spp. e *Raphidascaris* spp infectando 19,4% dos peixes.

Knoff et al. (24), ao estudarem espécimes de peixe congro-rosa (*Genypterus brasiliensis*) comercializados no estado do Rio de Janeiro, encontraram uma considerável variedade de espécies de larvas da família *Anisakidae* parasitando os mesmos. Das 74 espécimes de peixe estudadas, 27% estavam parasitadas por larvas vivas de *Anisakis simplex*

(13%); *Pseudoterranova* spp. (10,8%), *Pseudoterranova decipiens* (5,4%), *Hysterothylacium* spp. (2,7%), *Raphidascaris* spp. (4,1%), *Contracaecum* spp. (1,4%) e *Terranova* spp. (1,4%). Um dado importante observado pelos autores é que ocorriam infestações múltiplas em um mesmo exemplar de peixe, ou seja, diferentes espécies de larvas foram encontradas no mesmo exemplar de peixe, o que potencializa o risco de infecção humana e mostra a relevância e importância desta parasitose em saúde pública.

A distribuição de larvas da família *Anisakidae* é mundial, uma vez que o vetor responsável por transmitir a enfermidade para humanos está presente em peixes como bacalhau, sardinhas, arenques, salmão, abadejo, merluza, anchovas e cefalópodes (25). No Japão, é uma parasitose com mais de 20.000 casos anuais devido ao alto consumo de pescado cru, sendo que na Espanha, Canadá, México e Estados Unidos é uma parasitose endêmica (26), porém no Brasil, ainda não se tem relato da enfermidade no homem (27).

CICLO EVOLUTIVO E TRANSMISSÃO

O estudo de Acha e Szyfres (28) descreve o ciclo evolutivo destes nematódos. O ciclo se inicia com a postura de ovos, pelas fêmeas, que são eliminados para o ambiente, juntamente com as fezes dos hospedeiros definitivos. Uma vez no meio aquático, ocorre no interior dos ovos, o desenvolvimento dos embriões até a formação de larvas de segundo estágio (L2), que eclodem e se locomovem na água até serem ingeridas por várias espécies de crustáceos. Os crustáceos com as larvas de segundo estágio (L2) atuam como hospedeiros intermediários destes parasitas, e neles ocorre o desenvolvimento das larvas de segundo estágio (L2) em larvas de terceiro estágio (L3). Quando os crustáceos são ingeridos por uma infinidade de espécies de peixes, principalmente marinhos e moluscos cefalópodes, ocorre a liberação das larvas L3 que penetram e invadem os tecidos destes hospedeiros, encistando-se à espera do hospedeiro definitivo.

O hospedeiro definitivo, representado por peixes, lulas e crustáceos, ao ingerir os hospedeiros intermediários ou paratênicos, encerra o ciclo evolutivo destes nemátodos com o desenvolvimento dos estágios adultos e sexualmente maduros no trato gastrointestinal dos hospedeiros definitivos (29). A infecção humana, que no caso desta parasitose é uma infecção acidental, ocorre pela ingestão de peixes, lulas e crustáceos crus ou mal cozidos contendo larvas L3 em seus tecidos (30). O ciclo evolutivo dos nemátodos da família *Anisakidae* é ilustrado na Figura 3.

DOENÇA EM HUMANOS: ANISAKIOSE/ SINTOMAS CLÍNICOS

A anisakidose é o desenvolvimento do parasitismo por nemátodos do gênero *Anisakis* em humanos, sendo que estes, por sua vez, adquirem o parasita ao consumir pescado cru ou mal cozido, contaminado com as larvas do verme. A patologia em humanos se apresenta de formas clínicas variadas, pois depende da região ou local onde o parasita se aloja. A doença pode se desenvolver nas formas luminal, gástrica, subaguda crônica e alérgica. Na forma luminal as larvas do parasita no interior de órgãos se aderem assintomaticamente sem causar maiores danos ao hospedeiro, sendo que em alguns dias ou semanas a larva morre e são expulsas juntamente com as fezes (32).

Na anisakidose gástrica, as larvas do verme no estágio L3 são responsáveis por causar quadros de dores gástricas associadas a náuseas e vômitos, sendo que estes sintomas podem se manifestar de 24-48 horas após a ingestão, podendo ainda ser acompanhada de sintomas cutâneos. Quando o verme se aloja no intestino, o homem pode desenvolver sintomas semelhantes a uma apendicite ou diverticulite, que em casos mais graves pode evoluir para perfuração intestinal e peritonite. Ao aderir-se à parede da mucosa, a larva do parasita perfura a parede do tubo digestivo e induz a formação de reação inflamatória com formação de

granuloma eosinofílico. Na forma subaguda crônica, o paciente pode desenvolver sintomas variados como poliartrites e, em casos mais severos, pode ocorrer à invasão de outros órgãos como pulmão, fígado, baço e pâncreas (33).

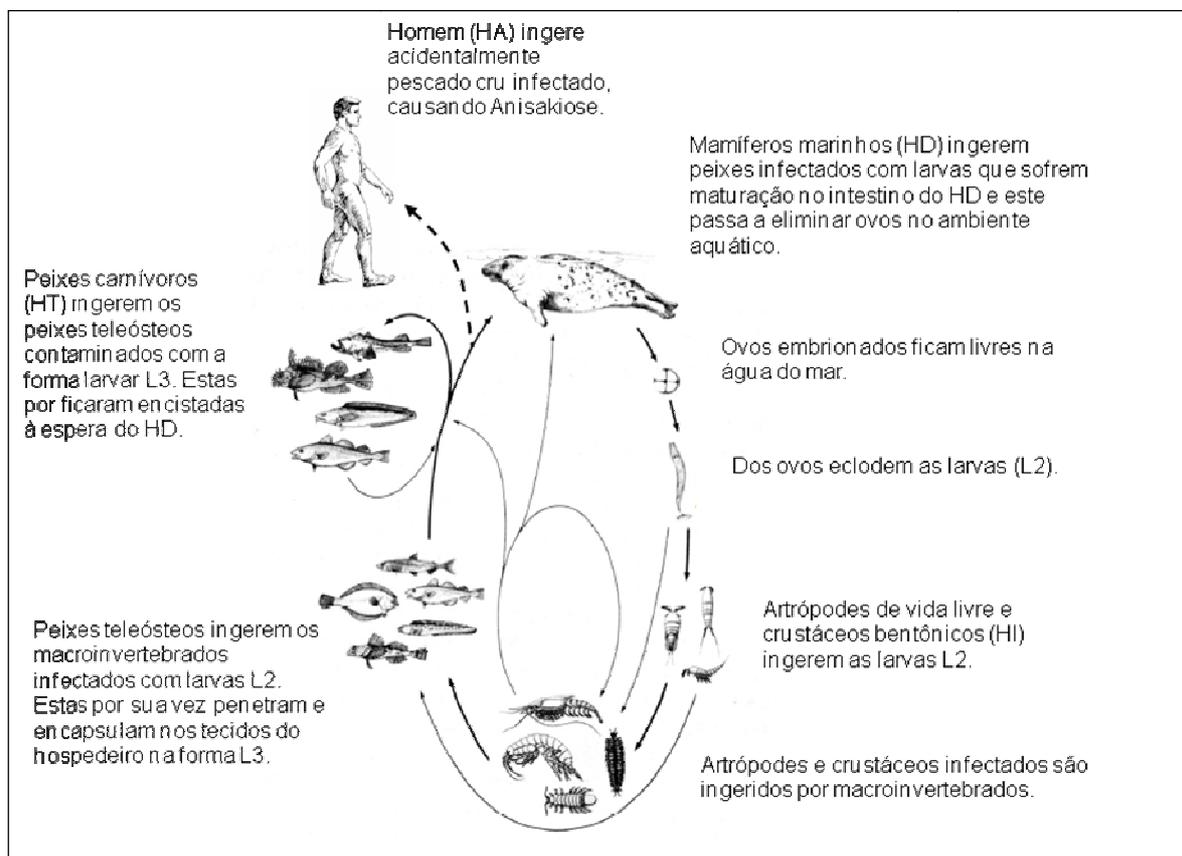


Figura 3. Ciclo evolutivo dos nemátodos da família *Anisakidae*. Legenda: HA: hospedeiro acidental; HD: hospedeiro definitivo; HI: hospedeiro intermediário; HT: hospedeiro de transporte/ paratênico (31).

Outra forma de manifestação da doença, considerada uma das mais graves, é a forma alérgica. Na forma alérgica, pode manifestar sintomas como: urticária, angioedema e, em situações extremas, anafilaxia. Estudos reportam que a reação alérgica é induzida pela produção IgE específica para a espécie *Anisakis simplex* e, desta forma, concluiu-se que os antígenos capazes de induzir a produção de IgE em humanos são termoestáveis, ou seja, a base do processo alérgico nesta situação é que o cozimento adequado do pescado não é suficiente para destruir os diversos antígenos presentes no parasita que assim são capazes de induzirem a produção e atuação das IgE, provocando os sintomas de hipersensibilidades (34).

Mesenguer et al. (35) relataram um caso de alergia e síndrome nefrótica causada pelo *Anisakis simplex* em uma mulher de 60 anos. O quadro clínico desenvolvido pela paciente caracterizou-se pela manifestação de urticária generalizada, angioedema, episódios de náuseas e sintomas renais após o consumo de anchovas cruas. Segundo os autores, este foi o primeiro relato do parasitismo por *Anisakis simplex* associado à síndrome nefrótica.

Um caso de anisakidose em uma criança lactante de 8 meses foi relatado por Castilho et al. (36). A criança, do sexo masculino, apresentava boas condições de saúde, porém, com crises aparentes de dores abdominais, acompanhadas de palidez, vômito, manifestação de choro e sem febre. Ao exame clínico, suspeitou-se de uma invaginação no intestino delgado que foi corrigida cirurgicamente com a remoção de um segmento do intestino que continha

um verme do gênero *Anisakis*. Segundo o histórico clínico, a partir dos 6 meses de idade, foi incorporada à dieta da criança alimentos à base de pescado, sendo esta uma possível fonte de contaminação.

DIAGNÓSTICO

1) Presença do parasita no pescado

Para a detecção do parasita no pescado, existem diferentes técnicas que podem ser utilizadas, sendo a inspeção visual e a técnica de transiluminação as mais empregadas na indústria de alimentos, pois são técnicas facilmente executáveis e não alteram ou destroem o aspecto do alimento (31). Além dessas, existem as técnicas de filetagem, digestão peptídica, técnicas moleculares (PCR, por exemplo), por sistema de pressão associado à observação com luz ultravioleta (37) e espectrofotometria (38) que também podem ser utilizadas, porém são mais empregadas em pesquisas e estudos.

A identificação morfológica do parasita pode ser realizada de acordo com Laffon-Leal e Myers (39). Neste procedimento, realiza-se o desencapsulamento do parasita, em seguida, a remoção dos detritos em água salgada e diafanização em lactofenol (Lactofenol, VWR). Com o auxílio de um microscópio óptico, procede-se a identificação dos parasitas estudados até gênero, com o auxílio da chave de identificação dicotômica de Berland (40).

2) Diagnóstico da Anisakidose Humana

O diagnóstico da anisakidose humana é baseado no histórico clínico e anamnese do paciente, onde o mesmo relata o consumo prévio de pescado cru ou mal cozido associado aos sintomas clínicos manifestados. Em relação aos exames, trabalhos relatam o uso da endoscopia quando se tem um quadro gástrico agudo e durante a realização do mesmo o parasita que se encontra na luz do tubo digestivo é removido. Outros exames que podem auxiliar no diagnóstico são: dosagem de IgE total; dosagem de IgE específica para *Anisakis simplex*; achado de eosinofilia periférica e radiografia simples (41). Devido às dificuldades diagnósticas, é importante que os profissionais da saúde tenham conhecimento a respeito desta parasitose para que a mesma não seja ignorada e, assim, se consigam diagnóstico e tratamento eficazes.

É importante salientar que muitas vezes a anisakidose pode ser confundida com outras enfermidades, pois a sintomatologia não é específica desta parasitose e muitos profissionais de saúde não estão bem informados a respeito da mesma. Nessa situação, a anisakidose tem sido diagnosticada como apendicite, abdome agudo, tumor gástrico, processos inflamatórios que acometem o íleo, colecistites, diverticulites, peritonite de origem tuberculosa, tumor de pâncreas e doença de Crhon's (42).

Quando se relacionam métodos de imunodiagnóstico, várias técnicas estão sendo estudadas e aprimoradas, mas reações cruzadas com outros parasitas interferem na eficácia das técnicas. Testes como fixação de complemento, imunofluorescência e eletroforese estão sendo empregados, mas a sensibilidade e especificidade de tais métodos ainda sofrem interferências nos resultados, sendo que apresentam reações cruzadas para antígenos de *Toxocara* e *Ascaris*. Um estudo desenvolvido no Instituto Osvaldo Cruz purificou por meio da cromatografia de afinidade, antígenos espécie-específico de larvas L3 de *Anisakis simplex*. A purificação destes antígenos contribui para um aperfeiçoamento das técnicas imunodiagnósticas com diagnósticos corretos e seguros desta parasitose (43).

TRATAMENTO

Em relação à anisakidose gástrica aguda, o tratamento é realizado pela remoção das larvas presentes no interior do trato gastrointestinal com o auxílio de endoscopia e sendo completado com o fármaco albendazole. Nas demais formas clínicas, o tratamento vai depender das manifestações e complicações apresentadas pelo paciente e, como não há um tratamento farmacológico específico para destruir eficazmente os parasitas viáveis *in vivo*, a prevenção é a forma mais eficaz de intervenção (44).

IMPORTÂNCIA EM SAÚDE PÚBLICA

Segundo Prado e Capuano (45), o consumo da carne de peixe é uma ótima opção para quem deseja uma alimentação saudável, pois o peixe e seus derivados apresentam importantes componentes nutricionais para saúde como altos níveis proteicos, baixo teor de gordura associados à presença de ácidos graxos benéficos. Dessa forma, os pescados que não apresentam procedência segura podem se tornar um problema de saúde pública, uma vez que quando consumidos crus, semicrus ou parcialmente defumados e se não forem tomadas as devidas medidas de controle e prevenção, eles poderão levar a quadros clínicos já explanados anteriormente.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) dispõe na Portaria n° 5, de 21 de fevereiro de 2006 uma relação que inclui as doenças nas quais a notificação é obrigatória, além de definir as doenças de notificação imediata e compulsória e a relação dos resultados laboratoriais que devem ser notificados pelos laboratórios de referência nacional ou regional e as normas para notificação dos casos (46). Conforme abordado no item sobre a epidemiologia, no Brasil, ainda não há notificação de casos, mas sim o relato da presença de larvas de terceiro estágio dos nematódeos da família *Anisakidae* em peixes marinhos da costa fluminense (23) (22), além de bacalhau importado comercializado no estado de São Paulo (45). Apesar de não ter sido diagnosticada ainda no Brasil e não constar na lista das doenças da Portaria n° 5, porém, ela pode ser enquadrada no Art. 2º, desta Portaria, que determina: “A ocorrência de agravo inusitado, caracterizado como a ocorrência de casos ou óbitos de doenças de origem desconhecida ou alteração no padrão epidemiológico de doença desconhecida, independente de constar na lista nacional de doenças e agravos de notificação compulsória, deverá também ser notificada às autoridades sanitárias”.

PREVENÇÃO E CONTROLE

Atualmente, alguns métodos de prevenção e controle para anisakidose são realizados, sendo que os métodos de salga, defumação e procedimentos similares não são capazes de eliminar as larvas do parasita presente no pescado. No caso do consumo do pescado por humanos, uma forma eficaz de eliminar o parasita seria o tratamento térmico onde o preparo do mesmo atingisse temperaturas superiores a 60°C por pelo menos 10 minutos no interior do produto (47). Outros processos de tratamento térmico como pasteurização, cocção e retortagem utilizados na indústria de alimentos também são capazes de eliminar a atividade dos parasitas, tanto na forma de verme adulto, quanto na forma larval (48).

Para o consumo de pescado cru, preconiza-se que o mesmo seja submetido ao congelamento com temperaturas em torno de -20°C por pelo menos 24 horas, ou a -35°C por período não inferior a 15 horas, pois estas temperaturas são capazes de matar possíveis larvas presentes no pescado. Os procedimentos de salga e conservas reduzem o perigo de contaminação, porém não os eliminam (32).

Além dos métodos preventivos já mencionados, outro procedimento redutor do perigo está relacionado à remoção das vísceras do peixe logo após a pesca, pois este procedimento

evita que as larvas presentes no interior do intestino dos peixes migrem e se alojem na musculatura contaminando-as. Associado à evisceração, procede-se a observação física da carne no processo de filetagem, com o uso de luz direcionada contra a carne que permite a localização de possíveis nódulos encistados na musculatura (49).

Knoff et al. (24) salientaram que o meio mais eficaz para o controle da anisakidose humana é a proibição da venda de peixes que não sejam submetidas aos processos descritos acima, frisando a importância da evisceração dos peixes imediatamente após sua captura, para prevenir a possível migração das larvas para a musculatura. Vale salientar que, no Brasil, existem dispositivos legais que consideram impróprio para o consumo humano todo pescado que apresentar infestação muscular maciça (50).

Em relação às práticas pesqueiras, o congelamento do material resultante da evisceração dos peixes após a captura, antes da sua eliminação para o mar, deve ser realizado, uma vez que esse procedimento garante a inativação das larvas da família *Anisakidae* presente neste material, prevenindo e evitando-se assim a infecção de peixes e crustáceos, ou seja, diminuindo a prevalência do parasita nos estoques naturais de peixe (47).

Um possível método de prevenção para a anisakidose está relacionado à irradiação do pescado. Padovani et al. (51) avaliaram o efeito da radiação gama em larvas de *Anisakis* spp. em três diferentes dosagens, 1, 3 e 6 kGy. O estudo revelou que a dosagem efetiva foi a de 6 kGy, porém, novos experimentos devem ser realizados, uma vez que nesta dosagem a irradiação foi capaz de eliminar algumas larvas, sendo que algumas se mostraram viáveis ainda por 14 dias.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante das considerações feitas nesse estudo, pode-se concluir que a parasitose em humanos causada por vermes da família *Anisakidae* apresenta uma grande importância, pois mesmo sendo hospedeiros acidentais, a presença do verme em determinadas situações é capaz de trazer prejuízos significativos para estes. As mudanças nos hábitos alimentares da população, com uma maior adesão aos hábitos da culinária oriental, na qual se tem o consumo de pescado cru, é um fator relevante para que a epidemiologia dessa parasitose sofra alterações e que os casos humanos tenham seus registros aumentados. Sendo assim, é importante que novos estudos relacionados aos métodos que eliminem os vermes do pescado sejam realizados, garantindo assim que se chegue à mesa do consumidor um produto de qualidade sanitária satisfatória e assim prevenir a ocorrência desta parasitose.

Além disso, estudos relacionados ao diagnóstico da anisakidose em humanos também devem ser realizados com maior ênfase, de forma que a identificação da doença seja mais precisa, não podendo ainda deixar de considerar que os profissionais da saúde na maioria das vezes, não tem o devido conhecimento a respeito dos sintomas e da própria doença o que poderia estar subestimando a presença da anisakidose em humanos no Brasil, uma vez que vários estudos já relacionaram a presença do verme parasitando peixes da fauna brasileira e que são comercializados em grandes centros urbanos.

Por último, seriam interessantes pesquisas relacionadas a fármacos capazes de eliminar os vermes em humanos, pois uma vez realizado todas as medidas preventivas, e se mesmo assim o verme chegar a atingi-los, a ação destes medicamentos eliminaria os vermes antes de causarem danos, e para quem é adepto ao consumo de pescado cru, seria uma alternativa para a prevenção da anisakidose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Carvalho JN, Santos GC, Pereira FC, Paiva A, Moura BL. Importância da Anisakidose como zoonose parasitária. In: Anais da 10a Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX, 2010; Recife. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco; 2010.
2. Silva ML, Matté, GR, Matté MH. Aspectos sanitários da comercialização de pescado em feiras livres da cidade de São Paulo. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2008;67(3):208-14.
3. Masson ML, Pinto RA. Perigos potenciais associados ao consumo de alimentos derivados de peixe cru. *Bol CEPPA*. 1998;16(1):71-84.
4. Quijada J, Santos CAL, Avdalov N. Enfermedades parasitarias por consumo de pescado. Incidencia en América Latina. *Infopesca Int*. 2005;24:16-24.
5. Bier JW. Anisakiasis. *Laboratory diagnosis of infectious diseases*. New York: Springer-Verlang; 1988.
6. Ferre I. Anisakiosis y otras zoonosis parasitarias transmitidas por consumo de pescado. *Rev AquaTIC* [Internet]. 2001 [cited 2012 Set 7];14(6). Available from: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=&c=122>.
7. Alejo-Plata MC, Guevara GCL, Medina GG. Larvas de Anisakis sp (Nematoda: Anisakidae), presentes en el pez dorado (*Corhyphanea hippurus*), en las costas de Oaxaca. *Cienc Mar* [Internet]. 2003 [cited 2012 Set 7];7:45-9. Available from: <http://www.umar.mx/revistas/20/larvas.pdf>.
8. Gomez B, Arroabarren S, Garrido M, Anda AI. Alergia a Anisakis simplex. In: *Anales Sis San Navarra*; 2003; Pamplona, Espanha. Pamplona; 2003. p.2-6.
9. Nawa Y, Hatz C, Blum J. Sushi delights and parasites: the risk of fishborne and foodborne parasitic zoonoses in Asia. *Clin Infect Dis*. 2005;41(9):1297-303.
10. Moneo I, Caballero ML, Gómez F, Ortega E, Alonso MJ. Isolation and characterization of a major allergen from the fish parasite Anisakis simplex. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;106:177-82.
11. Gibson DI. The systematic of ascaroid nematodes – a current assessment. In: Stone AR, Platt HM, Khalil LF. *Concepts in nematode systematic: proceedings of an international symposium held jointly with the Association of Applied Biologists, in Cambridge*. New York: Academic Press; 1983. p.321-38.
12. Cardia DFF, Bresciani KDS. Helminthoses zoonóticas transmitidas pelo consumo inadequado de peixes. *Vet Zootec*. 2012;19(1):55-65.
13. Cortazares JF, Campos RC. Intoxicación por Anisakis. *Bol Clin Hosp Infant Edo Son*. 2009;26(1):43-7.
14. Rego AA, Vicente JJ, Santos CP, Weikid RM. Parasitas de anchovas, *Pomatomus saltatrix* (L.) do Rio de Janeiro. *Ciênc Cult*. 1983;35:1329-36.

15. Barros GC, Amato JFR. Larvas de anisakídeos de peixe-espada, *Trichiurus lepturus* L., da costa do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Bras Biol.* 1993;53(2):241-5.
16. Batet CM. Anisakiosis y Anisakidosis [Internet]. *Control Calidad Seimc.* 2002 [cited 2012 Set 7];1-6. Available from: <http://www.seimc.org/control/>.
17. Audicana MT. Anisakis: su papel en la anafilaxia. *Alergol Inmunol Clín.* 2000;15(2):65-73.
18. Al-Zubaidy AB. Third-stage larvae of *Anisakis simplex* (Rudolphi, 1980) in the Red Sea Fishes, Yemen Coast. *Mar Sci.* 2010;21(1):95-112.
19. Cabrera R, Tillo-Altamirano MDP. Anisakidosis: ¿Uma zoonosis parasitaria marina desconocida o emergente em el Perú? *Rev Gastroenterol Peru.* 2004;24(4):335-42.
20. Silva Júnior ACS, Ramos JS, Gama CS. Parasitismo de larvas de Anisakidae em *Acestrotrichus lacustris* da área de proteção ambiental do Rio Curiaú, Macapá, Estado do Amapá. *Rev Bras Eng Pesca.* 2011;6(2):1-10.
21. Bicudo AJA, Tavares LER, Luque JL. Larvas de Anisakidae (Nematoda: Ascaridoidea) parasitas da cabrinha *Prionotus punctatus* (Bloch, 1793) (Osteichthyes: Triglididae) do Litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2005;14(1):109-18.
22. Dias FJE, São Clemente SC, Knoff M. Nematoides anisakuídeos e cestoides Trypanorhyncha de importância em saúde pública em *Aluterus monóceros* (Linnaeus, 1758) no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2010;19:94-7.
23. Saad CDR, Luque JL. Larvas de Anisakidae na musculatura do pargo, *Pagrus pagrus*, no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2009;18 Supl 1:71-3.
24. Knoff M, São Clemente SC, Fonseca MCG, Andrada CDG, Padovani RES, Gomes DC. Anisakidae parasitos de congro-rosa, *Genypterus brasiliensis* Regan, 1903 comercializados no estado do Rio de Janeiro, Brasil de interesse na saúde pública. *Parasitol Latinoam.* 2007;62(3-4):127-33.
25. Sanmartín ML, Quintero P, Iglesias R, Santamaría MT, Leiro J, Ubeira FM. Nemátodos parásitos en peces de las costas gallegas. Madrid: Díaz de Santos; 1994.
26. Jofre ML, Neira PO, Noemi IH, Cervá JLC. Pseudoterranovosis y sushi. *Rev Chil Infect.* 2008;25(3):200-5.
27. Centro de Vigilância Epidemiológica de São Paulo (BR). Manual de doenças transmitidas por alimentos – *Anisakis simplex* e vermes relacionados [Internet]. São Paulo; 2005 [cited 2012 Nov 15]. Available from: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/anisakis.htm>.
28. Acha P, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. *Cad Saúde Pública.* 2005;21(3):988-9.
29. Chai JK, Darwin Murrel K, Lymbery AJ. Fish-borne parasitic zoonoses: status and issues. *Int J Parasitol.* 2005;35(11-12):1233-54.

30. Anderson RC. Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission. 2a ed. Wallingford: CAB International; 2000.
31. Petrie A, Wootten R, Bruno D, MacKenzie K, Bron J. A survey of *Anisakis* and *Pseudoterranova* in Scottish fisheries and the efficacy of current detection methods. *Gov Vet J*. 2009;20(1):28-31.
32. Ramos P. *Anisakis* spp. em bacalhau, sushi e sashimi: risco de infecção parasitária e alergia. *Rev Port Cienc Vet*. 2011;110:87-97.
33. Nunes C, Ladeira S, Mergulhão A. Alergia ao *Anisakis simplex* na população portuguesa. *Rev Port Imun [Internet]*. 2003 [cited 2012 Nov 8];11(1):30-40. Available from: http://rpi.spaic.pt/arquivos/?imr=8&fmo=artigo&ia=2&ano=2003&edicao=221&id_pub=1&opcao=2003.
34. Serrano MCL, Alonso-Gómez A, Moreno-Ancillo A, Daschner A, Parga JS. Anisakiasis gastro-alérgica: hipersensibilidad inmediata debida a parasitación por *Anisakis simplex*. *Alergol Inmunol Clin*. 2000;15(4):230-6.
35. Mesenguer J, Navarro V, Sánchez-Guerrero I, Bartolomé B, Álvarez JMN. *Anisakis simplex* allergy na nephrotic syndrome. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2007;35(5):216-20.
36. Castilho CD, Martínez VC, Ossandón CF. Anisakiasis en um lactante. *Rev Chil Pediatr*. 2003;74(4):415-6.
37. Kark M, Leinmann M. A fast and quantitative detection method for nematodes in fish fillets and fishery products. *Arsh Lebensmittelhyg*. 1993;44(5):105-28.
38. Heia K, Sivertsen AH, Stormo SK, Elvevoll E, Wold JP, Nilsen H. Detection of nematodes in cod (*Gadus morhua*) fillets by imaging Spectroscopy. *J Food Sci*. 2007;72(1):11-5.
39. Laffon-Leal SM, Myers BJ. Cebiche – a potential souce of humam anisakiasis in México? *J Helminthol*. 2000;74(2):151-4.
40. Berland B. Nematodes from some Norwegian marine fishes. *Sarsia*. 1961;2(1):1-50.
41. Ortega JD, Martínez-Cócera C. Guía de actuación em patologia producida por *Anisakis*. *Alergol Inmuol Clin*. 2000;15:267-72.
42. Sakanari JA, McKerrow JH. Anisakiasis. *Clin Microbiol Rev*. 1989;2(3):278-84.
43. Rodero M, Jiménez A, Cuéllar C. Evaluation by ELISA of *Anisakis simplex* larval antigen purified by affinity chromatography. *Mem Isnt Oswaldo Cruz*. 2002;97(2):247-52.
44. Arias-Diaz J, Zuloaga J, Vara E, Balibrea J, Balibrea JL. Efficacy of albendazole agains *Anisakis simplex* in vitro. *Dig Liver Dis*. 2006;38(1):24-6.

45. Prado SPT, Capuano DM. Relato de nematoides da família Anisakidae em bacalhau comercializado em Ribeirão Preto, SP. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2006;39(6):580-1.
46. Ministério da Saúde (BR). Portaria nº5, de 21 de fevereiro de 2006. Inclui doenças na relação nacional de notificação compulsória, define doenças de notificação imediata, relação dos resultados laboratoriais que devem ser notificados pelos laboratórios de Referência Nacional ou Regional e normas para notificação de casos. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. 2006 Fev. 22. Seção 1, p. 34.
47. Ministerio de Sanidad y Consumo (ES). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre medidas para reducir el riesgo asociado a la presencia de Anisakis [Internet]. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. 2007 [cited 2012 out 20]. Available from: http://www.aesan.msc.es/buscador_general/resultado_busqueda.jsp.
48. Food and Drug Administration. Fish and fishery products, hazard and controls guide (21CFR 123). Washington; 1996. p. 23823.
49. Silva MER, Eiras JC. Occurrence of Anisaki sp. In fishes off the Portuguese West coast and evaluation of its zoonotic potential. *Bull Eur Assoc Fish Pathol*. 2003;23(1):13-7.
50. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BR). Decreto 30.691, de 29 de março de 1952. Regulamento de Inspeção Indústria e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. 1952 Jul. 7. Seção 1, p. 10829.
51. Padovani RES, Knoff M, São Clemente SC, Mesquita EFM, Jesus EFO, Gomes DC. The effect of in vitro gamma radiation on Anisakis sp. Larvae collected from the pink cusk-ell, *Genypterus brasiliensis* Regan, 1903. *Rev Bras Cienc Vet*. 2005;12(1-3):137-41.

Recebido em: 29/01/2013

Aceito em: 22/02/2016

BOTULISMO EM CÃES: REVISÃO DE LITERATURA

Carolina Lechinski de Paula¹
Carmen Daza Bolaños¹
Márcio Garcia Ribeiro¹

RESUMO

O botulismo é uma enfermidade causada pela ingestão de toxinas produzidas pelo *Clostridium botulinum*, bactéria gram-positiva, anaeróbica e formadora de esporos, que está amplamente distribuída na natureza, no solo e em sedimentos de lagos e mares. Em cães, a doença ocorre principalmente pela ingestão da toxina pré-formada presente em alimentos deteriorados ou carcaças em decomposição. Após a absorção, a toxina migra por via hematogênica até as terminações nervosas e bloqueia a liberação da acetilcolina na membrana pré-sináptica da junção neuromuscular, resultando em paralisia completa do neurônio motor inferior. Os cães acometidos apresentam paralisia flácida ascendente da musculatura esquelética, embora a sensibilidade e a consciência sejam mantidas. O diagnóstico presuntivo é realizado com base no histórico do animal e nas manifestações clínicas. A técnica padrão para o diagnóstico definitivo é a inoculação intraperitoneal de soro sanguíneo dos animais suspeitos em camundongos. O tratamento de suporte é fundamental para a recuperação. O prognóstico é bom, exceto nos casos com infecções secundárias ou outras complicações. A recuperação é completa geralmente entre 2 a 3 semanas. Nos casos mais severos, pode ocorrer a morte por paralisia da musculatura respiratória. A profilaxia da doença nos cães é baseada na restrição ao consumo de alimentos deteriorados ou carcaças em putrefação.

Palavras – chave: botulismo, *Clostridium botulinum*, toxina, cães.

BOTULISM IN DOGS: REVIEW ARTICLE**ABSTRACT**

Botulism is a disease caused by ingestion of toxins produced by *Clostridium botulinum*, a gram positive bacterium, anaerobic spore-forming, which are widely distributed in nature, soil and sediments of lakes and seas. In dogs, the disease mainly occurs by ingestion of preformed toxin present in spoiled food or rotting carcasses. Once absorbed, the toxin migrates through hematogenous until the nerve endings and blocks the release of acetylcholine at the presynaptic membrane of the neuromuscular junction, resulting in complete paralysis of the lower motor neuron. The affected dogs have ascending flaccid paralysis of the skeletal muscles, although the sensitivity and awareness are maintained. Initial diagnosis is carried out through the history of the animal as well as clinical manifestations. The standard technique for definitive diagnosis is intraperitoneal inoculation of blood serum of suspected animals in mice. Supportive care is essential to recovery. The prognosis is good if there is no development of secondary infections or other complications. The recovery is complete after a period of 2 to 3 weeks. In more severe cases, death can occur due to paralysis of the respiratory muscles. The prevention of the disease in dogs is based on restricting the consumption of spoiled food or rotting carcasses.

Keywords: botulism, *Clostridium botulinum*, toxin, dogs.

¹ Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública/Área de Enfermidades Infecciosas dos Animais. FMVZ-Unesp-Botucatu. Contato principal para correspondência.

BOTULISMO EN CANINOS: REVISIÓN DE LITERATURA

RESUMEN

El botulismo es una enfermedad causada por la ingestión de toxinas producidas por *Clostridium botulinum*, bacteria gram-positiva, anaerobia y formadora de esporas, que está ampliamente distribuida en la naturaleza, suelo y sedimentos de lagos y mares. En caninos, la enfermedad ocurre principalmente por la ingestión de la toxina preformada presente en alimentos deteriorados o carcasas en descomposición. Después de ser absorbida, la toxina migra por vía hematogena hasta las terminaciones nerviosas y bloquea la liberación de acetilcolina en la membrana presináptica de la unión neuromuscular, resultando en parálisis completa de la neurona motora inferior. Los caninos afectados presentan parálisis flácida ascendente de la musculatura esquelética, aunque la sensibilidad y la conciencia sean mantenidas. El diagnóstico presuntivo se hace basado en la historia del animal, así como en las manifestaciones clínicas. La técnica estándar para el diagnóstico definitivo es la inoculación intraperitoneal de suero sanguíneo de los animales sospechosos en ratones. El tratamiento de soporte es fundamental para la recuperación. El pronóstico es bueno, excepto en casos con infecciones secundarias o otras complicaciones. La recuperación es completa generalmente entre 2 a 3 semanas. En los casos más severos puede ocurrir muerte por parálisis de la musculatura respiratoria. La profilaxis de la enfermedad en los caninos está basada en la restricción del consumo de alimentos deteriorados o carcasas en putrefacción.

Palabras clave: botulismo, *Clostridium botulinum*, toxina, caninos.

INTRODUÇÃO

O botulismo é uma doença neuromuscular grave, não contagiosa, resultante da ação de uma potente toxina produzida pela bactéria *Clostridium botulinum* (1), caracterizada por paralisia flácida da musculatura esquelética (2,3,4). A doença é observada principalmente em equinos, ruminantes e aves domésticas (5), enquanto nos cães e outros carnívoros é considerada rara (2).

O botulismo foi primeiramente descrito na Alemanha no século XVIII, após um surto associado à ingestão de salsicha de produção doméstica, de onde se originou o nome da doença (*botulus* em latim significa salsicha) (1). Nos animais domésticos, o botulismo é conhecido há aproximadamente 50 anos (6).

C. botulinum produz neurotoxinas características (BoNT – *botulinum neurotoxin*) (7). Atualmente, são conhecidos sete sorotipos de toxinas (A-G), cada um produzido por diferentes linhagens de *C. botulinum*, que causam paralisia muscular flácida a partir do bloqueio da liberação do neurotransmissor acetilcolina nas junções neuromusculares (8). A toxina botulínica é considerada o veneno biológico mais potente já conhecido, visto que são necessários apenas 40 gramas para matar uma população de seis bilhões de habitantes (9,10).

A doença nos cães ocorre devido à ingestão de alimentos putrefatos ou carcaças em decomposição que contenham a toxina botulínica do tipo C (2,11). O tratamento dos animais é sintomático. O diagnóstico de rotina é fundamentado nas manifestações clínicas e histórico do animal (4). A prova biológica em camundongos é o principal método de diagnóstico laboratorial (12,13,14). A prevenção da doença nos cães se baseia em evitar o consumo de alimentos crus ou em putrefação, principalmente oriundos de aves e ruminantes (2).

Apesar de o Brasil apresentar condições favoráveis ao desenvolvimento do botulismo, ainda são poucos os estudos que demonstram a verdadeira realidade brasileira diante da enfermidade (15), ficando a grande maioria das descrições da doença em cães restritas aos

relatos de casos. O presente estudo revisou os principais aspectos de botulismo em cães com ênfase na etiologia, patogenia, diagnóstico e controle.

Etiologia

C. botulinum são bacilos gram-positivos, retos a ligeiramente curvos, móveis, formadores de esporos, saprófitas e anaeróbicos, distribuídos nos solos de todo o mundo (16). A bactéria pertence à microbiota do trato intestinal de equinos, bovinos e aves, onde se multiplica e é eliminada em grandes quantidades nas fezes por mais de oito semanas após o início da colonização (17,18). À microscopia, se apresentam sob a forma de bastonetes de 0,5 a 2,0 µm de largura e 1,6 a 22 µm de comprimento, com esporos ovais subterminais (2).

Estas bactérias produzem toxinas com propriedades farmacológicas similares, porém antígenicamente diferentes (14,19). Sete tipos antígenicamente distintos de neurotoxina botulínica (BoNT) foram identificados: A, B, C, D, E, F e G (13). Todos os tipos possuem estrutura semelhante e mesmo efeito neurotóxico (2). Os tipos A, B, E e F estão associados com a doença em humanos (20,21). A toxina tipo G foi associada a alguns casos de morte súbita, enquanto que os tipos C e D são quase exclusivamente identificados em animais (18,22-25). O tipo D é mais prevalente em herbívoros e o tipo C predomina em aves e carnívoros (14).

As toxinas botulínicas são consideradas as mais potentes toxinas, apresentando DL50 de 1 a 5ng/kg (26). A toxina não é secretada, sendo liberada exclusivamente por lise das células vegetativas ou esporos (16). Os esporos de *C. botulinum* são as formas mais resistentes dentre os agentes bacterianos, podendo sobreviver por mais de 30 anos em meio líquido e, provavelmente, por maior tempo ainda em estado seco (17). Os esporos podem tolerar temperaturas de 100°C por horas. Para destruí-los, os alimentos contaminados devem ser aquecidos a 120°C por 30 minutos. A resistência dos esporos ao calor varia entre as linhagens (18).

Condições anaeróbicas e ambiente com nutrientes apropriados (altas quantidades de material orgânico) são requeridos para a germinação dos esporos e divisão celular (2). O organismo multiplica-se em condições anaeróbicas e de baixa acidez (pH acima de 4,6°C) (14). A toxina tipo C é estável na faixa de pH de 2,7 a 10,2 (27). A bactéria multiplica-se em temperaturas entre 15 e 45°C, embora algumas linhagens possam multiplicar-se a temperaturas tão baixas como 6°C (2). A temperatura ótima para que a bactéria assuma a forma vegetativa é de 37°C (1). Ao contrário dos esporos, as toxinas botulínicas são termolábeis, inativadas pelo aquecimento a 100 °C por 5 minutos (24,25,28).

Epidemiologia

Em cães, apesar da baixa frequência, a doença ocorre geralmente pela ação da toxina do tipo C, oriunda da ingestão de carne deteriorada, ingredientes alimentares estragados e, principalmente, de carniça (11). Açudes contaminados pela toxina também constituem fontes de contaminação para cães de propriedades rurais (29,30). Em áreas endêmicas para botulismo, carcaças de animais mortos são invadidas pelo *C. botulinum* com produção subsequente de elevadas concentrações de toxinas, de modo que quantidades muito pequenas da carne ou de ossos contêm toxina em concentrações letais. A toxina pode persistir na carniça de animais de produção por no mínimo um ano (31).

Nas zonas de clima temperado, o botulismo apresenta-se quase que exclusivamente nos meses quentes do verão. Temperaturas compreendidas entre 22° e 37°C nestas regiões favorecem a produção de toxina pela bactéria no alimento (6).

Patogenia

As neurotoxinas botulínicas são metalproteínas polipeptídicas de 150 kDa (32,33). Todas as BoNT são compostas de uma cadeia pesada (H) de 100 kDa e uma cadeia leve (L) de 50 kDa. As cadeias H e L estão conectadas por uma ligação do tipo simples dissulfureto intercadeias (32,34) considerada essencial para a toxicidade (35). A BoNT é inativa quando eliminada, (32,35) requerendo clivagem por enzimas proteolíticas para formar a molécula de cadeia dupla, altamente ativa (36).

Após a ingestão, as toxinas são absorvidas principalmente no intestino delgado, atingindo o sistema linfático via endocitose, semelhante ao que ocorre com proteínas do alimento. A toxina pode continuar a ser absorvida no intestino grosso e cólon, mas este processo ocorre lentamente. A partir do sistema linfático, a toxina entra na corrente sanguínea (2).

A toxina absorvida é ligada na forma de cadeias de dissulfureto (16), atingindo os terminais nervosos colinérgicos periféricos (33). Após a ligação, a toxina atravessa a membrana da célula por endocitose mediada por receptor (20). A toxina é internalizada em uma vesícula dotada de uma bomba de prótons ATPase (26,33). Uma porção da molécula penetra na célula nervosa e bloqueia a liberação de neurotransmissores. O bloqueio da liberação de acetilcolina é causado pela clivagem dependente de zinco de um ou dois dos três componentes do núcleo do aparelho de neuroexocitose, formado pelas proteínas SNARE (Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor [NSF] attachment receptor) (16,19,26). Sintaxina, Sinaptobrevina e SNAP-25 são proteínas SNARE essenciais para a ancoragem e fusão de vesículas sinápticas com a membrana pré-sináptica, eventos que levam à liberação da acetilcolina na junção neuromuscular (2,16).

Diferentes tipos de toxina botulínica podem clivar várias proteínas dentro do sistema de neuroexocitose na membrana. A toxina do tipo C tem como alvo a sintaxina e SNAP-25 (19), com clivagem da sintaxina considerada a mais significativa na patogenia (19,35).

A ação da toxina do tipo C não altera a formação de vesículas sinápticas, tampouco o número e a distribuição ao longo da membrana pré-sináptica. A liberação do neurotransmissor simplesmente não ocorre, pois as vesículas não se fundem com a membrana pré-sináptica (32).

A ligação da toxina ao terminal neural da junção neuromuscular é irreversível e o bloqueio neuromuscular resulta na destruição da placa motora terminal (37). O elevado peso molecular da toxina botulínica a impede de atravessar a barreira hematoencefálica, de modo que todos os sintomas neurológicos de botulismo estão relacionados com o sistema nervoso periférico (38).

As BoNTs não causam a morte do neurônio afetado. Se o animal sobreviver, a recuperação ocorre por inativação das cadeias L, remoção das proteínas truncadas e síntese de novo sistema SNARE, com recuperação dos componentes funcionais das junções neuromusculares. Assim, animais com botulismo têm o potencial para a recuperação completa da função neurológica, sem sequelas (2).

Manifestações Clínicas

O botulismo em cães é reconhecido como doença rara (2). Em todas as espécies de animais domésticos, o botulismo é caracterizado pela disfunção generalizada do neurônio motor inferior, levando à fraqueza e paralisia flácida (2). O período de incubação em cães varia de 24 a 48 horas, podendo se prolongar até seis dias após a ingestão da toxina (39).

A gravidade dos sinais clínicos está diretamente relacionada à susceptibilidade individual e quantidade de toxina ingerida. Com efeito, mais precoces são os sinais, maior a gravidade da doença (2). Os cães acometidos apresentam astenia ascendente simétrica que

pode resultar em tetraplegia (2,3). O tônus muscular está reduzido e os reflexos espinhais estão ausentes, embora a movimentação da cauda seja preservada (4). A percepção da dor está intacta e não ocorrem atrofia muscular nem hiperestesia (3).

Os cães acometidos ocasionalmente apresentam disfunções em nervos cranianos, com perda do reflexo pupilar à luz, vocalização fraca, fraqueza facial, diminuição do tônus mandibular e disfagia (2,4). Podem ocorrer sinais parassimpáticos como diminuição da produção de saliva e lágrima, midríase, constipação, e retenção urinária (40). Ceratoconjuntivite seca bilateral ocorre devido à diminuição da produção lacrimal (2). É comum o aparecimento de regurgitação, decorrente do desenvolvimento de megaesôfago (4).

A duração da doença em cães que se recuperaram varia de 14 a 24 dias (2). Em casos severos a morte pode resultar de paralisia da musculatura respiratória (2,3,4), ou devido às infecções secundárias, principalmente em trato respiratório e urinário (2). Mesmo em casos aparentemente menos graves pode ocorrer morte por pneumonia por aspiração (40).

Diagnóstico

O diagnóstico de rotina do botulismo canino é baseado nas manifestações clínicas e/ou no histórico do animal, que geralmente envolve a ingestão de alimentos deteriorados ou carcaças decompostas (4). Os exames laboratoriais em cães (hemograma, bioquímica sérica, urinálise) se apresentam comumente dentro dos limites de referência (2,3), a menos que ocorram complicações como úlceras de decúbito e infecções do trato respiratório ou urinário (2). Radiografias torácicas podem revelar megaesôfago e pneumonia por aspiração (41).

A eletromiografia (EMG) demonstra que a disfunção do neurônio motor inferior em cães clinicamente afetados ocorre na junção neuromuscular e talvez na condução dos nervos periféricos (3). Com a evolução da doença, a eletromiografia pode acusar potenciais de fibrilação e atividade insercional prolongada, baixa amplitude do potencial de ação muscular evocado e desaceleração das velocidades motoras e sensoriais no nervo periférico. A restauração da velocidade e amplitude corresponde a uma melhoria clínica (42). A biópsia do nervo ou do músculo pode ser empregada na exclusão de alguns diagnósticos diferenciais não infecciosos (40).

O isolamento de *C. botulinum* a partir de fezes ou conteúdo intestinal deve ser avaliado com cautela, posto que o esporo pode ser encontrado normalmente no trato gastrointestinal de animais sadios (43).

Além disso, o isolamento do organismo é demorado, requer instalações especializadas e pessoal treinado. *C. botulinum* produtor de toxina do tipo C é considerado um dos mais fastidiosos, visto que exige condições estritas de anaerobiose (2).

Não são detectadas lesões características na necropsia. As alterações patológicas podem ser atribuídas à ação paralisante da toxina, principalmente na musculatura respiratória. Não há efeito da toxina em algum órgão em particular (44).

O diagnóstico definitivo do botulismo é baseado na demonstração da toxina no soro, fezes, vômito ou conteúdo estomacal, ou em amostras do alimento ingerido. O soro deve ser coletado o mais cedo possível do início do curso da doença e, preferencialmente, quando o animal apresentar sinais clínicos evidentes (2).

O método padrão e mais confiável de identificação da toxina permanece o bioensaio ou inoculação em camundongos (12-14). O teste consiste em inocular 0,5 ml do soro sanguíneo do animal com suspeita clínica na cavidade peritoneal de camundongos. É necessário também manter um grupo controle de camundongos que não recebem inoculação. Os animais são observados em intervalos de 3 a 4 horas, por até 72 horas, para verificar possíveis alterações no comportamento e estado físico. Após a inoculação, caso os camundongos apresentem pelos eriçados, dispneia, relaxamento muscular característico na região abdominal denominado de “cintura de vespa”, dificuldade de locomoção e morte, sugere-se presença de toxina ativa na

amostra. Os animais controles não devem apresentar sinal da doença e nem evoluir para óbito (1).

O teste é extremamente sensível, com limite de detecção entre 10 a 20 pg de toxina/mL. Porém, apresenta desvantagens como o uso de animais de laboratório e exige a utilização de testes de neutralização para a determinação do sorotipo da toxina (7).

A tentativa de substituição dos testes que utilizam animais de laboratório têm resultado no desenvolvimento de ensaios *in vitro*, os quais podem apresentar a sensibilidade e a confiabilidade do bioensaio em camundongos (45). Estes testes incluem técnicas de radioimunoensaio, hemaglutinação passiva e ELISA (39).

Os principais diagnósticos diferenciais do botulismo em cães incluem a raiva, polirradiculoneurite e miastenia gravis aguda (2,4). A raiva deve ser considerada como diagnóstico diferencial nos cães gravemente acometidos, mas, de modo geral, está associada à alteração do estado mental e morte em até dez dias. A fraqueza dos músculos da face, mandíbula e da faringe é mais pronunciada no botulismo do que na polirradiculoneurite aguda (4).

Tratamento

Não há tratamento específico para o botulismo em cães (4). O tratamento de suporte é fundamental, posto que a recuperação espontânea ocorrerá se a quantidade ingerida de toxina não for alta e se infecções do trato respiratório e urinário forem evitadas (2,3). Nos animais com ingestão recente de alimento suspeito, a remoção de material a partir do trato intestinal por lavagem gástrica, catárticos ou enemas pode ser útil (2). Agentes catárticos contendo magnésio podem aumentar a ação da toxina botulínica (14).

Animais afetados devem ser mantidos em piso confortável devido ao decúbito prolongado, com auxílio na alimentação (3). O débito urinário requer monitoramento e, se necessário, a bexiga deve ser esvaziada com compressão manual. Enemas e laxantes podem ser realizados caso ocorra constipação (2,46). Fluidos parentais devem ser administrados para evitar a desidratação, especialmente se a deglutição é prejudicada (2).

Para evitar a alteração da microbiota intestinal, que favorece a multiplicação de *C. botulinum*, antibacterianos devem ser administrados apenas quando necessário, em casos onde ocorra o desenvolvimento de infecções secundárias. A antibioticoterapia com penicilina (10.000 - 30.000 UI, VO, a cada 12 horas) ou Metronidazol (5 mg/kg, VO, a cada 3 horas) tem sido realizada em cães na tentativa de reduzir a microbiota intestinal dos clostrídios patogênicos (2,3). A eficácia destes fármacos é controversa, visto que a doença geralmente é causada pela ingestão da toxina pré-formada e porque nenhum fármaco é capaz de eliminar totalmente o *C. botulinum* do intestino. A possibilidade de que estes fármacos possam agravar a doença por liberar mais toxinas mediante lise bacteriana ou promovendo infecção intestinal também é considerada (2).

Para o tratamento específico, a antitoxina tipo C pode ser administrada via intramuscular em duas injeções, com intervalo de quatro horas, na dose de 10.000U (4). A antitoxina não é de fácil obtenção no mercado brasileiro (47) e o uso é controverso (3), uma vez que é eficaz se for administrada no início do curso da doença, pois não atua na toxina ligada nas terminações nervosas, fato que ocorre rapidamente após a absorção (2). Nenhum fármaco está disponível comercialmente para humanos ou animais que antagonize os efeitos das toxinas botulínicas (32).

Prognóstico

O prognóstico é bom para os cães leve a moderadamente acometidos. Nesses casos, a recuperação ocorre em 2 a 3 semanas. Nos casos mais graves, o prognóstico é reservado,

ocorrendo o óbito por paralisia dos músculos respiratórios ou infecções secundárias, principalmente pulmonares e das vias urinárias (2,48,49).

Prevenção e Controle

A profilaxia do botulismo em cães pode ser aplicada por restrição ao acesso à carne putrefata, não permissão ao consumo de carne crua de aves e alimentos contaminados ou inadequadamente cozidos (50). O aquecimento dos alimentos a 80°C por 30 minutos ou a 100°C por 10 minutos inativa a toxina botulínica (2). Vacinas com toxóides botulínicos são utilizadas em outras espécies como forma de prevenção, principalmente ruminantes e aves silvestres (51-53). Entretanto, no caso dos cães, a vacinação não é justificável, uma vez que casos de botulismo nesta espécie são raros (2). Animais recuperados não desenvolvem imunidade devido a baixa quantidade de toxina necessária para produzir sinais clínicos (54).

Saúde Pública

Os animais afetados com botulismo não representam risco para os humanos no momento do exame clínico ou tratamento. Entretanto, devem ser tomados cuidados ao manusear espécimes clínicos que possam conter a toxina, mantendo-as devidamente identificadas e acondicionadas antes do envio ao laboratório (2). Profissionais que processam amostras suspeitas ou que fazem a necropsia de animais que morreram de botulismo apresentam risco de adquirir a doença por inalação de aerossóis da toxina ou contaminação de feridas (38).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Botulismo é considerado doença rara em cães. Descrições da doença no Brasil estão comumente restritas aos relatos de casos. No país, a doença é mais estudada em bovinos. Apesar de necessários, estudos epidemiológicos mais detalhados que revelem a real prevalência em cães ou que envolvam grande número de animais são difíceis de serem realizados. Deve-se salientar o risco maior da doença em cães errantes ou que habitem áreas rurais, que possam ter acesso à comida deteriorada ou carcaças em decomposição, ressaltando a importância da aplicação de um destino correto para esses materiais.

A quantidade de toxina ingerida determina a gravidade da doença, caracterizada por paralisia flácida generalizada, associada à preservação do movimento da cauda e à percepção dolorosa normal. Contrariamente a outros diferenciais, o botulismo tem tratamento sintomático e prognóstico bom. Os animais que se recuperam não apresentam imunidade para a doença, nem o desenvolvimento de sequelas. O diagnóstico de botulismo pode se complicar devido ao desconhecimento da doença por alguns clínicos, fato relacionado à raridade dos casos em algumas regiões e à falta de estudos epidemiológicos sobre a doença. O diagnóstico definitivo nem sempre é realizado, uma vez que são necessários laboratórios especializados e técnicos treinados, além da utilização de animais de laboratório. Várias outras técnicas diagnósticas estão em desenvolvimento, visando a simplificação dos procedimentos e segurança nos resultados.

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual integrado de vigilância epidemiológica de botulismo. Brasília: Editora do Ministério da Saúde; 2006.
2. Barsanti JA. Botulism. In: Greene CE. Infectious diseases of the dog and cat. 4th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012. p.416-22.
3. Greene CE. Moléstias bacterianas. In: Ettinger SJ, Feldman EC. Tratado de medicina interna veterinária: moléstias do cão e do gato. 4a ed. São Paulo: Manole; 1997.
4. Taylor SM. Doenças neuromusculares. In: Nelson RW, Couto CG. Medicina interna de pequenos animais. 4a ed. São Paulo: Elsevier; 2010. p.1104-9.
5. Biberstein EL, Hirsh DC. Os clostrídios. In: Hirsh DC, Zee YC. Microbiologia veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003. p.219-30.
6. Beer J. Doenças infecciosas em animais domésticos. 2a ed. São Paulo: Roca; 1999. p.255-60.
7. Mcgrath S, Dooley JSG, Haylock RW. Quantification of Clostridium botulinum toxin gene expression by competitive reverse transcription-PCR. Appl Environ Microbiol. 2000;66:1423-8.
8. Singh BR. Intimate details of the most poisonous poison. Nat Struct Biol. 2000;7:617-9.
9. Arnon SS. Human tetanus and human botulism. In: Rood JI, McClane BA, Songer JG, Titball RW. The clostridia: molecular biology and pathogenesis. California: Academic Press; 1997. p.95-115.
10. Ledermann W. Historia del Clostridium botulinum. Rev Chil Infectol. 2003;20:39-41.
11. Jones TC, Hunt RD, King NW. Patologia veterinária. 6a ed. São Paulo: Manole; 1997.
12. Fenicia L, Franciosa G, Pourshaban M, Aureli P. Intestinal toxemia in two young people, caused by Clostridium butyricum type E. Clin Infect Dis. 1999;29:1381-7.
13. Fernandez RA, Ciccarelli AS. Botulism: laboratory methods and epidemiology. Anaerobe. 1999;5:165-8.
14. Shapiro RL, Hatheway C, Swerdlow DL. Botulism in the United States: a clinical and epidemiologic review. Ann Intern Med. 1998;129:221-8.
15. Maboni F, Monego F, Dutra I, Costa MM, Vargas AC. Ocorrência de botulismo em bovinos confinados no Rio Grande do Sul. Cienc Anim Bras. 2010;11:962-5.
16. Chaddock JA, Melling J. Clostridium botulinum and associated neurotoxins. In: Sussman M. Molecular medical microbiology. San Diego: Academic Press; 2001. p.1141-52.
17. Cereser ND, Costa FMR, Rossi Júnior OD, Silva DAR, Sperotto VR. Botulismo de origem alimentar. Cienc Rural. 2008;38:280-7.

18. Eduardo MBP, Mello MLD, Katsuya EM, Campos JC. Manual de Botulismo: orientações para profissionais de saúde. São Paulo; 2002.
19. Humeau Y, Doussau F, Grant NJ. How botulinum and tetanus neurotoxins block neurotransmitter release. *Biochimie*. 2000;82:427-46.
20. Bleck TP. *Clostridium botulinum*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. New York: Churchill Livingstone; 1995. p.218-81.
21. Ferrari ND, Weisse ME. Botulism. *Adv Pediatr Infect Dis*. 1995;10:81-91.
22. Kalluri P, Crowe C, Reller M, Gaul L, Hayslett J, Barth S, et al. An outbreak of foodborne Botulism Associated with Food Sold at a Salvage Store in Texas. *Clin Infect Dis*. 2003;37:1490-5.
23. Cardoso T, Costa M, Almeida HC, Guimaraes M. Botulismo alimentar: estudo retrospectivo de cinco casos. *Acta Med Port*. 2004;17:54-8.
24. Sobel J, Tucker N, Sulka A, McLaughlin J, Maslanka S. Foodborne Botulism in the United States, 1990-2000. *Emerg Infect Dis*. 2004;10:1606-11.
25. Sobel J. Food Safety - Botulism. *Clin Infect Dis*. 2005;41:1167-73.
26. Montecucco C, Molgo J. Botulinal neurotoxins: revival of an old killer. *Curr Opin Pharmacol*. 2005;5:274-9.
27. Halouzka J, Hubalek Z. Effect of pH on the stability of type-C toxin of *Clostridium botulinum*. *Folia Microbiol*. 1992;37:157-8.
28. Hutzler RU. Botulismo. In: Coura JR. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. p.1563-6.
29. Colbachini L, Schocken-Iturrino RP, Marquez LC. Intoxicação experimental de bovinos com toxina botulínica tipo D. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 1999;51:229-34.
30. Bruchim Y, Steinman A, Markovitz M, Baneth G, Elad D, Shpigel NY. Toxicological, bacteriological and serological diagnosis of botulism in a dog. *Vet Rec*. 2006;158:768-9.
31. Radostis OM, Blood DC, Gay CC. Clínica Veterinária. 9a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.
32. Atassi MZ, Oshima M. Structure, activity, and immune (T and B cell) recognition of botulinum neurotoxins. *Crit Rev Immunol*. 1999;19:219-60.
33. Rossetto O, Morbiato L, Caccin P, Rigoni M, Montecucco C. Presynaptic enzymatic neurotoxins. *J Neurochem*. 2006;97:1534-45.
34. Hadley HS, Wheeler JL, Petersen SW. Effects of intra-articular botulinum toxin type A (Botox®) in dogs with chronic osteoarthritis. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. 2010;4:255-8.
35. Rossetto O. Tetanus and botulinum neurotoxins: turning bad guys into good by research. *Toxicon*. 2001;39:27-41.

36. Midura TF. Infant botulism. *Clin Microbiol Rev.* 1996;2:119-25.
37. Edwards RC, Butt FYS, Bonacci CA, Kendall KA. Wound botulism: a clinical experience. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1997;117:S214-8.
38. Horowitz B Z. Botulinum toxin. *Crit Care Clin.* 2005;21:825-39.
39. Corrêa WM, Corrêa CNM. Clostridioses. In: *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos.* 2a ed. Rio de Janeiro: MEDSI; 1992. p.291-315.
40. Rusbridge C. Sistema nervoso. In: Ramsey IK, Tennant BJ. *Manual de doenças infecciosas em cães e gatos.* São Paulo: Rocca; 2010. p.270-1.
41. Tilley LP, Smith JR, Francis WK. *Consulta veterinária em 5 minutos: espécies canina e felina.* 2a ed. São Paulo: Manole; 2003. p.499-500.
42. van Nes JJ, van der Most, van Spijk D. Electrophysiological evidence of peripheral nerve dysfunction in six dogs with botulism type C. *Res Vet Sci.* 1986;40:372-6.
43. Lindström M, Korkeala H. Laboratory diagnostics of botulism. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19:298-314.
44. Dohms JE. Clostridial diseases : Botulism. In: Kahn CM, Lines S, Aiello SE. *The Merck Veterinary Manual.* 10th ed. Whitehouse Station: Merck and Co, Inc; 2010. p.552-3.
45. Wictome M, Newton K, Jameson K, Hallis B, Dunnigan P, Mackay E, et al. Development of an in vitro bioassay for *Clostridium botulinum* type B neurotoxin in foods that is more sensitive than the mouse bioassay. *Appl Environ Microbiol.* 1999;65:3787-92.
46. Walker EL. Os clostrídeos. In: Hirsh DC, Zee YC. *Microbiologia Veterinária.* 2a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. p.220-30.
47. Silva ROS, Salvarani FM, Pires OS, Assis RA, Salles PR, Carvalho Filho MB, et al. Caso de botulismo tipo C em cão. *Cienc Vet Trop.* 2008;11:86-9.
48. Farrow BR, Murrell WG, Revington ML, Stewart BJ, Zuber RM. Type C botulism in young dogs. *Aust Vet J.* 1983;60:374-7.
49. Bors M, Valentine BA, Lahunta A. Neuromuscular disease in a dog. *Cornell Vet.* 1988;78:339-45.
50. Kriek NPJ, Odendaal MW. Botulism. In: Coetzer JAW, Thomson GR, Tustin RC. *Infectious diseases of livestock.* Cape Town: Oxford Press; 1994. p.1354-71.
51. Rocke TE, Samuel MD, Swift KP, Yarris GS. Efficacy of a type C botulism vaccine in greenwinged teal. *J Wildlife Dis.* 2000;36:489-93.
52. Lobato FCF, Salvarani FM, Silva ROS, Souza AM, Lima CGRD, Pires PS, et al. Botulismo em ruminantes causado pela ingestão de cama de frango. *Cienc Rural.* 2008;38:1176-8.

53. Arimitsu H, Lee JC, Sakaguchi Y, Hayakawa Y, Hayashi M, Nakaura Miki, et al. Vaccination with recombinant whole heavy chain fragments of Clostridium botulinum Type C and D neurotoxins. Clin Diagn Lab Immunol. 2004;11:496-502.
54. Coleman ES. Clostridial neurotoxins: tetanus and botulism. Compend Contin Educ Pract Vet. 1998;20:1089-94.

Recebido em: 13/03/2014

Aceito em: 22/02/2016

ZOONOSES EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO: ASPECTOS GERAIS

Samea Fernandes Joaquim^{1*}
Giulia Soares Latosinski¹
Natalia Moraes Dias¹
Gabriela Amorim Campos¹
Lucas Emanuel Ferreira Canuto¹
Helena Maria Kiel Francisco Petillo¹
Cassiano Victória²
Helio Langoni²

RESUMO

O Brasil tem se destacado na produção animal e na sua economia, sendo que um dos setores que mais cresce e gera renda ao país é a agropecuária, especialmente com a produção e criação de bovinos, suínos e equinos. As diferentes espécies animais de interesse zootécnico são acometidas por inúmeras enfermidades, dentre elas as zoonoses, tais como tuberculose, brucelose, complexo teníase-cisticercose, toxoplasmose, leptospirose e raiva. Nesta revisão, são abordados aspectos relevantes referentes a essas enfermidades, com enfoque na etioepidemiologia, diagnóstico e controle. Será discutido ainda o papel do médico veterinário na prevenção e controle e sua inserção na saúde pública, na medida em que, além dos aspectos produtivos e do bem estar animal, ele é responsável pela inocuidade dos produtos de origem animal oferecidos para consumo, principalmente pelo seu envolvimento direto nas atividades de inspeção sanitária de alimentos.

Palavras-chave: animais de produção, zoonoses, saúde pública.

ZOONOSES IN ANIMAL PRODUCTION: GENERAL ASPECTS

ABSTRACT

Brazil has excelled in animal production and in its economy one of the fastest growing sectors in the country that generates income is agriculture, especially the production and cattle, pigs and horses. The different animal livestock species are affected by many diseases, among them zoonoses, such as tuberculosis, brucellosis, complex taeniasis cysticercosis, toxoplasmosis, leptospirosis and rabies. In this review, relevant aspects related to these diseases are discussed, with a focus on etioepidemiologia, diagnosis and control. It will also be discussed the role of the veterinarian in the prevention and control and his inclusion in public health, in that beyond the productive aspects and animal welfare, he is responsible for safety of animal products offered for consumption, mainly for his direct involvement in health food inspection activities.

Keywords: farm animals, zoonoses, public health.

¹ Alunos da disciplina “Saúde pública individual e coletiva para o Sistema Único de Saúde” do Programa de Residência Multiprofissional em Saúde MS/MEC.

² Professores Responsáveis pela disciplina.

*Contato principal para correspondência: sameajoaquim@gmail.com

ZOONOSIS EN ANIMALES DE PRODUCCIÓN: ASPECTOS GENERALES

RESUMEN

Brasil se ha destacado en la producción animal y en su economía uno de los sectores de más rápido crecimiento en el país y que genera ingresos es la agropecuaria, especialmente la producción y el ganado vacuno, cerdos y caballos. Las diferentes especies de animales se ven afectados por muchas enfermedades, entre ellas las zoonosis, como la tuberculosis, la brucelosis, cisticercosis complejo teniasis, toxoplasmosis, leptospirosis y la rabia. En esta revisión, se discuten los aspectos relevantes relacionados con estas enfermedades, con un enfoque en etioepidemiología, diagnóstico y control. También se discutirá el papel del médico veterinario en la prevención y control y su inclusión en la salud pública, en el que más allá de los aspectos productivos y de bienestar de los animales, es responsable de la seguridad de los productos de origen animal que se ofrecen para el consumo, principalmente por su participación directa en las actividades de inspección de alimentos saludables.

Palabras clave: animales de producción, zoonosis, salud pública.

INTRODUÇÃO

O Brasil é um país que tem posição de destaque na produção animal e tem revelado considerável aumento no produto interno bruto (PIB) em praticamente toda a cadeia produtiva do agronegócio. Os aspectos de sanidade animal são relevantes para que se mantenha esta situação, além do estímulo dos órgãos administrativos e dos governos, em todas as suas esferas, seja municipal, estadual e federal.

Dentre as inúmeras enfermidades que acometem os rebanhos de variadas espécies no país, estão as doenças de caráter zoonótico, sendo algumas delas consideradas como doenças ocupacionais ou profissionais, podendo-se citar como exemplo a brucelose, leptospirose, entre outras. Além das perdas produtivas decorrentes destas, seja diretamente pela morte, ou indiretamente, por retardar o crescimento dos animais, descarte de alguns produtos e subprodutos de origem animal, há inúmeras implicações no âmbito da saúde pública, relacionadas às pessoas que trabalham diretamente com os animais, devido à eliminação de agentes infecciosos causadores das doenças comuns entre humanos e animais, as zoonoses.

As zoonoses podem originar graves problemas sanitários, econômicos e sociais, embora nem todos relacionados com a segurança alimentar. A transmissibilidade natural dos animais para os seres humanos pode ocorrer por contato direto ou, indiretamente a partir da água e do solo e meio ambiente onde os animais são criados, pela ação de vetores e ainda pelo consumo de produtos de origem animal. A despeito de grandes avanços obtidos nos últimos anos, elas ainda ocasionam grandes perdas econômicas e são uma ameaça constante à saúde pública.

O médico veterinário é o profissional responsável pelo manejo zoossanitário independente da cadeia produtiva, como bovinos de corte, de leite, suínos, caprinos, ovinos, bubalinos e aves. Ainda, são relevantes os aspectos de bem-estar animal, que devem ser priorizados nas diferentes espécies de animais de interesse zootécnico, pois esta prática relaciona-se diretamente aos melhores índices produtivos e reprodutivos (1) e melhor qualidade de vida dos animais e do alimento produzido, que deve ser livre de agentes causadores de zoonoses.

Diante desse fato, o objetivo dessa revisão é abordar algumas zoonoses de importância na produção animal e na saúde pública, considerando-se os riscos para os humanos, e ressaltar o papel do médico veterinário na prevenção e controle dessas enfermidades.

1. Tuberculose

A tuberculose bovina tem como seu agente o *Mycobacterium bovis*, pertencente à família Mycobacteriaceae, do complexo *Mycobacterium tuberculosis*. Morfologicamente são bacilos curtos, aeróbios, imóveis, não capsulados e aflagelados. Possuem ainda aspecto granular quando corados, medindo de 0,5 a 0,7 µm de comprimento por 0,3 µm de largura. Sua propriedade mais característica é a ácido resistência (2). Isolado inicialmente em 1882, por Robert Koch, corando-o pela fucsina-anilina. O seu isolamento em meio de cultura se deu em 1884 e a diferenciação entre o bacilo humano, bovino e o aviário foi descrita nos Estados Unidos em 1987 por Smith. As principais espécies do complexo *M. tuberculosis* são *Mycobacterium tuberculosis*, o *Mycobacterium bovis*, o *Mycobacterium microti* (patogênico apenas para a ratazana – *Microtis agrestis*), o *Mycobacterium africanum* (ainda não isolado no Brasil) e o *Mycobacterium canettii*, o qual já foi relatado em paciente humano com a síndrome da imunodeficiência adquirida (3). Considerada uma epidemia lenta, a tuberculose humana ressurgiu nos dias de hoje e torna-se uma emergência global, principalmente devido às doenças imunossupressoras.

A taxa de infecção mundial pelo *M. tuberculosis* é de 3%, mas os países em desenvolvimento são os que possuem os maiores riscos de infecção e apresentam, conseqüentemente, o maior número de casos. A Índia apresenta 25% do total de casos de tuberculose no mundo por ano, e a África apresenta 80% do total de casos (2,3,4). A tuberculose bovina é uma zoonose de distribuição cosmopolita e apresenta uma evolução crônica com efeito debilitante, porém em alguns casos pode assumir caráter agudo de curso rápido. Além dos bovinos serem hospedeiros primários, humanos e outros mamíferos são susceptíveis ao bacilo de origem bovina.

A infecção pelo *M. bovis* em bovinos e bubalinos ocorre principalmente pela via respiratória pela inalação de aerossóis contaminados com o patógeno. Pesquisa realizada em modelos animais mostrou que de um a dez bacilos em suspensão podem causar a infecção. Esses micro-organismos, quando inalados são fagocitados pelos macrófagos alveolares podendo ser eliminados ou desenvolverem no seu interior originando as lesões, que são denominadas tubérculos. A disseminação do bacilo pode ocorrer pelas vias aéreas, podendo ser eliminado ainda pelo corrimento nasal, leite, fezes, urina, secreção vaginal, uterina e sêmen. Além da via respiratória, há a possibilidade de infecção pela via digestiva a partir da ingestão do leite, sendo os locais principais de infecção, os linfonodos mesentéricos e faríngeos. Há a possibilidade de atingir a grande maioria dos órgãos quando ocorrer generalização precoce ou tardia (5).

Quando o patógeno se instala nos pulmões, ocorre a formação de nódulos caseosos, de tamanhos variados, podendo em alguns casos abranger grande parte do parênquima pulmonar e ainda formar lesões cavitárias. Os tubérculos geralmente são firmes, com centro caseoso e quando calcificados rangem ao corte, como se contivessem areia. Esses tubérculos encontram-se na maioria dos casos nos pulmões, linfonodos mediastinais, serosas, fígado, linfonodos mesentéricos e com menor frequência no baço, rins, mama, linfonodos mamários, outros linfonodos e possivelmente em outros órgãos (5).

Os principais reservatórios da tuberculose são os próprios animais domésticos doentes, e em alguns casos os animais silvestres, como o possum (*Didelphimorphia*) e texugos (*Meles meles*). As principais vias de transmissão são: ar, água, alimentos e fômites contaminados. Os comedouros e bebedouros são locais que facilitam a presença do patógeno, já que são eliminados pelas descargas nasais.

Especificamente quanto à tuberculose bovina, as principais vias de transmissão para humanos são o leite e seus derivados produzidos com o leite não fervido ou pasteurizado (5-8). Nesse sentido, os resultados de pesquisa realizada com o leite de vacas suspeitas e positivas para tuberculose diagnosticadas por teste duplo de Stormont, revelou em 526

(5,25%) das amostras de leite examinadas o isolamento de *M. bovis* (7). O isolamento de *M. bovis* foi detectado também em amostras de leite de tanques individuais e coletivos de propriedades rurais, bem como de leite do mercado clandestino destinado para o consumo (8).

Os métodos de diagnóstico de eleição preconizados para bovinos são os testes de tuberculinização, que consistem na avaliação de uma reação de hipersensibilidade tardia. O Programa de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose prevê medidas como: higiene, limpeza e desinfecção das instalações, quarentena na introdução de animais novos no rebanho. Os testes de triagem em animais a serem introduzidos, são de suma importância para evitar que a doença se instale na propriedade. Programas de controle e erradicação da tuberculose bovina vêm sendo aplicados em muitos países, sendo importantes para a prevenção da doença na população humana. No Brasil, o programa, no que se refere à tuberculose, recomenda o teste tuberculínico para a identificação dos animais infectados, sendo utilizado em bovinos leiteiros o Teste Cervical Simples e em bovinos de corte o Teste da Prega Caudal, sendo ambos considerados de triagem para a identificação de animais positivos. Após 60 a 90 dias, os animais poderão ser submetidos ao Teste Cervical Comparativo que pode ser empregado tanto em animais suspeitos, como em animais positivos no teste de triagem. Neste caso, prevê-se a utilização de tuberculina de origem mamífera e aviária, para se conhecer a origem da infecção (9).

A tuberculose humana é atualmente uma das doenças infecciosas mais disseminadas a nível mundial e uma importante causa de morte no mundo. O *Mycobacterium tuberculosis* é o agente mais comum em humanos, mas há uma proporção de casos que é devida ao *Mycobacterium bovis*. A grave situação mundial da tuberculose está intimamente ligada ao aumento da pobreza, a má distribuição de renda e a urbanização acelerada. A epidemia da AIDS e o controle insuficiente da tuberculose mostram a enorme necessidade de medidas eficazes de saúde pública.

Outro aspecto a ser considerado quanto à emergência mundial da tuberculose humana é seleção de variantes de *Mycobacterium* spp. multirresistentes, fato que contribui para a sua disseminação. O paciente no início do tratamento apresenta melhora e como o tratamento é prolongado, por seis meses, acaba desistindo, fato que contribui para o desenvolvimento da resistência do agente. A Organização Mundial de Saúde revela que do total de casos novos de tuberculose, menos da metade são notificados, o que mostra a falta de políticas públicas de controle nos países mais afetados pela doença. Quando se avalia a distribuição das formas clínicas de acordo com o total de casos, verifica-se que 60,7% são pulmonares, com baciloscopia positiva; 24,9% pulmonares, porém sem confirmação bacteriológica; e 14,4% com lesões extrapulmonares. Sabe-se a tuberculose humana causada pelo *Mycobacterium bovis* ocorre principalmente como forma extrapulmonar devido principalmente pelo fato da transmissão ocorrer pela via oral a partir do leite e seus derivados processados com o leite cru, não fervido ou pasteurizado (7,8).

No Brasil, devido ao programa de controle da AIDS amplamente conhecido e considerado como modelo, está havendo uma redução da ocorrência de casos de tuberculose, um maior percentual de cura e diminuição na coinfeção HIV-AIDS/ tuberculose. Frente à gravidade da situação epidemiológica mundial e à permanência, em nível preocupante em nosso meio, é necessária a manutenção de políticas públicas com investimentos para combater a doença. Desde 1993 o Brasil vem estabelecendo medidas para o seu controle, destacando-se o plano emergencial de 1994. Em 1999, o desenvolvimento de um Centro de Excelência de Controle à Tuberculose e em 2001, o Plano Nacional de Mobilização para a eliminação da hanseníase e controle da tuberculose.

Muito já foi feito, porém, há muito a ser conquistado. São necessárias políticas públicas para melhorar as condições de vida das populações, tendo assim uma repercussão positiva no controle da tuberculose humana. Se o controle da tuberculose não for direcionado também para os setores que mais necessitam de atenção como a agropecuária que contribui

enormemente para a transmissão do agente aos humanos, o seu controle será mais difícil. A ausência de inovações terapêuticas com novas formulações disponíveis para o tratamento irá aumentar mais ainda o número de pessoas infectadas e doentes. A tuberculose tem sido considerada como doença negligenciada a nível mundial. O Brasil tem estabelecido estratégias para o seu controle, incluindo o monitoramento do seu tratamento para evitar a sua descontinuidade, bem como o oferecimento gratuito dos medicamentos para facilitar a aceitação dos pacientes e a sua administração. Têm sido produzidos ainda comprimidos associados a vários princípios medicamentosos. Outro aspecto a ressaltar, foi a prática do tratamento monitorado pelas equipes de saúde, minimizando-se, assim, a interrupção do tratamento pelo paciente.

2. Brucelose

A brucelose é uma antropozoonose infectocontagiosa, normalmente de evolução crônica, de caráter granulomatoso difuso, caracterizando-se pela infecção das células do sistema mononuclear fagocitário. É causada por bactérias do gênero *Brucella* spp., intracelulares facultativas, com morfologia de cocobacilos, Gram-negativos, imóveis e podem apresentar-se em cultivos primários com morfologia colonial lisa ou rugosa.

A história da brucelose teve início em 1751 quando Cleghorn, cirurgião do exército britânico servindo na Ilha de Minorca, Espanha, relatou casos de uma doença com sinais semelhantes aos descritos para brucelose. Foi Marston, que fazia parte do exército britânico, em 1859, quem caracterizou a doença como entidade nosológica autônoma, quando contraiu brucelose na Ilha de Malta, situada ao sul da Sicília, Itália, e relatou-a pela primeira vez com a denominação “febre gástrica remitente”. Foi oficialmente descrita em 1887 por David Bruce, o qual isolou a bactéria do baço de um soldado que morrera em consequência de uma doença que enfraquecia a base naval inglesa da Ilha de Malta, dando origem assim à denominação “Febre de Malta”. Pelas características microscópicas do agente, Bruce nomeou-o como *Micrococcus melitensis*. “*Micrococcus*” por tratar-se de uma bactéria pequena e circular, e “*melitensis*”, em homenagem à Ilha de Malta.

Existem várias espécies pertencentes ao gênero *Brucella* spp. Cada uma tem seu hospedeiro preferencial: *B. abortus* (bovinos e bubalinos), *B. melitensis* (caprinos e ovinos), *B. ovis* (ovinos), *B. suis* (suínos), *B. canis* (cães), *B. neotomae* (rato do deserto), *B. microti* (roedores), *B. inopinata* (humanos), *B. delphini*, *B. pinnipediae* e *B. ceti* (animais marinhos). Dentre estas há três espécies principais ou clássicas, e estão subdivididas em biovariedades ou biovars: *B. abortus* (7 biovars), *B. melitensis* (3 biovars), *B. suis* (5 biovars). As principais responsáveis por causar doença nos humanos são: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* (10). *B. melitensis* é exótica, não ocorrendo no Brasil.

Além dos prejuízos econômicos, trata-se de uma zoonose relevante e muito relacionada às atividades ocupacionais dos pacientes, que se caracteriza por doença polimorfa com diferentes apresentações, assemelhando-se a doenças de caráter infeccioso ou não. O período de incubação é variável entre 30-60 dias, podendo se estender por até dois anos. É conhecida em humanos como: Febre de Malta, Febre Ondulante, Febre do Mediterrâneo, Febre de Gibraltar, Doença das Mil Faces e Febre de Constantinopla (10). Nos animais é conhecida como: Doença de Bang, Aborto Contagioso e Aborto Infeccioso.

Apesar de ser subdiagnosticada em medicina humana, está como uma das zoonoses bacterianas de maior importância, com mais de meio milhão de casos novos anualmente, principalmente em países em desenvolvimento. É considerada hiperendêmica em áreas do Mediterrâneo, Península Arábica, Índia, México, América Central e América do Sul. Assim, até regiões livres de brucelose animal podem apresentar casos importados, fato relatado pelas clínicas de medicina de viagens. Alguns locais do planeta chegam a ter prevalência de até 10 casos por 100.000 habitantes com letalidade de 0,1% (10).

Em ruminantes, a brucelose acomete principalmente o trato reprodutivo, levando a prejuízos diretos e indiretos, principalmente pelos abortos, baixos índices reprodutivos, maior intervalo entre partos, queda na produção de leite, morte de bezerros e interrupção de linhagens genéticas, menor valor comercial de animais de propriedades que apresentam casos da doença. Estimativas mostram que a brucelose é responsável pela queda de 25% na produção de leite e de carne e pela redução de 15% na produção de bezerros. Mostram ainda que, em cada cinco vacas com brucelose, uma aborta ou se torna infértil. Como perdas indiretas, podemos citar as infecções humanas requerendo internações prolongadas, além do custo do período de ausência ao trabalho (9), bem como gastos com medicamentos para o tratamento que geralmente é prolongado.

Para promover a infecção é necessária uma quantidade mínima de bactérias. No caso da *B. melitensis*, que é exótica no Brasil, de 10 a 100 bactérias já são suficientes. A transmissão se dá direta ou indiretamente do animal para humanos. A profilaxia para humanos se dá pelo combate e à eliminação da doença nos animais. As vias de transmissão podem ser o sangue, urina, secreções de fetos abortados, restos placentários, leite e produtos lácteos não pasteurizados, carne, medula óssea e vísceras malcozidas procedentes de animais infectados. O agente penetra pelas vias conjuntival, digestiva e por lesões de pele. São fatores de risco importantes as atividades profissionais em abatedouros, laboratórios e a inoculação acidental durante a vacinação do rebanho com vacina viva atenuada. Ainda quanto à transmissão, há relatos de casos de transmissão interpessoal (sexual, transfusão de sangue e por transplante de medula óssea). As brucelas podem permanecer viáveis na água e no solo úmido mais de 10 semanas e são inativadas por agentes desinfetantes comuns ou calor (10).

Nos animais a *B. abortus* geralmente penetra pela mucosa oral ou nasal, onde se multiplica e é fagocitada, permanecendo dentro de macrófagos. Por serem resistentes a fagocitose, sua localização intracelular é um dos mecanismos de evasão do sistema imune, já que ficam protegidas da ação do sistema complemento e de anticorpos específicos. Estabelecem-se nos linfonodos regionais, nos quais pode permanecer por meses. Quando ela não é destruída há disseminação para vários órgãos, via linfática ou hematogena sendo os tecidos de preferência, os linfonodos, baço, fígado e aparelho reprodutor. Podem instalar-se em articulações, causando higromas. Devido ao seu tropismo pelo eritritol, grande parte se localiza nos testículos ou no útero gestante. A infecção uterina na gestante ocorre por via hematogena e as bactérias multiplicam-se inicialmente no trofoblasto do placentoma, infectando também as células adjacentes, levando a placentite. Além disso, há infecção fetal e de igual modo por via hematogena (9).

Os principais sinais clínicos em vacas prenhes são o abortamento, natimortos ou neonatos débeis. Geralmente o aborto ocorre no terço final da gestação, levando a retenção de placenta e metrite, e posteriormente a problemas reprodutivos como esterilidade ou subfertilidade. Em casos crônicos podem ocorrer reabsorção embrionária, assim como maceração ou mumificação fetal. Nos machos, geralmente as alterações ocorrem principalmente nos testículos, glândulas vesiculares e próstata levando a orquite ou epididimite, com diminuição da libido, da fertilidade, dependendo se a afecção ocorreu em uma ou ambas as bolsas escrotais. Outro sinal, de menor ocorrência, é o edema higromatoso de articulações, artrite e sinovite não supurativa (11).

Como zoonose, alguns pacientes apresentam forma subclínica ou desenvolvem um quadro inespecífico. Naqueles que apresentam sintomas, está presente a febre intermitente ou remitente, acompanhada de artrites, mialgia e cefaleia, sudorese profusa predominantemente noturna, anorexia e prostração, podendo perdurar de semanas a meses se não houver o tratamento adequado (10). Podem assim ser resumidos: febre em 98,7%, artralgia ou artrite em 46,6%, sudorese em 84,0%, anorexia, astenia, cansaço, perda de peso em 75,0%, hepatomegalia em 35,2% e esplenomegalia em 20,8% dos casos (12). A clínica é bastante

polimorfa com sintomas variáveis e relacionados também com a espécie de *Brucella* spp., envolvida na infecção.

Os testes para diagnóstico podem ser realizados por métodos diretos que pesquisam a presença do agente, como o isolamento microbiano, a imunoistoquímica e métodos de detecção de ácidos nucleicos principalmente a reação em cadeia da polimerase, ou por métodos indiretos, para detecção de anticorpos anti-*Brucella* spp, no soro sanguíneo e fluídos corporais como o sêmen, muco vaginal e leite. Podem ocorrer reações falso positivas como resultado da vacinação, com vacina B 19, após a idade recomendada, de até oito meses para bezerras. O mesmo pode ocorrer devido à presença de anticorpos não específicos existentes nas infecções por outras bactérias, além de outros fatores que influenciam a resposta sorológica do animal, como o longo período de incubação da doença (9).

As provas oficiais diagnósticas são: teste do antígeno acidificado tamponado, que tem alta sensibilidade e podem ser realizados somente por médicos veterinários habilitados, por laboratórios credenciados ou por laboratórios oficiais. Os animais que reagirem a este teste podem ser submetidos a um teste confirmatório, como o 2-Mercaptoetanol, que é mais específico. Nos casos de importação recomenda-se a prova de fixação do complemento, esta é mais complexa, e é realizada por laboratório oficial (9).

Não há indicação de tratamento da brucelose nos animais de produção, devendo seu controle ser baseado na vacinação quando indicada, e em outras medidas profiláticas como controle de entrada de novos animais na propriedade, por exames sorológicos, entrada de pessoas, restringindo-se as visitas, utilização de quarentena, entre outras medidas cabíveis.

De acordo com o programa oficial de controle da brucelose, indica-se a vacinação de todas as bezerras na faixa etária de três a oito meses, realizada por médico veterinário, além das medidas a seguir: Não devem ser vacinados machos independentemente da idade; marcar os bezerros vacinados com um (V) acompanhado de número do final do ano da vacinação, no lado esquerdo da cara; bezerros destinados ao registro genealógico quando devidamente identificados, ficam excluídos da obrigatoriedade da marcação; isolar e manter em observação as fêmeas que abortem, só regressando ao rebanho, após o teste de soroaglutinação negativo; introduzir no rebanho apenas animais com resultado de soroaglutinação negativa para brucelose. Caso o animal fique um período fora da propriedade, deve-se realizar sorologia previamente a sua reintrodução no rebanho. Deve-se, também, realizar prova sorológica semestral nos bovinos para controle como atividade de vigilância e saneamento de rebanhos infectados e marcação com (P) no lado direito da cara e posterior sacrifício dos reagentes (9).

3. Complexo teníase-cisticercose

O complexo teníase-cisticercose é considerado de extrema importância por causar inúmeros prejuízos à saúde humana e também à economia do setor pecuário. São duas enfermidades humanas com características próprias, porém com forte interdependência entre elas. Foi descrita inicialmente no século XVI e no século XIX foi demonstrado que as larvas da tênia eram responsáveis pela doença em humanos e animais (13). Esta diretamente relacionada com o estado de precariedade de saneamento básico e higiene das populações. Os animais se infectam a partir dos ovos das tênias pela ingestão de alimentos e/ou água contaminada. No caso dos suínos, ovos de *Taenia solium*, e nos bovinos, ovos de *Taenia saginata*, que em ambas as situações são eliminados pelas fezes de humanos, que são hospedeiros definitivos dos parasitas (14).

Humanos se infectam ao ingerir carne mal cozida com a presença de cistos, e adquirem a teníase com o desenvolvimento da forma adulta do parasito no intestino. A partir da ingestão de água e hortifrutigranjeiros contaminados com ovos dos parasitos ou pela autoinfecção, desenvolvem a cisticercose, de localização em vários órgãos, sendo a mais grave quando de localização intracerebral, sendo conhecida como neurocisticercose,

considerada um sério problema de saúde pública, principalmente nos países em desenvolvimento.

Tanto a *T. solium* como *T. saginata* pertencem ao filo Platyhelminthes, classe Cestoda, família Taenidae. Os suínos e eventualmente humanos são os hospedeiros intermediários da forma larvar da *T. solium* e os bovinos, os hospedeiros intermediários da forma larvar da *T. saginata*. Em ambos os casos, humanos desempenham um importante papel na enfermidade, como disseminadores das proglotes grávidas no ambiente, devido principalmente aos hábitos precários de higiene pessoal (14).

A forma adulta das tênias causam a teníase ou solitária. Os parasitas se fixam no intestino delgado humano causando fortes dores abdominais, perda de peso, flatulência, constipação ou diarreia. Em crianças, pode causar retardo no crescimento e desenvolvimento. Em grandes infestações, podem ser encontradas proglotes do verme que são eliminadas espontaneamente pelas fezes humanas em número elevado, possibilitando a contaminação ambiental principalmente da água e solo, com conseqüente contaminação de alimentos de humanos e a pastagens dos animais (15).

A cisticercose, por outro lado, é a enfermidade causada pelo *Cysticercus cellulosae*, presente principalmente nos suínos, que é a forma larvar da *Taenia solium*, parasita adulto, presente em humanos, ou pelo *Cysticercus bovis*, presente nos bovinos, que é a forma larvar da *Taenia saginata*, que raramente é responsável pela cisticercose humana de acordo com a literatura, entretanto Gupta et al. (16) relatam a expulsão da *Taenia saginata* por regurgitamento de paciente com cisticercose, fato que mostra a possibilidade desta forma da enfermidade, pelo referido parasita.

Estudos epidemiológicos demonstram que esta enfermidade ocorre com maior frequência em áreas de subdesenvolvimento humano, principalmente pelo fato de ocorrer a eliminação dos ovos pelas fezes dos seres humanos, contaminando água, solo e vegetações.

A partir da ingestão de ovos das tênias, pela ação do suco gástrico e a secreção biliar ocorre a liberação dos embriões ou oncosfera, que penetram na parede do intestino e, cerca de 72 horas após, migram pela circulação sanguínea para diferentes órgãos como fígado e pulmão, atingindo as vias áreas superiores, provocando tosse e conseqüente deglutição. Outra possibilidade de infecção é a partir da ingestão das larvas presentes na musculatura dos seus respectivos hospedeiros intermediários.

Os cisticercos medem de 7 a 12 mm de comprimento por 4 a 6 mm de largura (17), já a forma adulta pode atingir 1,5 a 4 metros de comprimento, em alguns casos pode chegar a 8 metros. Sua cabeça possui 4 ventosas e 2 fileiras de ganchos (rostelo guarnecido). O corpo apresenta inúmeros segmentos conhecidos como proglotes que correspondem a parte reprodutiva das tênias, que quando grávidas eliminam milhares de ovos diariamente (17).

Nos animais, ocorre a fixação do embrião em diferentes partes do organismo, especialmente em grupos musculares fortemente irrigados, como coração, língua, masseter e tecido nervoso. Em geral, não há manifestação clínica nos animais, sendo a clínica praticamente destituída de valor. Nos bovinos, a infecção experimental revelou febre, debilidade, sialorréia, anorexia e rigidez muscular e morte por miocardite degenerativa. Nos suínos, são observados casos isolados de hipersensibilidade no focinho, paralisia de língua e convulsões epiléptiformes. Nos cães, raramente são observados sintomas de cisticercose cerebral, que pode ser confundido com cinomose e raiva, o diagnóstico depende do estágio do parasita.

A teníase humana pode ser diagnosticada por critérios clínico-epidemiológicos e por exame laboratorial. O diagnóstico clínico é limitado, pois os portadores são em sua maioria assintomáticos e pode ser confundida com outras parasitoses (14). O método de visualização com auxílio do microscópio foi muito utilizado até a década de 90, entretanto a grande semelhança morfológica dos ovos das *T. solium* e *T. saginata* dificultam o diagnóstico (18). O exame de pesquisa de ovos nas fezes (OPG) é muito usado, e há três técnicas utilizadas:

Hoffman, Blagg e Kato-Katz. O mais sensível na pesquisa de ovos de helmintos, por ser quantitativo e qualitativo, é o método de Kato-Katz que consiste na concentração do material fecal com auxílio de um tamis e posterior clarificação das estruturas parasitárias pela ação da glicerina, no entanto, esses métodos não são específicos, pois os ovos, se encontrados, não determinam a espécie do parasito (19).

O diagnóstico definitivo é realizado pelo teste de tamização do bolo fecal de 24 horas recolhendo-se as proglotes, identificando-se morfológicamente pelas ramificações do útero (14). Há ainda, os testes sorológicos como de: hemaglutinação, imunofluorescência indireta e ELISA, os quais detectam os anticorpos específicos de cada tênia. Esses métodos são utilizados quando a pesquisa de ovos foi ineficaz. Outro método possível e eficiente é a detecção de coproantígenos nas fezes por um teste de ELISA, que busca antígenos específicos para a tênia. Esse é de alta especificidade e sensibilidade (19,20). Com os avanços da biotecnologia, é possível o diagnóstico por ferramentas moleculares como PCR, para detectar o DNA das têniás nas fezes classificando espécie e genótipos, entretanto, não é utilizado na rotina laboratorial, pelo alto custo e a necessidade de equipamentos especiais (20).

A cisticercose humana é diagnosticada com base nos aspectos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais. É importante investigar a procedência do paciente, os hábitos alimentares, acesso ao saneamento básico de qualidade e procedência da água e alimentos, e ainda se tem o hábito de ingerir carne crua ou mal cozida, bem como se há antecedentes na família. O diagnóstico laboratorial é realizado pela pesquisa do parasito por exame anatomopatológico de biopsia, em necropsias e cirurgias (14). No exame físico, é possível palpar nódulos subcutâneos orientando o médico no diagnóstico.

A cisticercose ocular tem um diagnóstico mais fácil e rápido, pois a larva localiza-se na câmara posterior do olho. O exame de fundo de olho com oftalmoscópio possibilita visualizar a larva (21). É possível a associação de exames para melhorar a qualidade diagnóstica, como exames de imagem e detecção de antígeno de *C. cellulosae*. A ressonância magnética (RM) e a tomografia computadorizada (TC) são consideradas exames padrão-ouro para o diagnóstico desta enfermidade. A TC é mais sensível para a detecção de cistos calcificados. A RM tem maior poder de resolução e torna-se mais precisa para avaliar a intensidade da infecção, e principalmente a localização e fase dos cistos (14,20,22). É possível ainda o diagnóstico da neurocisticercose por testes sorológicos como a, imunofluorescência indireta e hemaglutinação indireta. As técnicas sorológicas mais sensíveis são os métodos imunoenzimáticos pela detecção sorológica de antígenos e anticorpos específicos (23). Técnicas moleculares, como a PCR, também podem ser utilizadas para detectar o DNA dos cisticercos (24).

Além dos humanos, os animais, hospedeiros intermediários das têniás, apresentam a cisticercose, pois tanto nos bovinos como nos suínos a tênia não completa seu ciclo. Quando estes animais ingerem os ovos presentes nas pastagens ou águas, estes se tornarão larvas e ficarão encistados na musculatura dos animais e serão detectados “post mortem”, na linha de inspeção. A forma larvária cística é conhecida popularmente por canjiquinha. Desta forma, o diagnóstico da cisticercose animal se dá a partir da inspeção sanitária minuciosa da musculatura esquelética dos animais na linha de abate (25), aspecto relevante quanto à saúde pública, no sentido de oferecer à população alimento livre das formas larvares de *C. cellulosae* e *C. bovis*.

A teníase humana pode ser tratada facilmente com Praziquantel na dose de 5-10 mg/kg em administração única, via oral, ou com Niclosamida na dose de 1 -2 g, também via oral. O tratamento deve ser recomendado após o almoço e, a seguir, recomenda-se a utilização de laxante. Após três dias, utilizar Mebendazol (100mg) duas vezes ao dia durante três dias, sempre após as refeições (26). Deve-se monitorar a cura do paciente por meio de exames coprológicos periódicos.

Para os suínos, foi desenvolvida uma vacina a partir de antígeno da oncosfera de *T. solium*, denominada TSOL18, que se mostrou eficaz experimentalmente (27). Como tratamento para os suínos, recomenda-se uma dose única de oxfendazole associada à vacina TSOL18. Este vermífugo é capaz de inativar os cistos de *T. solium* presentes na musculatura dos suínos, porém, não foi eficiente para os cistos cerebrais (28). No caso dos bovinos, o principal anti-helmíntico utilizado é o sulfóxido de albendazole que é menos tóxico e pode ser utilizado também em infecções sistêmicas (29). A eficácia do sulfóxido de albendazole 10% foi comprovada, sendo superior a 98,8% como antihelmíntico com 86,7% de eficácia para degeneração e/ou calcificação dos cistos de *Cysticercus bovis* (30).

A profilaxia desta enfermidade consiste principalmente na interrupção do ciclo de vida do parasito, impedindo com que humanos adquiram a teníase, e que os hospedeiros intermediários não ingiram os ovos das tênias, fato que somente é possível a partir do tratamento sistemático dos hospedeiros definitivos. Apesar do preconceito com relação ao tratamento humano, por se tratar de uma verminose, este é importante quando se pensa no controle da cisticercose. Outro aspecto relevante é localizar propriedades com risco de contaminação por fezes humanas, com consequente contaminação de pastagens, rios, infecção nos animais, impedindo-se, assim, romperem-se elos de transmissão dessa zoonose (15).

O saneamento ambiental com o tratamento de esgotos é fundamental, sendo também essencial que a água residual seja tratada para o controle. Enfatiza-se a importância da conscientização da população sobre os hábitos higiênicos como a lavagem dos alimentos antes de consumi-los, evitar o consumo de carne crua ou mal passada. Outro aspecto relevante é a orientação para defecar em locais apropriados como fossa e banheiros e que se lavem bem as mãos como higiene pessoal (30). As atividades de educação sanitária devem ser instituídas em vários segmentos da sociedade esclarecendo-se sobre o problema e como evitá-lo.

Considerando-se a complexidade e a gravidade do problema, o complexo teníase-cisticercose foi incluído pela OMS como Doença Tropical Negligenciada e instituiu um plano global de combate como meta para 2015, propondo inúmeras estratégias de controle, conscientização e tratamento, para evitar perdas econômicas e novas infecções (31). Entre essas perdas econômicas, deve ser considerado o descarte de órgãos e carcaças de suínos e bovinos contendo as suas respectivas formas larvárias, bem como os custos com exames, hospitalizações e tratamento da doença humana.

Como profilaxia para o complexo teníase-cisticercose, pode-se reforçar que ela se baseia em impedir a ingestão de ovos pelos hospedeiros intermediários, a partir destino adequado das fezes humanas. Eliminação de carnes contaminadas com cisticercos, ou submetendo-as aos tratamentos previstos na regulamentação do Ministério da Agricultura, como a salga, congelamento e a cocção. Reforça-se que atividades de educação sanitária da população são importantes, enfatizando que a ingestão de carne crua ou mal cozida, tanto a de suínos como de bovinos, é o principal fator de risco para a infecção humana, na teníase.

Resumidamente, várias medidas devem ser adotadas concomitantemente, como a interrupção da cadeia epidemiológica de transmissão em nível do hospedeiro definitivo, que consistem no tratamento da teníase humana, e na notificação dos casos para adoção de atividades de vigilância epidemiológica e sanitária. A adoção de ações de educação em saúde, priorizando a importância dos hábitos de higiene pessoal. Quanto aos hospedeiros intermediários, deve-se reforçar a importância da inspeção sanitária rigorosa nos abatedouros, para o controle de qualidade dos produtos de origem animal, especificamente de carnes suínas e bovinas. É importante ainda o congelamento da carne suína em pedaços pequenos a -20°C /um dia e a 5°C por quatro dias, para que ocorra inativação de possíveis formas larvares. O cozimento por uma a duas horas quando a peça de carne tiver de 3 a 4 cm de espessura, ou seu congelamento a -20°C por 3 ½ a 4 horas. O ideal é o congelamento da carne suína a -20°C por três a 10 dias, quando se tratar de peças maiores. A criação racional de suínos e

bovinos, com controle sanitário; e a não utilização de fezes humanas como adubo para hortas e pomares são medidas também importantes no controle da teníase-cisticercose.

4. Toxoplasmose

A toxoplasmose é uma protozoonose causada pelo *Toxoplasma gondii*, que acomete tanto humanos quanto animais de sangue quente, mamíferos e aves. A enfermidade tem grande importância e é de distribuição mundial. Pode causar aborto e lesões fetais em humanos, muitas vezes com graves sequelas, sendo esses os principais problemas relacionados à saúde pública. Pela possibilidade da permanência de cistos teciduais tanto nos animais como em humanos, tem sido muito associada com formas neurológicas graves em pacientes imunossuprimidos, principalmente nos casos de infecção pelo HIV/AIDS.

O *Toxoplasma gondii* é um protozoário intracelular obrigatório do filo Apicomplexa, que apresenta três formas evolutivas: a) taquizoítos, característicos da infecção aguda, em forma de meia-lua crescente, de reprodução intracelular rápida. Nesta forma podem atravessar a placenta e infectar o feto. O taquizoíto é bastante sensível às condições ambientais, sendo destruído rapidamente pela dessecação e desinfetantes; b) bradizoítos, característicos da infecção crônica, morfologicamente indistinguíveis dos taquizoítos, de reprodução intracelular lenta, organizando-se em cistos teciduais com parede elástica. Nesta forma podem permanecer nos tecidos muscular e nervoso por toda a vida do hospedeiro. Os bradizoítos são resistentes a digestão por pepsina e tripsina; c) esporozoítos, resulta da reprodução sexuada do parasita no epitélio intestinal dos felídeos (hospedeiros definitivos). São eliminados como oocistos não esporulados, que sob as condições ambientais frente a temperatura e umidade adequadas, esporulam em 2 a 5 dias, e tornam-se infectantes, contendo cada oocisto, dois esporocistos com quatro esporozoítos. Estes são resistentes às condições ambientais, podendo permanecer infectantes por período superior a 18 meses. Sabidamente, há três genótipos bem caracterizados do agente.

O *T. gondii* apresenta um ciclo heteroxênico, tendo mais de um hospedeiro vertebrado. Nos hospedeiros definitivos, que são os felídeos incluindo-se o gato doméstico, ocorre a fase sexuada do ciclo do parasita, enquanto que nos hospedeiros intermediários, mamíferos, incluindo os humanos e as aves, ocorre a fase assexuada. Os felídeos desempenham, portanto, papel fundamental no ciclo do parasita, pois são os únicos capazes de eliminar oocistos do parasita pelas fezes (32). A esporulação do oocisto é dependente de condições climáticas e necessária para a propagação da infecção, pois contamina água e meio ambiente e contribui para a consequente transmissão indireta da parasitose para todos os hospedeiros intermediários (33).

Os demais animais homeotérmicos são os hospedeiros intermediários. Dessa forma, podem transmitir a infecção de duas maneiras, quando a carne contendo bradizoítos viáveis é consumida crua ou mal cozida ou ainda sob a forma congênita, em que ocorre transmissão transplacentária de taquizoítos do agente (34). A infecção humana pode ocorrer pela ingestão de oocistos esporulados presentes na água ou alimentos, pela ingestão de carne crua ou mal cozida contendo cistos teciduais de *T. gondii*, que são os bradizoítos (35), ou ainda, pela transmissão transplacentária de taquizoítos quando a primo-infecção ocorre durante a gestação. Há descrições do risco pelo manuseio de carnes cruas e para magarefes para a aquisição da parasitose (36) e ainda há relatos de infecções pelo consumo do leite de cabras não pasteurizado (37).

Dentre os animais de interesse zootécnico destinados ao consumo humano, nos bovinos e equinos a infecção é menos frequente, sendo mais resistentes ao parasita do que suínos, ovinos e caprinos, apesar dos bovinos conterem cistos viáveis em seus tecidos (38, 39). Além dos bovinos, o *T. gondii* também foi encontrado em carnes de cordeiros (40, 41), caprinos (42), suínos (43) e frangos (44). Apesar dos animais infectados terem cistos em

variados órgãos e músculos, esses não são detectados no exame macroscópico realizado durante a inspeção da carne nos abatedouros (45). Além desse fato, os cistos de *T. gondii* podem permanecer viáveis mesmo em carcaças refrigeradas ou congeladas, por mais de três semanas ou mais de uma semana, respectivamente (46). Os cistos também são capazes de sobreviver ao aquecimento até 60°C por até quatro minutos ou 50°C por 10 minutos, e ainda, quando esse processo não ocorre de maneira uniforme (40).

Apesar da distribuição mundial do parasita, a frequência da infecção está ligada a diversos fatores, tais como, hábitos alimentares, procedência da população e padrões culturais (33). Não se deve negligenciar que a contaminação ambiental a partir de oocistos esporulados contribui para as estatísticas referentes às taxas de infecção em humanos, que mostram resultados variáveis, de acordo com a localidade de estudo, mas sempre revelando a dispersão do agente no meio ambiente.

A gravidade da doença causada pelo *T. gondii* depende da resposta imune do hospedeiro e da virulência da amostra do parasita (33). Nos indivíduos imunocompetentes, a doença na maioria das vezes é assintomática (47) ou oligossintomática, porém, nos imunocomprometidos, a doença assume gravidade variada. Dessa maneira, a toxoplasmose tem adquirido grande importância quando acomete pacientes com AIDS, pois causa infecção do sistema nervoso central, infecção visceral e de gânglios linfáticos e é importante causa de retinocoroidite nesses pacientes (48). A retinocoroidite toxoplásmica é uma das principais causas de inflamações oftálmicas em pacientes com AIDS (49) enquanto que a neurotoxoplasmose permanece como a principal causa de alterações neurológicas nesses pacientes (50). Salienta-se a ocorrência da toxoplasmose em pacientes transplantados, pois após a implantação do novo órgão é necessária a imunossupressão do paciente, tornando-o susceptível a infecções, dentre elas a toxoplasmose (51).

Outro importante aspecto de saúde pública referente a essa enfermidade é a toxoplasmose congênita que ocorre durante a gestação (52). Durante o primeiro trimestre de gestação, a infecção pode levar a morte fetal, enquanto que no segundo trimestre ocasiona a chamada “Tétrade de Sabin”, infecção fetal com o desenvolvimento de hidrocefalia, retinocoroidite, calcificações cerebrais e retardo mental ou perturbações neurológicas, tais como, psicomotoras, convulsões e opistótono (53).

Diferentes espécies animais estão envolvidas no ciclo epidemiológico de transmissão da toxoplasmose. Em pequenos ruminantes, a parasitose está distribuída amplamente no Brasil, tanto em ovinos quanto caprinos, causando problemas reprodutivos, como abortos e placentite em ovinos (54) ou morte fetal, natimortalidade, mumificação, abortos ou nascimento de animais debilitados em caprinos (55). Da Silva e Langoni (56), evidenciaram a presença de cistos teciduais do parasita em ovinos. Além da carne com a presença de parasitas, alguns estudos comprovaram a presença de *T. gondii* em leite de cabras e ovelhas *in natura*, ressaltando a importância dos processos térmicos para garantir a inocuidade desse produto (57,58). A principal via de transmissão da toxoplasmose para pequenos ruminantes é a ingestão de água e pastagens contendo oocistos de *T. gondii* (59).

Em um estudo transversal no estado de São Paulo, foi observada uma maior prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em pequenos ruminantes (31% em ovinos e 17% em caprinos) do que em bovinos (11%), pela técnica de imunofluorescência indireta, porém é preciso considerar que apesar da menor ocorrência da enfermidade em bovinos, o consumo de carne desses animais é muito maior no país (60). O Brasil é um país com significativa produção de carne bovina, principalmente de forma extensiva, e devido a principal via de transmissão da toxoplasmose para esses animais também ser decorrente das pastagens contaminadas (61), essa forma de criação dos animais favorece a infecção por *T. gondii*. O hábito de ingestão de carne crua ou mal passada bovina é uma importante forma de infecção para humanos, tanto para aqueles que consomem esses alimentos ou pelos seus manipuladores (45). Vários estudos evidenciaram uma alta prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em

bovinos (62-64), porém, quando adotadas medidas de boas práticas de manejo, a prevalência tende a diminuir (65).

Nos suínos, podem ocorrer desde perdas reprodutivas dos animais até grandes implicações na saúde pública. No Brasil, o primeiro relato de toxoplasmose nessa espécie ocorreu em 1959 por Silva (66). A toxoplasmose em suínos pode estar associada com a presença de felinos, porém, em criações menos tecnificadas, é necessário também relacioná-la ao tipo de alimentação oferecida aos animais, pois, comumente, se oferecem restos de alimentos humanos que podem estar contaminados com cistos ou oocistos do protozoário. Pesquisas sorológicas com animais de granjas tecnificadas ou não, mostram resultados variáveis de anticorpos anti-*T. gondii* (67-70). Cistos de *T. gondii* foram encontrados tanto na carne *in natura* como em embutidos, porém não somente os consumidores desses alimentos estão sujeitos à parasitose, como também os trabalhadores envolvidos no preparo desses produtos (43).

O Brasil é o quarto maior produtor e exportador de carne suína mundial (71) e, dessa maneira, esse alimento adquire grande importância na cadeia epidemiológica de transmissão dessa enfermidade e, ao considerarem-se os aspectos de saúde pública, como profilaxia deve-se evitar a presença de felinos no mesmo ambiente de criação de animais de produção, a lavagem adequada de alimentos, o consumo de água filtrada, ingestão de leite pasteurizado ou fervido e a cocção adequada de carnes.

5. Leptospirose

A leptospirose é uma zoonose, de caráter agudo a crônico, ocasionada por uma bactéria aeróbica obrigatória do gênero *Leptospira* spp, que acomete diferentes espécies de animais domésticos e silvestres, além dos humanos. Apresenta distribuição mundial, com maior ocorrência em regiões tropicais e subtropicais com altos índices pluviométricos, onde se mantém praticamente de forma endêmica com surtos epidêmicos. São espiroquetas de 0,1 µm de diâmetro e 6 a 20 µm de comprimento, móveis, finas, helicoidais. Apresentam ganchos em uma ou ambas as extremidades e dois filamentos axiais ou endoflagelos, o que lhes conferem motilidade rotacional, progressiva e circular ao redor do próprio eixo (72,73).

O gênero *Leptospira* era dividido em dois grupos: não patogênicas, de vida livre (*Leptospira biflexa*), e patogênicas (*Leptospira interrogans*). A classificação sorológica é amplamente utilizada, e sua unidade sistemática é o sorovar, baseado na expressão dos antígenos lipopolissacarídeos (LPS). A classificação sorológica mais recente foi realizada pelo Subcomitê de Taxonomia, em 2007, e reorganizou a família Leptospiraceae, em 13 espécies patogênicas: *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. weilii*, *L. wolffii*, com mais de 260 sorovares. Nas espécies saprófitas, estão incluídas *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. kmetyi*, *L. vanthielli* e *L. wolbachii* contendo mais de 60 sorovares (72).

É considerada pela Organização Mundial de Saúde - OMS, Organização Mundial de Saúde Animal - OIE e Sociedade Internacional de Leptospirose - ILS como a zoonose mais difundida no mundo, com cerca de 300.000 a 500.000 novos casos registrados anualmente, com taxa de letalidade entre 5 e 20%. Nas formas mais graves, pode chegar a 40% (74,75). A prevalência é maior em países em desenvolvimento, com frequentes surtos associados a inundações, devido à contaminação da água com urina de diferentes espécies de animais reservatórios, principalmente da ratazana de esgoto, *Rattus norvegicus* (74).

A intensa migração rural-urbana e o crescimento populacional desordenado resultaram na formação de grandes favelas urbanas sem saneamento básico adequado, aumentando o potencial de exposição a doenças transmitidas por roedores (76). No Brasil, é uma doença endêmica, tornando-se epidêmica em períodos de maior pluviosidade, principalmente em grandes centros urbanos, devido à aglomeração populacional de baixa renda e as condições

inadequadas de saneamento e à alta infestação de roedores infectados. Da mesma forma, os animais infectados, restos fetais e placentários de animais que abortam contaminam o meio-ambiente, contribuindo para a infecção de outros animais e humanos (77).

Os animais adquirem a infecção por contato direto ou indireto com a urina ou tecidos de animais infectados. Outras espécies como camundongos (*Mus musculus*) e ratos (*Rattus norvegicus* e *R. rattus*) funcionam como reservatórios para os sorotipos relacionados ao hospedeiro (camundongos para Ballum e Icterohaemorrhagiae, Copenhageni para ratos (73). Os animais são reservatórios essenciais de manutenção, enquanto humanos são hospedeiros acidentais, pouco eficientes na perpetuação do patógeno. Nesse contexto, a ratazana de esgoto (*Rattus norvegicus*) ocupa uma posição de destaque, pois geralmente não mostra sinais de infecção, mas comportam-se como portadores sadios, pois albergam leptospiros nos rins e as eliminam no ambiente contaminando assim a água, o solo e os alimentos (72).

Os animais infectados ou com a doença eliminam leptospiros pela urina, de forma intermitente, podendo persistir durante meses, anos ou por toda a vida, dependendo da espécie animal e do sorovar envolvido. A infecção inter-humana é rara, entretanto, pode ocorrer pelo contato com urina, sangue, secreções e tecidos de pessoas infectadas (78). Os ratos e outros roedores são as fontes de infecção mais importantes para a infecção humana (79). A transmissão da leptospirose requer uma contínua circulação enzoótica do patógeno entre os reservatórios animais. A penetração do micro-organismo se dá principalmente pela pele lesada ou pelas mucosas oral, nasal e conjuntival. Pode ocorrer pela pele íntegra, quando imersa em água por longo período de tempo. Outras formas de transmissão têm sido relatadas, porém, com menor frequência, como o contato com sangue, tecidos e excretas animais, mordeduras de roedores e a via transplacentária (80).

As leptospiros possuem fisiologia e mecanismos de virulência particulares, pois parte dos seus genes não possuem homólogos com nenhuma outra bactéria. Cada gene codifica proteínas de funções parcialmente conhecidas, ou totalmente desconhecidas, reforçando esta afirmativa. Os seus fatores de virulência estão diretamente relacionados à expressão genética de constituintes protéicos da sua membrana externa (OMPs) como lipopolissacarídeos (LPS), endotoxinas, flagelos, heme oxidase, Loa22, Lig A, Lig B, entre outros (81).

A leptospirose se desenvolve como doença sistêmica nos seres humanos e nos animais domésticos, principalmente cães, bovinos e suínos, caracterizada por febre, insuficiência renal e hepática, manifestações pulmonares e problemas reprodutivos (72). Cerca de 90% dos casos humanos cursam como doença discreta e autolimitada, com sinais de febre, náuseas, vômitos, dores musculares e cefaleia, sendo confundida na maior parte dos diagnósticos com viroses (82), entretanto pode assumir formas graves, incluindo casos de meningite de alta letalidade, após período de incubação de 8 a 10 dias (83).

Em bovinos, equinos e suínos, os sinais de leptospirose são variáveis, iniciando com inapetência, letargia e febre no início da leptospiremia. A seguir, podem ser observados vários graus de icterícia e anemia, às vezes acompanhados de hemoglobinúria. Em fêmeas, ocorrem falhas reprodutivas, reabsorção embrionária precoce, aborto no terço final da gestação, morte fetal, mumificação fetal, neonatos prematuros ou fracos e agalactia. Podem ocorrer, também, quadros oculares de iridociclite ou uveíte recorrente em equinos e nessa espécie têm sido observados abortos a partir dos seis meses de gestação, até o final da mesma (72).

Como provas diagnósticas, o teste sorológico mais utilizado o Teste de Aglutinação Microscópica, MAT. Outra possibilidade é o teste ELISA (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática) (79), que é um exame de rápida execução, alta sensibilidade, facilmente replicável e de leitura automatizada, entretanto, sua especificidade e sensibilidade não são iguais a MAT, não sendo recomendado o seu uso como único método de diagnóstico, mas sim, como teste de triagem (72). Para a MAT são utilizados antígenos vivos dos principais sorovares relacionados às espécies que estão sendo examinadas. Inicialmente, realiza-se teste

de triagem e a seguir a titulação dos sorovares reagentes na prova de triagem, para avaliação do título até a sua extinção.

Para o diagnóstico nos casos de abortos, podem ser realizados o isolamento do agente em meios específicos, colorações específicas de fragmentos de órgãos, com sais de prata, pelas técnicas de Levaditi, Gomori, Argentometanoamina, entre outros, ou por testes sorológicos pela MAT ou ELISA. O isolamento das leptospirosas é laborioso e demorado, sendo, os diagnósticos sorológicos, os mais utilizados. Quanto ao diagnóstico sorológico é importante a associação dos dados clínicos e epidemiológicos, pois pode haver resposta de títulos residuais de infecção prévia ou vacinal, dificultando a interpretação. Muitas vezes é preciso lançar mão de sorologia pareada com intervalo de 2 a 3 semanas, comparando-se os títulos, devendo ocorrer a sua quadruplicação entre a 1ª e 2ª amostra. Outra possibilidade diagnóstica é a pesquisa do agente em órgãos pelas técnicas de PCR, a qual tem auxiliado muito nos casos de abortos.

As leptospirosas são sensíveis a diversos antibióticos. Para o tratamento de casos severos em humanos é preconizado antibioticoterapia por via intravenosa com altas doses de penicilina, já os casos mais brandos podem ser tratados com outros antibióticos por via oral, como ampicilina, tetraciclina e doxiciclina (83). Apesar da sensibilidade do agente, o êxito do tratamento relaciona-se com o período de evolução da enfermidade e com a severidade das lesões, pois nos casos de insuficiência hepática e insuficiência renal o prognóstico é sempre reservado.

A enfermidade pode ser prevenida nos animais com esquemas de vacinação e aplicação de medidas de biossegurança nas unidades de produção. O destino ambientalmente correto do esgoto, excretas, restos placentários e de abortamento, higienização de equipamentos zootécnicos auxiliam no controle e prevenção da leptospirose. A vacinação de rebanhos deve ser uma medida inserida em um programa de controle à leptospirose animal, principalmente em bovinos e suínos, podendo reduzir a eliminação urinária de leptospirosas, diminuindo o prejuízo econômico na criação, e os riscos para a mão de obra humana envolvida (72), já que essa enfermidade pode ser considerada como uma zoonose ocupacional com maiores chances de infecção para as pessoas que estão diretamente relacionadas com o manejo dos animais.

A presença da leptospirose em um ecossistema depende de condições adequadas para a sobrevivência e multiplicação das leptospirosas, como o clima, o solo e os hospedeiros. É improvável que a leptospirose seja erradicada, principalmente em países em desenvolvimento, devido à difícil implantação de condições sanitárias adequadas, e pelo fato dos seus principais reservatórios serem os roedores sinantrópicos, animais silvestres e outros animais, constituindo as principais fontes de infecção dos sorovares mais virulentos (71).

6. Raiva

Enfermidade infectocontagiosa, de origem viral, aguda e letal. Acomete mamíferos e é considerada como das mais temíveis zoonoses. Caracteriza-se por quadro clínico de encefalite aguda com sinais neurológicos, como agressividade, mudanças de comportamento, paralisia progressiva, e morte após curta evolução de 7 a 10 dias, decorrente da replicação viral neuronal. Pelo elevado número de casos humanos, em alguns países, e número de pessoas submetidas ao tratamento antirrábico pós-exposição, é considerada sério problema de saúde pública. É causada por RNA vírus pertencente à ordem Mononegavirales, família Rhabdoviridae, gênero *Lyssavirus*, com sete genótipos definidos e dois novos ainda em definição. Apresenta forma cilíndrica característica, similar a um projétil de revólver à microscopia eletrônica.

A raiva bovina na América Latina causa prejuízos de milhões de dólares anualmente. Calcula-se que no Brasil o prejuízo seja de aproximadamente 15 milhões de dólares ao ano,

provocado pela morte de animais, vacinação de animais e tratamento pós-exposição a pessoas envolvidas em acidentes com animais (84). Apesar dos grandes avanços obtidos com o seu controle no Brasil, é possível dizer que se trata ainda de um sério problema de saúde pública, pelos riscos de exposição dos seres humanos e pela sua letalidade, que deve ser considerada praticamente 100%, uma vez instalados os primeiros sintomas (85). É uma zoonose de ampla distribuição, estando presente em todos os continentes com exceção da maior parte da Oceania e de alguns países que se encontram livres, como Jamaica, Barbados, Uruguai, Espanha, Portugal, dentre outros (78).

O vírus rábico possui predileção pelo sistema nervoso central (SNC), sendo, portanto, neurotrópico, provocando uma encefalomielite aguda que, via de regra, é letal. A doença é caracterizada por dois quadros de sintomatologia clínica bastante característica, a raiva furiosa e a raiva paralítica. Na forma furiosa, o animal fica agressivo, como principalmente nos cães. Na forma paralítica, o animal apresenta incoordenação motora seguida de paralisia e morte, como em herbívoros. O período de incubação da enfermidade é longo e bastante variável, tanto em humanos como nos animais, normalmente de 30 a 90 dias, podendo ser maior, que um ano, em casos excepcionais. Em herbívoros pode variar entre 25 e mais de 150 dias (78,85).

A epidemiologia da enfermidade apresenta quatro ciclos de transmissão: o ciclo urbano que tem o cão e o gato como os principais reservatórios e transmissores; o ciclo silvestre que possui vários animais silvestres atuando como reservatórios e transmissores; o ciclo silvestre aéreo no qual os quirópteros atuam na manutenção e disseminação do vírus rábico; e o ciclo rural onde os quirópteros atuam como principais transmissores da doença aos animais de produção (78).

O principal transmissor da raiva aos animais de produção são os morcegos hematófagos. No Brasil, são conhecidas 9 famílias, 64 gêneros e 167 espécies de morcegos, amplamente distribuídos por todo o território nacional. Destas, somente três são de morcegos hematófagos: *Desmodus rotundus*, *Diaemus youngi* e *Diphylla ecaudata*. O vírus rábico está presente em 24% das espécies existentes no Brasil, incluindo as três espécies de hábito hematófago (86). Nos últimos anos ocorreu uma alteração no perfil epidemiológico da raiva, como demonstra o estudo realizado por Queiroz et al. (87) na região Noroeste do estado de São Paulo, no qual se observou que, no período de 1993 a 2007, houve uma mudança na distribuição do percentual de espécies de animais positivos, sendo os 5 primeiros anos de observação caracterizado pelo ciclo urbano da doença, predominando a raiva em caninos, e os 15 anos seguintes caracterizados pelo ciclo aéreo e rural, predominando a raiva em morcegos e bovinos.

Desse modo, pode-se confirmar a grande importância do ciclo aéreo na manutenção do vírus rábico no ambiente. Isso ocorre pela falta de planejamento urbano das populações, o rápido e desordenado crescimento, ofertando abrigos artificiais, humanos invadindo áreas que até então eram habitadas somente pelos animais silvestres, o desmatamento de grandes áreas para a implementação de propriedades rurais, oferecendo assim aos morcegos hematófagos, condições de sobrevivência, pelo aumento na oferta de alimentar (88).

Visando controlar o atual cenário aéreo e rural de ocorrência da raiva no Brasil, foi lançado, em 2002, o Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros (PNCRH) que se baseia na vigilância epidemiológica com profilaxia da doença mediante vacinação de herbívoros que vivem em áreas endêmicas e cadastramento e monitoramento dos abrigos de morcegos, controlando-se a densidade populacional, pois, apesar de transmitirem diversas doenças para humanos e animais, os quirópteros são de importância ecológica, desempenhando papel fundamental na dispersão de sementes, polinização de plantas e na redução de mosquitos (88). Com essas medidas, segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), os casos de raiva em animais de produção têm diminuído, mas as atividades de vacinação devem ser reforçadas naquelas propriedades onde houver a

presença de morcegos hematófagos. Além dessa atividade, programas de educação sanitária devem ser instituídos para o esclarecimento das pessoas envolvidas no processo produtivo nas propriedades rurais, considerando-se os aspectos de saúde pública relacionados a essa enfermidade (89).

COMENTÁRIOS FINAIS

Pode-se sumarizar que, no que se refere à produção animal brasileira, apesar da maior facilidade de acesso as informações, os rebanhos do país ainda são afetados por inúmeras enfermidades de caráter zoonótico. Por essa razão, o papel do médico veterinário se evidencia no processo produtivo e no manejo zoo-sanitário para produção de alimentos de origem animal de melhor qualidade, livres de agentes causadores de zoonoses. As atividades de profilaxia e de controle de doenças são inerentes à profissão, destacando-se ainda a sua atuação importante na extensão rural, promovendo também as ações de educação sanitária.

REFERÊNCIAS

1. Domingues PF, Langoni H. Manejo Sanitário Animal. 1a ed. Rio de Janeiro: Editora de Publicações Biomédicas Ltda. – EPUB; 2001.
2. Ruggiero AP, Ikuno AA, Ferreira VCA, Roxo E. Tuberculose bovina: alternativas para o diagnóstico-artigo de revisão. Arq Inst Biol. 2007;74(1):55-65.
3. Somoskovi A, Dormandy J, Mayrer AR, Carter M, Hooper N, Salfinger M. “*Mycobacterium canettii*” isolated from a human immunodeficiency virus-positive patient: first case recognized in the United States. J Clin Microbiol. 2009;47(1):255-7.
4. Edginton ME, Wong ML, Phofa R, Mahlaba D, Hodkinson HJ. Tuberculosis at Chris Hani Baragwanath Hospital: numbers of patients diagnosed and outcomes of referrals to district clinics. Int J Tuberc Lung Dis. 2005;9(4):398-402.
5. Roxo E. Tuberculose bovina: revisão. Arq Inst Biol. 1996;63(2):91-7.
6. Guimarães FF, Langoni H. Leite: alimento imprescindível, mas com riscos para Saúde Pública. Vet Zootec. 2009;16(1):38.
7. Pardo RB, Langoni H, Mendonça LJP, Chi KD . Isolation of *Mycobacterium* spp in milk from cows suspected or positive to tuberculosis. Braz J Vet Res Anim Sci. 2001;38(6), 284-7.
8. Franco MMJ, Paes AC, Ribeiro MG, Pantoja JCF, Santos ACB, Mitaya M, et al. Occurrence of mycobacteria in bovine milk samples from both individual and collective bulk tanks at farms and informal markets in the southeast region of Sao Paulo, Brazil. BMC Vet Res. 2013;9:85.
9. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Manual técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose (PNCEBT). Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; 2006.

10. Diretoria de vigilância epidemiológica. Superintendência de Vigilância em Saúde. Secretaria de Estado da Saúde. Estado de Santa Catarina. Protocolo Estadual de Vigilância e manejo clínico de Brucelose humana. Florianópolis: DIVE; 2012. Available from: http://www.dive.sc.gov.br/conteudos/zoonoses/publicacoes/Protocolo_Clinico_de_Brucelose_Humana.pdf.
11. Radostits OM, Gay CC, Blood DL, Hinchcliff KL. Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. 9a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.
12. Ruiz-Mesa JD, Sánchez-Gonzalez J, Reguera JM, Martín L, Lopez-Palmero S, Colmenero JD. Rose Bengal test: diagnostic yield and use for the rapid diagnosis of human brucellosis in emergency departments in endemic areas. *Clin Microbiol Infect.* 2005;11(3):221-5.
13. Lino Júnior RS, Faleiros ACG, Reis MA, Teixeira VPA. Anatomia Patológica da Cisticercose [Internet]. Uberaba; 2010 [cited 2015 Jul 13]. Available from: <http://www.fmtm.br/instpub/patge/cisticercose.htm>.
14. Neves DP. Parasitologia Humana. 12a ed. Belo Horizonte: Atheneu; 2011.
15. Giovannini CI, Carvalho TS, Cabral JF, Brasil RB, Santos PA. Aspectos econômicos e epidemiológicos da cisticercose bovina–revisão de literatura. *Rev Eletrônica Interdisciplin.* 2014;2(12):6-12.
16. Gupta RL, Agrawal V, Kumar S. Oral expulsion of *Taenia saginata*. *Indian J Gastroenterol.* 1997;16(2):70-71.
17. Pfuetzenreiter MR, Ávila-Pires FD. Epidemiologia da teníase/cisticercose por *Taenia solium* e *Taenia saginata*. *Cienc Rural.* 2000;30(3):541-8.
18. Garcia HH, Del Brutto OH. Imaging findings in neurocysticercosis. *Acta Trop.* 2003;87:71-8.
19. Rey L. Parasitologia. 4a ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2008.
20. World health organization. Report of the WHO Expert Consultation on Foodborne Trematode Infections and Taeniasis/Cysticercosis. Geneva: WHO; 2011.
21. Del Brutto OH. Neurocysticercosis: a review. *Sci World J.* 2012:1-8.
22. Togoro SY, Souza EMD, Sato NS. Diagnóstico laboratorial da neurocisticercose: revisão e perspectivas. *J Bras Patol Med Lab.* 2012;48(5):345-55.
23. Deckers N, Dorny P. Immunodiagnosis of *Taenia solium* taeniosis/cysticercosis. *Trends Parasitol.* 2010;26(3):137-144.
24. Michelet L, Fleury A, Sciutto E, Kendjo E, Fragoso G, Paris L, et al. Human neurocysticercosis: comparison of different diagnostic tests using cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol.* 2011;49(1):195-200.

25. Fernandes JOM, Buzetti WAS. Prevalência de cisticercose bovina em animais abatidos em frigoríficos sob inspeção federal, da 9ª região administrativa de Araçatuba, SP. Hig Aliment. 2001;15(87):30-7.
26. Siqueira-Batista R, Gomes AP. Antimicrobianos: guia prático. Rio de Janeiro: Rubio; 2005.
27. Garcia HH. Neurocysticercosis in Immigrants Populations. J Travel Med. 2012;19(2):73-5.
28. Nash TE, Mahanty S, Garcia HH, Cysticercosis Group in Peru. Corticosteroid use in neurocysticercosis. Expert Rev Neurother. 2011;11(8):1175-83.
29. Barbosa FC, Cabral DD, Sopelete MC, Calderon AE, Mendes AS, Júnior IK, et al. Eficácia do sulfóxido de albendazole na cisticercose bovina. Hora Vet. 2003;22(132):18-20.
30. Rey L. Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem na América e na África. 3a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
31. Maurice J. Of pigs and people – WHO prepares to battle cysticercosis. Lancet. 2014;384:571-2.
32. Dubey JP. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. J Parasitol. 1995;81(3):410-5.
33. Amendoeira MRR, Costa T, Spalding SM. *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Sarcocystidae) e a Toxoplasmose. Rev Souza Marques. 1999;1(1):15-35.
34. Arias ML, Reyes L, Chinchilla M, Linder E. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa) in meat producing animals in Costa Rica. Rev Biol Trop. 1993;42(1-2):15-20.
35. Weigel RM, Dubey JP, Siegel AM, Kitron UD, Mannelli A, Mitchell MA, et al. Risk factors for transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms in Illinois. J Parasitol. 1995;81:736-41.
36. Amendoeira MRR. Mecanismos de transmissão da toxoplasmose. An Acad Nac Med. 1995;155(4):224-5.
37. Jones JL, Dargelas V, Roberts J, Press C, Remington JS, Montoya JG. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in the United States. Clin Infect Dis. 2009;49(6):878-84.
38. Dubey JP, Thylliez PH. Persistence of tissue cysts in edible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. Am J Vet Res. 1993;54(2):270-3.
39. Aspinall TV, Marlee D, Hyde JE, Sims PF. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in commercial meat products as monitored by polymerase chain reaction—food for thought? Int J Parasitol. 2002;32(9):1193-9.
40. Lundén A, Uggla A. Infectivity of *Toxoplasma gondii* in mutton following curing, smoking, freezing or microwave cooking. Int J Food Microbiol. 1992;15(3):357-63.

41. Silva RC. Caracterização genotípica de amostras de *Toxoplasma gondii* isoladas de ovinos de abatedouro [tese]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2009.
42. Dubey JP. Persistence of encysted *Toxoplasma gondii* in caprine livers and public health significance of toxoplasmosis in goats. *J Am Vet Med Assoc.* 1980;177(12):1203-7.
43. Spalding SM, Amendoeira MRR, Klein CH, Ribeiro LC. Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among pregnant women in South of Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2005;38(2):173-7.
44. Dubey JP, Graham DH, Blackston CR, Lehmann T, Gennari SM, Ragozo AM, et al. Biological and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from Sao Paulo, Brazil: unexpected findings. *Int J Parasitol.* 2002;32(1):99-105.
45. Millar PR, Sobreiro LG, Bonna ICF, Amendoeira MRR. A importância dos animais de produção na infecção por *Toxoplasma gondii* no Brasil. *Semina Cienc Agrar.* 2008;29(3):693-706.
46. Dubey JP. Long-term persistence of *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs inoculated with *T gondii* oocysts and effect of freezing on viability of tissue cysts in pork. *Am J Vet Res.* 1988;49(6):910-3.
47. Carvalho CMCN, Farhat CK. Toxoplasmose adquirida. *J Pediatr.* 1999;75 Supl 1:S63-7.
48. Zajdenweber M, Muccioli C, Belfort Jr R. Acometimento ocular em pacientes com AIDS e toxoplasmose do sistema nervoso central-antes e depois do HAART. *Arq Bras Oftalmol.* 2005;68(6):773-5.
49. Holland GN, Engstrom Jr RE, Glasgow BJ, Berger BB, Daniels SA, Sidikaro Y, et al. Ocular toxoplasmosis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Ophthalmol.* 1988;106(6):653-67.
50. Antinori A, Larussa D, Cingolani A, Lorenzini P, Bossolasco S, Finazzi MG, et al. Prevalence, associated factors, and prognostic determinants of AIDS-related toxoplasmic encephalitis in the era of advanced highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis.* 2004;39(11):1681-91.
51. Camargo LF, Uip DE. Infecções em pacientes submetidos a transplante cardíaco. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo.* 1995;5(6 Supl A):679-85.
52. Daffos F, Forestier F, Capella-Pavlovsky M, Thulliez P, Aufrant C, Valenti D, et al. Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital toxoplasmosis. *N Engl J Med.* 1988;318(5):271-5.
53. Galván-Ramírez ML, Mondragón RF. Toxoplasmosis humana. Guadalajara: Ediciones Cuellar; 2001.
54. Motta AC, Vieira MI, Bondan C, Edelweiss MIA, Dametto MA, Gomes A. Aborto em ovinos associado à toxoplasmose: caracterização sorológica, anátomo-patológica e imunoistoquímica. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2008;17 Supl 1:204-8.

55. Dubey JP. Status of toxoplasmosis in sheep and goats in the United States. J Am Vet Med Assoc. 1990;196(2):259-62.
56. da Silva AV, Langoni H. The detection of *Toxoplasma gondii* by comparing cytology, histopathology, bioassay in mice, and the polymerase chain reaction (PCR). Vet Parasitol. 2001;97(3):193-200.
57. Vitor RWDA, Pinto JB, Chiari CDA. Eliminação de *Toxoplasma gondii* através de urina, saliva e leite de caprinos experimentalmente infectados. Arq Bras Med Vet Zootec. 1991;43(2):147-54.
58. Camossi LG. Diferenciação entre os estágios agudo e crônico na infecção toxoplásmica pelo método de aglutinação direta modificado e pesquisa do agente no leite de ovelhas naturalmente infectadas por *Toxoplasma gondii* [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2010.
59. Silva AV, Cunha ELP, Meireles LR, Gottschalk S, Mota RA, Langoni H. Toxoplasmose em ovinos e caprinos: estudo soroepidemiológico em duas regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. Cienc Rural. 2003;33(1):115-9.
60. Meireles LR, Andrés Jr JG, Andrade Jr HF. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in food animals from São Paulo state, Brazil. Braz J Vet Res Anim Sci. 2003;40(4):267-71.
61. Marana ERM, Navarro IT, Vidotto O, Freire RL, Lott R. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos de corte, abatidos em matadouros do norte do Paraná–Brasil. Semina Cienc Agrar. 1994;15(1):38-40.
62. Costa AJ, Costa EP. Frequência de bovinos reagentes à reação de Imunofluorescência Indireta para *Toxoplasma gondii* em Poços de Caldas, MG, Brasil. Arq Esc Vet Univ Fed Minas Gerais. 1978;30(1):47-51.
63. Costa GHN, Cabral DD, Varandas NP, de Almeida Sobral E, de Almeida Borges F, Castagnolli KC. Frequência de anticorpos anti-Neospora caninum e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e de Minas Gerais. Semina Cienc Agrar. 2001;22(1):61-6.
64. Daguer H, Vicente RT, Costa T, Virmond MP, Hamann W, Amendoeira MRR. Soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos e funcionários de matadouros da microrregião de Pato Branco, Paraná, Brasil. Cienc Rural. 2004;34(4):1133-7.
65. Gondim LP, Barbosa HV, Ribeiro Filho CHA, Saeki H. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brazil. Vet Parasitol. 1999;82(4):273-6.
66. Silva JD. Sobre um caso de toxoplasmose espontânea em suínos. Arq Esc Vet Univ Fed Minas Gerais. 1959;12(1):425-8.
67. Silva AV, Mendonça AO, Pezerico SB, Domingues PF, Langoni H. Genotyping of *Toxoplasma gondii* strains detected in pork sausage. Parasitol Latinoam. 2005;60(1-2):65-8.

68. Oliveira KR, Domingues PF, Langoni H, Silva RC, Gottschalk S. Detecção de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soros de suínos criados sob condições rústicas na microrregião de Registro SP, pelo método de aglutinação direta (MAD). *Vet Zootec.* 2007;14(2):169-75.
69. Silva A, Boareto H, Isbretch FB, Silva RC, Langoni H. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos da região do Oeste do Paraná, Brasil. *Vet Zootec.* 2008;15(2):263-6.
70. Piassa FR, Araujo JB, Rosa RC, Mattei RJ, Da Silva RC, Langoni H, et al. Prevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in certified and non-certified pig breeding farms in the Toledo microregion, PR, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2010;19(3):152-6.
71. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Suínos [Internet]. Brasília; 2015 [cited 2015 Ago 21]. Available from: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/suinos>.
72. Adler B, Moctezuma AP. *Leptospira* and leptospirosis. *Vet Microbiol.* 2010;140(3-4):287-96.
73. Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA, et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect Dis.* 2003;3(12):757-71.
74. Castro RF. La situación actual de las zoonosis más frecuentes en el mundo. *Gac Med Mex.* 2010;146(6):423-9.
75. Sehgal SC. Epidemiological patterns of leptospirosis. *Indian J Med Microbiol.* 2006;24(4):310-1.
76. Ko AI, Galvão Reis M, Ribeiro Dourado CM, Johnson WD, Riley LW. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. Salvador Leptospirosis Study Group. *Lancet.* 1999;354:820-5.
77. Melo LDSS, Castro MBD, Leite RC, Moreira EC, Melo CBD. Main aspects of *Leptospira* sp infection in sheep. *Cienc Rural.* 2010;40(5):1235-41.
78. Acha PN, Szyfres B. Rabies. In: Zoonoses and communicable diseases common to man and animals. 2nd ed. Washington: Pan American Health Organization; 2003.
79. Plank R, Dean D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. *Microbes Infect.* 2000;2(10):1265-76.
80. Ko AI, Goarant C, Picardeau M. *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat Rev Microbiol* 2009;7(10):736-47.
81. Adler B, Lo M, Seemann T, Murray GL. Pathogenesis of leptospirosis: the influence of genomics. *Vet Microbiol.* 2011;153(1-2):73-81.
82. Sethi S, Shrama N, Kakkar N, Taneja J, Chatterjee SS, Banga SS, et al. Increasing trends of leptospirosis in Northern India: a clinic-epidemiological study. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010;4(1):1-7.
83. Meira DA. Clínica de doenças tropicais e infecciosas. Rio de Janeiro: Interlivros; 1991.

84. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (BR). Manual de procedimentos para o controle da raiva dos herbívoros. Brasília: Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento; 2004.
85. Silva RC, Langoni H. Epidemiologia da raiva em quirópteros e os avanços em biologia molecular. *Vet Zootec*. 2011;18(1):19-37.
86. Sodré MM, Gama SR, Almeida MF. Updated list of bat species positive for rabies in Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2010;52(2):75-81.
87. Queiroz LH, Carvalho C, Buso DS, Ferrari CIL, Pedro WA. Perfil epidemiológico da raiva na região Noroeste do Estado de São Paulo no período de 1993 a 2007. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2009;42(1):9-14.
88. Mayen F. Haematophagous bats in Brazil, their role in rabies transmission, impacto n public health, livestock industry and alternatives to na indiscriminate reduction of bat population. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*. 2003;50(10):469-72.
89. Megid J. Raiva. In: *Doenças Infecciosas em Animais de Produ o e de Companhia*. 1a ed. Rio de Janeiro: Roca; 2016.

Recebido em: 04/03/2016

Aceito em: 23/03/2016

PARAGANGLIOMA EM CÃO ASSOCIADO À FALÊNCIA CARDÍACA: RELATO DE CASO

Diogo Sousa Zanoni¹
Raquel Beneton Ferioli²
José Guilherme Xavier³
Júlio Lopes Sequeira⁴
Renée Laufer Amorim⁴

RESUMO

Neoplasias primárias do coração são raras em todas as espécies domésticas, contudo, os paragangliomas ocorrem em cães. No presente relato, um cão da raça Golden Retriever foi encaminhado para o Serviço de Patologia Veterinária do Hospital Veterinário – UNESP, Botucatu com queixa de morte súbita. Ao exame de necropsia, o coração apresentou neoformação adjacente a veia cava caudal e também em aurícula direita. Além disso, em ambos os pulmões, foram observados diversos nódulos. O material coletado foi processado rotineiramente e corado pelo método de hematoxilina-eosina. Também foi realizado painel imuno-histoquímico para os anticorpos primários anti-citoqueratina, anti-vimentina, anti-desmina, anti-alfa actina de músculo liso, anti-fator VIII e anti-enolase neurônio específico (NSE). Baseados nos dados clínicos e achados morfológicos, anatômicos, histopatológico, adicionalmente, a imunoreatividade positiva para NSE, o tumor foi caracterizado como um paraganglioma grau 2 de malignidade. O presente relato visa contribuir adicionando dados à literatura desta neoplasia.

Palavras-chave: canino, tumor cardíaco, paraganglioma.

CANINE PARAGANGLIOMA ASSOCIATE WITH BANKRUPTCY CARDIAC: CASE REPORT

ABSTRACT

Primary neoplasms of the heart are rare in all domestic species, however, paragangliomas occur in dogs. In this case report, a Golden Retriever breed was sent to the Pathology Department of Veterinary Hospital - UNESP, Botucatu with sudden death. At necropsy, the heart showed neoformation adjacent to the caudal vena cava and in the right atrium and, in both lungs were observed many nodes. The collected material was processed and stained with hematoxylin-eosin. It was also performed immunohistochemical panel for anti-cytokeratin, anti-vimentin, anti-desmin, smooth muscle anti-alpha actin, anti-factor VIII and anti-enolase specific neuron (NSE). Based on the clinical and morphological findings, anatomical, histological, additionally, to positive immunoreactivity for NSE, the tumor was characterized as a paraganglioma grade 2 of malignancy. This report aims to contribute by adding data to the literature of this neoplasm.

Keywords: canine, heart tumors, paraganglioma.

¹ Pós-graduando da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-FMVZ - UNESP - Botucatu, São Paulo. Contato principal para correspondência.

² Pós-graduando do Departamento de Clínica Veterinária, FMVZ/UNESP-Botucatu. Distrito de Rubião Jr. S/N. Botucatu, 18618-000-SP, Brasil

³ Pós-graduação em Patologia Ambiental e Experimental, Universidade Paulista (UNIP), São Paulo, SP, Brasil, (011)55750701

⁴ Professor Ass. Dr. do Departamento de Clínica Veterinária – FMVZ – UNESP – Botucatu, Distrito de Rubião Jr. S/N. Botucatu – SP – Brasil, 18618-000, (14) 38802064

PARAGANGLIOMA EN PERRO ASOCIADA CON LA INSUFICIENCIA CARDÍACA: REPORTE DE UN CASO

RESUMEN

Neoplasmas primarios del corazón son raros en todas las especies domésticas, sin embargo, paragangliomas se producen en los perros. En este informe, un perro de raza Golden Retriever fue enviado al Departamento de Patología del Hospital Veterinario - UNESP, Botucatu con histórico de muerte súbita. En la necropsia, el corazón mostró neoformación adyacente a la vena cava caudal y en la aurícula derecha, otra parte, fueron observados en ambos pulmones varios nodos. El material recogida fue procesado y se tiñó con hematoxilina-eosina. También se realizó inmunohistoquímica para panel de anticuerpos primarios anti-citoqueratina, anti-vimentina, anti-desmina, músculo liso anti-actina alfa, anti-factor VIII y anti-enolasa neuronal específica (NSE). Con base en los datos clínicos y morfológicos, anatómicos, histológicos, además, inmunorreactividad positiva para NSE, el tumor se caracterizó por ser un paraganglioma grado 2 de malignidad. Este informe tiene como objetivo contribuir agregando datos a la literatura de esta neoplasia.

Palabras clave: canino, tumor cardíaco, paraganglioma.

INTRODUÇÃO

Os receptores sensoriais do sistema circulatório incluem o corpo aórtico, o corpo carotídeo e o seio carotídeo que têm por função monitorar os níveis sanguíneos de oxigênio e dióxido de carbono, pH e temperatura sanguínea e, ainda, participam da regulação da frequência cardiorrespiratória (1,2). A neoplasia relacionada a esses receptores localiza-se comumente na base do coração, dentro do saco pericárdico, envolvendo o corpo aórtico ou situado entre a aorta e a artéria pulmonar, o corpo carotídeo e, menos frequentemente, o glomus pulmonar, podendo ocorrer, ainda, nas adrenais ou em sítios ectópicos (3,4), sendo considerada a segunda neoplasia cardíaca primária mais comum em cães, superada apenas pelo hemangiossarcoma, e representa 7% de todos os tumores cardíacos primários em cães (4,5).

Tumores envolvendo o coração são relativamente infrequentes em animais e humanos (5). Ocasionalmente, paragangliomas são descritos em humanos, gatos, cavalos, bovinos e patos (6-9), principalmente em corpo aórtico e carotídeo. Os tumores do corpo aórtico e carotídeo são caracterizados por agrupamentos de células grandes, poliédricas com citoplasma denso contendo grânulos ligados a membrana (10).

Tumores cardíacos são reconhecidos em seres humanos desde o século 16, porém o primeiro registro do diagnóstico ante morte tenha sido feito somente nos anos de 1930 (5). O desenvolvimento de angiocardiografia, eco cardiografia, e outras modalidades de exame por imagem aumentaram acentuadamente a detecção de tumores cardíacos em pessoas e animais (3,5,11). Deste modo, podem ser diagnosticados por intermédio de métodos ultrassonográficos ou radiológicos e confirmados histopatologicamente, inclusive com a utilização da imuno-histoquímica (10). Este trabalho tem por objetivo relatar um caso de paraganglioma associado à falência cardíaca em um canino Golden Retriever.

RELATO DE CASO

Um cão da raça Golden Retriever, macho, não castrado, pesando 35Kg, com oito anos de idade, foi encaminhado ao Serviço de Patologia Veterinária da Universidade Estadual Paulista – UNESP - Botucatu para análise necroscópica. O animal apresentava histórico de morte súbita durante atendimento clínico. Ao exame de necropsia, observou-se hemopericárdio moderado, assim como nódulo adjacente à veia cava caudal medindo 4,0 x 3,2 cm, superfície irregular, coloração avermelhada, consistência macia, além de aderência em pericárdio e discreta invasão do miocárdio. Após abertura das câmaras cardíacas, evidenciou-se, em aurícula direita, continuidade do nódulo adjacente à veia cava caudal medindo 4,5 x 3,0 cm de diâmetro aderida a parede auricular e presença moderada de coágulo ao redor do mesmo (trombo) (Figura 1 A-B).

Foram observados nódulos medindo de 0,3 a 0,5 cm de diâmetro, de coloração avermelhada, consistência firme e distribuição multifocal no pulmão. O animal apresentava criptorquidismo unilateral e atrofia moderada do testículo esquerdo que se encontrava na bolsa escrotal. Foram colhidos fragmentos do nódulo adjacente à veia cava caudal, do nódulo em aurícula direita, dos nódulos pulmonares e de outros órgãos como baço, intestino, pulmão, fígado, coração, encéfalo, rim e testículo, que foram fixados em formalina a 10%, processados rotineiramente e corados pelo método de hematoxilina-eosina (HE).

O exame histopatológico revelou lesão com características neoplásicas, de alta celularidade, composta por células cúbicas a poliédricas, dispostas em lençóis compactos e com membranas celulares distintos, de citoplasma levemente eosinófilo, esférico, granular ora discretamente vacuolar. O núcleo era centralizado, variando a sua forma de esférica a ligeiramente ovalada, contendo cromatina pontilhada e um único e proeminente nucléolo. As figuras de mitose eram pouco frequentes. Estas células encontravam-se entremeadas por um estroma rico em colágeno e vasos. As áreas centrais da neoplasia mostravam focos de hemorragia, necrose e coagulação (Figura 1 C). Os nódulos pulmonares mostravam as mesmas características neoplásicas descritas anteriormente. A partir destes achados foi levantada a hipótese diagnóstica de paraganglioma. Para a confirmação do diagnóstico utilizou-se a técnica de imuno-histoquímica com um painel de anticorpos que está apresentado na tabela 1.

No que diz respeito a imuno-histoquímica, evidenciou-se imunoreatividade positiva para NSE, sendo esta citoplasmática, moderada e difusa (Figura 1 D e Tabela 1). Frente aos achados morfológicos, anatômicos, microscópicos e a associação dos dados clínicos, adicionalmente, a imunoreatividade positiva para NSE, foram conclusivos para paraganglioma grau 2 de malignidade.

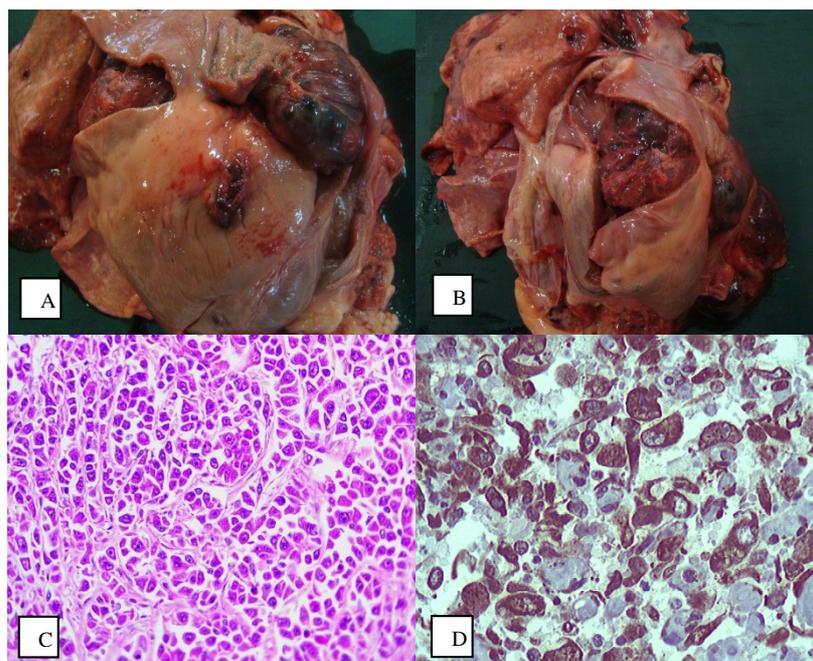


Figura 1. **A:** Observa-se nódulo adjacente à veia cava caudal, revelando superfície irregular, coloração avermelhada, além de moderada aderência em pericárdio e discreta invasão em miocárdio; **B:** Evidencia-se, em aurícula direita, continuidade do nódulo adjacente a veia cava, revelando superfície irregular, coloração avermelhada, aderido à parede auricular e, também presença de trombo; **C:** Fotomicrografia do Paraganglioma. Células de formato cúbico a poliédrico, com citoplasma levemente eosinofílico e granular. O núcleo é centralizado, variando a sua forma de esférica a ligeiramente ovalada, contendo cromatina pontilhada, e um nucléolo único e proeminente. HE, objetiva 40x; **D:** Coloração imuno-histoquímica revela imunoreatividade positiva para NSE, sendo esta citoplasmática, moderada e difusa. IHQ, objetiva 40x

Tabela 1. Lista de anticorpos utilizados e resultados da imunomarcação.

Especificação	Anticorpo	Diluição	Coloração	
			Células Tumorais	Outros Elementos
Citoqueratina	Invitrogen	1:50	-	-
Vimentina	Invitrogen	1:200	-	Estroma de fibra muscular
Desmina	Dako	1:50	-	-
Alfa-sma	Dako	1:1200	-	Estroma de fibra muscular
Fator VIII	Dako	1:600	-	Endotélio vascular
NSE	Dako	1:100	++	-

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os receptores sensoriais do sistema circulatório são compostos por células não cromafins, originárias da crista neural. Esse grupo de células está associado ao sistema nervoso autônomo, de onde também são derivados o gânglio simpático e a medula adrenal

(1,2,12). Baseados nessa função, esses tumores foram chamados de quimiodectoma, mas esta denominação parece não ser a mais adequada, pois são tumores do sistema paraganglionar e não de células quimiorreceptoras. Do ponto de vista embriológico, a nomenclatura mais apropriada é paraganglioma. Outros termos, tais como tumor do corpo aórtico e carotídeo, tumor glômico, quimiodectoma e tumor não cromafim, são termos menos acurados (12).

A patogênese dessa neoplasia pode estar relacionada a hipóxia crônica, sendo mais prevalente em animais e humanos que vivem em regiões montanhosas e em raças braquicefálicas. Embora a origem dos paragangliomas seja desconhecida, sugere-se que uma predisposição genética agravada por hipóxia crônica, poderia explicar a alta incidência em certas raças de cães braquicefálicos ao desenvolvimento de tumores do corpo aórtico e carotídeo (9,10,13).

Cães de raças braquicefálicas, tais como Boxer, Boston Terrier e Bulldog Inglês são altamente predispostos ao desenvolvimento de tumores do corpo aórtico e carotídeo (9,10). Em consonância ao nosso relato, Zimmerman et al. (13) relataram um paraganglioma na base do coração de um Golden Retriever. Os paragangliomas são mais frequentes em cães machos que fêmeas e, a idade média dos cães com tumores do corpo aórtico e carotídeo é de nove a treze anos. Em cães, os paragangliomas estão frequentemente associados com outras neoplasias endócrinas, especialmente tumores testiculares e carcinomas de tireóide concomitante (10). Apesar de ser observado testículo ectópico na necropsia, não havia alterações neoplásicas na avaliação histopatológica.

Os tumores do corpo aórtico e carotídeo em animais não são funcionais (não secretam excesso de hormônio na circulação), mas o tumor age como uma lesão que ocupa espaço, pressionando o átrio e/ou veia cava podendo afetar a função cardíaca (1). O quadro clínico pode ser pobre, principalmente quando o tumor não alcançou tamanho suficiente para afetar estruturas vasculares e/ou nervosas (3), sendo muitas vezes achados acidentais de necropsia.

Diante do exposto, nossos achados são compatíveis com os relatados na literatura, pois a neoplasia encontra-se adjacente à veia cava caudal, possivelmente dificultando o retorno venoso. Além disso, o nódulo também estava presente na aurícula direita, comprometendo a função dessa estrutura. Em humanos, o tumor pode ser funcional, podendo haver a produção de catecolaminas derivadas de aminas biogênicas, como a dopamina, epinefrina e norepinefrina, de modo que variações na pressão sanguínea são uma das características clínicas deste tumor (1,3).

Quanto aos métodos diagnósticos, segundo Brown et al (10), Jones et al. (12), Capen (1), baseado nos fatores histológicos é possível categorizar os tumores em três grupos de acordo com as características como índice mitótico, o padrão de crescimento invasivo, pleomorfismo celular e metástase a distância. Deste modo, quanto ao aspecto microscópico, o presente relato foi conclusivo para paraganglioma grau 2 de malignidade, uma vez que a neoplasia apresentou índice mitótico baixo, células neoplásicas uniformes e, evidência de crescimento localmente invasivo além de metástase distante.

As características imuno-histoquímicas de paraganglioma humano foram descritas por vários autores (10,14,15), onde NSE, sinaptofisina e cromogranina A são detectadas na maioria dos tumores. No que diz respeito ao presente caso, a imunomarcagem para detectar a etiologia tumoral foi somente a NSE, sendo que, a imunoreatividade positiva para NSE e a imunoreatividade negativa para os outros marcadores, foi similar ao descrito por Brown et al (10).

Frente aos achados morfológicos, anatômicos, microscópicos em associação aos dados clínicos, conclui-se que estes são consistentes com paraganglioma. Adicionalmente, a imunoreatividade positiva para NSE, foi determinante para fechar o caso. A baixa incidência do processo, a localização da neoplasia, assim como as características epidemiológicas e clínicas sustentam a importância do presente relato, que visa contribuir adicionando dados à literatura desta neoplasia.

REFERÊNCIAS

1. Capen CC. Tumors of the endocrine glands. In: Meuten DJ. Tumors in domestic animals. 4th ed. Ames: Iowa State University Press; 2002. p.691-5.
2. Deim Z, Szalay F, Glávits R, Bauer A, Cserni G. Carotid body tumor in dog: A case report. *Can Vet J.* 2007;48(8):865-7.
3. Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. Pathology of domestic animals. 5th ed. London: Academic Press; 2007.
4. Noszczyk-Nowak A, Nowak M, Paslawska U, Atamaniuk W, Nicpon J. Case study Cases with manifestation of chemodectoma diagnosed in dogs in Department of Internal Diseases with Horses, Dogs and Cats Clinic, Veterinary Medicine Faculty, University of Environmental and Life Sciences, Wrocław, Poland. *Acta Vet Scand.* 2010;52(35):1-7.
5. Ware WA, Hopper DL. Cardiac Tumors in Dogs: 1982–1995. *J Vet Intern Med.* 1999;13(2):95-103.
6. Sah RL, Acharjyo LN, Mohanty GC. Aortic body tumor in a duck. *Vet Pathol.* 1974;11(2):125-8.
7. Lam KY, Dickens P, Chan AC. Tumours of the heart. A 20-year experience with a review of 12485 consecutive autopsies. *Arch Pathol Lab Med.* 1993;117(10):1027-31.
8. Willis R, Williams AE, Schwartz T, Paterson C, Wotton PR. Aortic body chemodectoma causing pulmonary edema in a cat. *J Small Anim Pract.* 2001;42(1):20-3.
9. Caruso KJ, Cowell RL, Upton ML, Dorsey KE, Meinkoth JH, Campbell GA. Intrathoracic mass in a cat. *Vet Clin Pathol.* 2002;31(4):193-5.
10. Brown PJ, Rema A, Gartner F. Immunohistochemical characteristics of canine aortic and carotid body tumours. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 2003;50(3):140-4.
11. Galvão Jr AR, Sartini AL, Machado MC, Mattioli FM, Ribas MH, Fava AS. Paraganglioma carotídeo bilateral. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2004;70(4):573-6.
12. Jones TC, Hunt RD, King NW. Patologia veterinária. 6a ed. São Paulo: Manole; 2000. p.1005-6.
13. Zimmerman KL, Rossmeisl Jr JH, Thorn CE, Saunders GK. Mediastinal mass in a dog with syncope and abdominal distension. *Vet Clin Pathol.* 2000;29(1):19-21.
14. Kliewer KE, Wen DR, Cancilla PA, Cochran AJ. Paraganglioma: assessment of prognosis by histologic, immunohistochemical, and ultrastructural techniques. *Hum Pathol.* 1989;20(1):29-39.
15. Johnson TL, Zarbo RJ, Lloyd RV, Crissman JD. Paragangliomas of the head and neck: immunohistochemical neuroendocrine and intermediate filament typing. *Mod Pathol.* 1988;1(3):216-23.

Recebido em: 07/01/2014**Aceito em: 22/02/2016**

RELATO DE CASO: DEGENERAÇÃO TESTICULAR EM CÃO PELO USO DE DORAMECTINA

Romildo Romualdo Weiss¹
Melina Andrea Formighieri Bertol²
Ana Claudia Machinski Rangel De Abreu³
Rubia Carolina Sella⁴
Bruna Lampe Zielinski⁴
Bruna Natali Da Costa⁴

RESUMO

A degeneração testicular constitui uma das causas mais comuns e importantes de baixa fertilidade em machos das espécies domésticas, apresentando inúmeras etiologias. Cães com fertilidade normal e que apresentaram alteração nos parâmetros reprodutivos posteriormente são classificados como portadores de infertilidade adquirida, relacionada ao processo degenerativo do parênquima testicular. O presente relato tem como objetivo descrever o efeito negativo da doramectina no sistema reprodutor do cão, uma vez que não há na literatura trabalhos referentes a este assunto.

Palavras-chave: antiparasitário, degeneração testicular, infertilidade.

CASE REPORT: TESTICULAR DEGENERATION IN DOG BY DORAMECTIN

ABSTRACT

The testicular degeneration is one of the most common and important causes of low fertility in males of domestic species, with several etiologies. Dogs with normal fertility and that show changes in reproductive parameters are then classified as acquired infertility patients, related with the degeneration process of the testicular parenchyma. This case report aims to describe the negative effect of doramectin in dog reproductive system, whereas there is no paper in the literature regarding this subject.

Keywords: antiparasitic, testicular degeneration, infertility.

CASO CLÍNICO: DEGENERACIÓN TESTICULAR EN PERRO POR USO DORAMECTINA

RESUMEN

La degeneración testicular es una de las causas más comunes de baja fertilidad significativa en los machos de especies domésticas, con numerosas etiologías. Los perros con fertilidad normal y que muestran cambios en los parámetros reproductivos son clasificados como pacientes con infertilidad adquiridos, relacionados con el proceso de degeneración del parénquima testicular. Este informe tiene como objetivo prestar atención al efecto negativo de la doramectina en el sistema reproductivo del perro, ya que no hay trabajo en la literatura sobre este tema.

¹ Professor Titular do Departamento de Medicina Veterinária Universidade Federal do Paraná

² Doutorando em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. UFPR-Universidade Federal do Paraná. Rua dos Funcionários, Juvevê, 80030-050 - Curitiba, PR – Brasil, Telefone: (41) 33505623 UFPR. Contato principal para correspondência.

³ Med. Veterinária Residente em Clínica, Cirurgia e Reprodução de Ruminantes. Universidade Federal do Paraná

⁴ Graduanda em Medicina Veterinária da Universidade Federal do Paraná

Palabras claves: antiparasitario, degeneración testicular, infertilidad.

INTRODUÇÃO

Os testículos são os órgãos sexuais primários masculinos responsáveis pela espermatogênese e síntese de hormônios sexuais, principalmente a testosterona (1).

A degeneração testicular constitui uma das causas mais comuns e importantes de baixa fertilidade em machos das espécies domésticas (2). Existem múltiplas etiologias, dentre as quais se destacam alterações térmicas, criptorquidismo, edema de bolsa escrotal, dermatite de bolsa escrotal, orquites, deficiência de vitamina A e obstrução epididimária. Além disso, há casos em que essa afecção possui origem idiopática (3). A degeneração testicular varia de discreta a severa; pode ser unilateral, quando determinada por causas locais, ou bilateral, quando determinada por causas sistêmicas, e sua gravidade depende do tipo, severidade e duração da causa. Macroscopicamente, durante o início do processo degenerativo, os testículos apresentam-se com consistência flácida, tamanho normal ou discretamente diminuído. Em fase mais avançada, o órgão torna-se atrofiado com consistência firme a palpação e resistente ao corte (2) e histologicamente é observado cálcio nos túbulos seminíferos com estase espermática, perda das células germinativas, das células de Sertoli e das células de Leydig, e nestes casos, pode ser observado distúrbio total na espermatogênese (4).

Sabe-se que alguns medicamentos de ação sistêmica causam efeitos tóxicos em animais, como, por exemplo, a dexametasona que, quando em uso contínuo, pode levar à interferência na secreção gástrica, retardo na cicatrização, atrofia, fraqueza muscular e imunossupressão (5), além de comprometer a fertilidade no macho (6). Outra droga que merece destaque é a ivermectina, um antiparasitário amplamente utilizado. Não há relatos de alterações histopatológicas que possam ser diretamente relacionadas a danos provocados pela ivermectina, contudo, sugerem-se indícios de lesões hepáticas e renais (7) e até mesmo lesões oculares (8), podendo também atuar negativamente na fisiologia do aparelho reprodutor. A ivermectina pertence à mesma classe da doramectina, as avermectinas que são lactonas macrocíclicas de ação anti-helmíntica e ectoparasiticida (5). Evidenciando a possibilidade de intoxicação de ambas as drogas após uso contínuo e prolongado.

Não há na literatura relação do uso de doramectina resultando em degeneração testicular na espécie canina, desta forma, torna-se importante relatar o efeito negativo desta droga antiparasitária no sistema reprodutor do macho.

RELATO DO CASO

Cão, Pastor Alemão de 2,5 anos de idade foi recebido no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná para colheita e avaliação de sêmen. O animal foi submetido à anamnese e exame físico geral, sem apresentar qualquer alteração ao exame andrológico. Os órgãos sexuais palpáveis: pênis, prepúcio, testículos e epidídimos, não apresentaram alteração no exame físico. Para avaliação do sêmen, o método escolhido foi estimulação manual do pênis na qual o animal apresentou todos os reflexos da cópula normais. Durante a ejaculação, foi possível realizar o fracionamento das três fases do ejaculado em tubos coletores graduados. A segunda fração, rica em espermatozoides foi avaliada macroscopicamente, apresentando volume de 1,2 mL, coloração branca acinzentada e aspecto leitoso. O exame para determinar a motilidade espermática e o vigor foi realizado em microscópio óptico utilizando objetiva de 40x, sendo depositada uma gota de sêmen entre lâmina e lamínula aquecidas a 37°C para avaliação do percentual de células móveis. A concentração foi determinada com câmara de Neubauer na diluição de 1:100. Para a análise morfológica, a lâmina corada com Cerovsky foi analisada com aumento de 100x sob imersão, apresentando

na contagem de 200 células um total de 8% de defeitos morfológicos. Os resultados obtidos foram: motilidade espermática de 80%, vigor 4 e concentração/mL de 150×10^6 espermatozoides, estando de acordo com os parâmetros espermáticos considerados normais para a espécie canina (9).

Após seis meses, o animal retornou ao Hospital Veterinário para nova colheita. Passou novamente por anamnese e exame físico geral, pois estava recebendo tratamento semanal com doramectina (0,6mg/kg SC) há 7 semanas, em decorrência de sarna demodécica. Durante o exame andrológico, à palpação dos testículos, constatou-se consistência flácida e perímetro escrotal de 17,5cm. O ejaculado obtido por meio da estimulação manual apresentou-se diluído com aspecto aquoso, nas três frações. Pela análise microscópica, observou-se um quadro de azoospermia, não sendo possível a avaliação dos demais parâmetros espermáticos pela ausência total de espermatozoides na amostra. Foram feitas quatro colheitas sucessivas no total, com intervalo de uma semana, para confirmar o achado clínico de azoospermia e concluir o diagnóstico, pois o quadro manteve-se durante todo o ciclo espermatogênico (aproximadamente 60 dias). A partir de então, foi estabelecida a relação entre este quadro de degeneração testicular com o uso prolongado da doramectina, uma vez que o animal não apresentou outra enfermidade, nem foi submetido a qualquer outro tratamento exógeno que justificaria o quadro de infertilidade adquirida.

DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Cães com histórico reprodutivo anterior de fertilidade e que apresentam alteração nos parâmetros espermáticos são classificados como portadores de infertilidade adquirida, relacionada ao processo degenerativo do parênquima testicular (10). Podendo ser causado por hipertermia escrotal, infecções, toxinas, fatores hormonais ou alterações metabólicas e uso de medicamentos (11), como foi o caso relatado pelo uso prolongado da doramectina.

Estabelecer o diagnóstico e o prognóstico da degeneração testicular depende da realização de uma anamnese detalhada e exame físico completo do animal, observando-se a possibilidade da existência de doenças sistêmicas, assim como administração de drogas, condições de estresse ou trauma que podem interferir na esfera reprodutiva (1,12). Além da realização do exame andrológico, com avaliação dos aspectos físicos e morfológicos do sêmen em exames consecutivos (4). Neste relato, pela anamnese detalhada, conclui-se que a degeneração testicular foi induzida pelo uso prolongado da doramectina em alta dosagem em decorrência do tratamento semanal da sarna demodécica (0,6mg/kg SC por 8 semanas). Com relação ao uso da doramectina, não foram encontrados na literatura trabalhos que descrevessem alguma alteração na fertilidade. Poucos e divergentes trabalhos relatam as consequências do uso da ivermectina no sistema reprodutor dos animais. Em um trabalho, demonstrou-se haver comprometimento reprodutivo importante nos machos tratados para sarna com a ivermectina (13). No entanto, em outro, não foram observadas alterações quanto à espermatogênese, fertilidade e desempenho reprodutivo em cães (14).

Durante a análise dos órgãos sexuais, posterior ao tratamento, à palpação dos testículos constatou-se consistência flácida, sendo que a consistência macia ou pastosa sugere degeneração testicular, enquanto a endurecida sugere neoplasia ou orquite (12). No início do processo degenerativo, os testículos apresentam tamanho normal (2). O perímetro escrotal mensurado no cão foi de 17,5cm, sendo que o valor normal para cães Pastor Alemão entre 18 meses e 8 anos é de $17,6 \pm 1,6$ cm (15), indicando um quadro agudo de degeneração testicular.

Pelo exame microscópico do ejaculado, observou-se a ausência de células espermáticas em quatro colheitas consecutivas. Pode-se observar azoospermia ou oligozoospermia, além de uma série de alterações morfológicas dos espermatozoides nos casos de degeneração testicular. A queda de libido pode ocorrer quando as células de Leydig são afetadas (2).

Porém, nesse caso, a libido não foi avaliada, pois as colheitas foram feitas por estimulação manual do pênis, sem a presença de fêmea no cio.

Este resultado é relevante em casos de necessidade de tratamento com drogas que possam afetar negativamente a reprodução de cães de alto valor genético, impossibilitando o uso destes animais nas biotecnologias da reprodução, como criopreservação de sêmen e inseminação artificial.

Conclui-se que a administração a longo prazo de drogas antiparasitárias, nesse caso, a doramectina, causou degeneração testicular estabelecendo quadro de infertilidade adquirida em cão.

REFERÊNCIAS

1. Pimpão CT, Rocha RMVM, Schaefer R, Wouk AFPF, Cirio SM, Benato EM, et al. Avaliação dos efeitos toxicológicos da ivermectina em cães. Arch Vet Sci. 2005;3(4):19-24.
2. Nascimento EF, Santos RL. Patologia da reprodução dos animais domésticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997.
3. Wouk AF, Kavinski LC. Caso de cegueira em cão após o uso de ivermectin. In: Anais do 8o Congresso Brasileiro de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais; 1985; Porto Alegre. Porto Alegre: ANCLIVEPA-RS; 1985.
4. Spinosa HS, Górnaiak SL, Bernardi MM. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. 2a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.
5. Wanke MM, Gobello C. Reproduccion en caninos y felinos domésticos. Buenos Aires: Intermedica; 2006.
6. Bueno R, Costa EP, Guimarães JD, Valentim FM. Infertilidade associada a espermiogênese imperfeita no cão – relato de um caso. Rev Bras Reprod Anim. 1999;23(3):460-1.
7. Feldman EC, Nelson RW. Canine and feline endocrinology and reproduction. Philadelphia: WB Saunders; 1987.
8. Paradis M. Ivermectin in small animal dermatology. Part I: pharmacology and toxicology. Comped Contin Educ Pract Vet. 1998;20(2):193-8.
9. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 2a ed. Belo Horizonte: CBRA; 2013.
10. Vancamp SD. Common causes of infertility in the bull. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 1997;13(2):203-32.
11. Horn MM, Moraes JCF, Galina CS. Qualidade do sêmen de touros das raças Aberdeen Angus e Brangus-Ibagé em frente à degeneração testicular experimental induzida por dexametasona. Cienc Rural. 1999;29(3):523-6.
12. Daurio CP, Gilman MR, Pulliam JD, Seward RL. Reproductive evaluation of male Beagles and the safety of ivermectin. Am J Vet Res. 1987;48(2):1755-60.

13. Cunha ICN. Exame andrológico do cão. J Bras Cienc Anim. 2008;1(1):49-65.
14. Cortez AA, Aquino-Cortez A, Silva AR, Cardoso RCS, Silva LDM. Relação entre perímetro escrotal e concentração espermática em cães, clinicamente normais, da raça Pastor Alemão. Arq Bras Med Vet Zootec. 2002;85(5).
15. Nascimento EF. Alterações testiculares e epididimárias em cães [dissertação]. Belo Horizonte: Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais; 1975.

Recebido em: 28/07/2015

Aceito em: 22/02/2016

ESTUDOS PRELIMINARES DOS EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA EM TILÁPIAS DO NILO MACHOS (*Oreochromis niloticus*) (Linnaeus, 1759)

Fernando Henrique Rodrigues Borin¹
Paulo Roberto Rodrigues Ramos²
Helton Carlos Delicio³
Marco Antonio Rodrigues Fernandes⁴
Joel Mesa Hormaza²

RESUMO

Pesquisas com espécies de peixes submetidas à radiação ionizante são ainda raras. No presente trabalho, objetivou-se avaliar a resistência de tilápias submetidas a doses de radiação gama absorvida em corpo inteiro: 0Gy, 5Gy, 10Gy, 20Gy, 39Gy, 77Gy e 154Gy. Para cada intervalo de dose, foram utilizados dois exemplares machos. Os peixes que receberam as doses 5Gy, 10Gy e 20Gy comportaram-se normalmente quanto à alimentação e padrão de deslocamento no aquário; não apresentando comprometimento neurológico e nem óbitos. Os que receberam 39Gy, 77Gy e 154Gy demonstraram inapetência e sinais de desorientação espacial, em média, em 11 dias após radiação. Em quatro dos seis exemplares, observou-se o desenvolvimento de lesões tegumentares na superfície corpórea. Os que receberam 39Gy, desenvolveram lesões tumorais; um dos que receberam 77Gy, desenvolveu lesão tegumentar próximo à nadadeira dorsal. Dos que receberam 154Gy, um peixe desenvolveu lesão tegumentar aparentemente necrótica próximo à cauda. A sobrevivência do grupo que recebeu 39Gy foi em média 12,5 dias, os que receberam 77Gy, 11,5 dias e o grupo de 154Gy, 10 dias.

Palavras-chave: radiação gama, efeito biológico, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1759).

PRELIMINARY STUDIES OF GAMMA RADIATION EFFECTS IN MALE NILE TILAPIA FISHES (*Oreochromis niloticus*) (Linnaeus, 1759)

ABSTRACT

Surveys about the response of fish species subjected to ionizing radiation are still sparse. The present work aimed to evaluate the resistance of tilapia subjected to gamma radiation doses absorbed in the whole body: 0Gy, 5Gy, 10Gy, 20Gy, 39Gy, 77Gy and 154Gy. For each dosing interval, two male specimens were used. Fishes that received doses 5Gy, 10Gy and 20Gy, showed a normal behavior on food intake and in pattern of displacement in the aquarium, showing neither neurological damages nor deaths. Those who received 39Gy, 77Gy and 154Gy, demonstrated lack of appetite and signs of spatial disorientation 11 days after radiation, on average. In four of the six subjects the development of lesions in the soft tissue body surface was observed. Fishes that received 39Gy developed tumors and an animal who received 77Gy developed a cutaneous lesion near the dorsal fin. For those who received 154Gy, a fish developed an apparently necrotic cutaneous lesion near the tail. In the group that received 39Gy, the survival period was an average of 12.5 days, for the fishes which received 77Gy; 11.5 days and in the group of 154Gy, 10 days.

Keywords: gamma radiation, biological effect, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1759).

¹ Bacharel em Física Médica, Estagiário do Departamento de Física e Biofísica IBB, UNESP, Botucatu. Contato principal para correspondência

² Professor Assistente Doutor do Departamento de Física e Biofísica IBB, UNESP, Botucatu.

³ Professor Assistente Doutor do Departamento de Fisiologia, IBB, UNESP, Botucatu.

⁴ Professor Assistente Doutor do Departamento de Dermatologia e Radioterapia, FM, UNESP, Botucatu.

ESTUDIOS PRELIMINARES DE LOS EFECTOS DE LA RADIACIÓN GAMMA EN MACHOS DE TILAPIA DEL NILO (*Oreochromis niloticus*) (Linnaeus, 1759)

RESUMEN

La investigación de especies de peces sometidas a radiación ionizante es aún escasa. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la resistencia de tilapias sometidas a dosis de radiación gamma de cuerpo entero: 0Gy, 5Gy, 10Gy, 20Gy, 39Gy, 77Gy y 154Gy. Para cada intervalo de dosis, se utilizaron dos espécimenes machos. Los peces que recibieron dosis de 5Gy, 10Gy y 20Gy, se comportaron normalmente durante la alimentación, sin alteraciones en el patrón de sus desplazamientos en el acuario y sin mostrar lesiones neurológicas o muertes. Los que recibieron 39Gy, 77Gy y 154Gy demostraron falta de apetito y signos de desorientación espacial, como promedio, 11 días después de la irradiación. En cuatro de los seis sujetos se observó el surgimiento de lesiones en la superficie del cuerpo del tejido blando. Los peces que recibieron 39Gy desarrollaron tumores y en un pez que recibió 77Gy apareció una lesión cutánea en la región de la aleta dorsal. De los que recibieron 154Gy, un pez tuvo lesiones cutáneas, aparentemente necróticas, cerca de la cola. La supervivencia del grupo que recibió 39Gy fue un promedio de 12,5 días, entre los que recibieron 77Gy, 11,5 días y en el grupo de 154Gy, 10 días..

Palabras clave: radiación gamma, efecto biológico, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus,1759).

A literatura é escassa quanto ao estudo de possíveis efeitos radiobiológicos ocasionados no meio ambiente circunvizinho às instalações nucleares. Acidentes de altas magnitudes ocorrem por falha humana ou por evento catastrófico ambiental não previsível. Eles podem ser prevenidos por treinamento humano adequado, controle da qualidade dos equipamentos e monitoramento ambiental constante (1).

Variações bioquímicas afetando a fisiologia de peixes ocorrem como resultado do estresse ambiental (2). Trabalhos empregando peixes de diferentes espécies, relacionando modificações bioquímicas a estresse ambiental podem ser encontrados em: *Piaractus mesopotamicus* (3), *Oreochromis niloticus* (4) e no *Colossoma macropomum* (5). Poucos trabalhos são encontrados na literatura com o emprego de radiações ionizantes como agente estressor em peixes. A combinação de baixas doses de radiação gama com metais pesados, em salmão, provocou alterações nas proteínas; ao empregarem apenas baixas doses de radiação não se observam alterações protéicas (6).

O efeito biológico aparece como uma resposta natural do organismo, ou parte dele, a um agente físico (radiação) provocando um efeito químico (modificação de uma molécula) resultando em um efeito biológico. Numa exposição à radiação X ou gama, pode ocorrer uma redução de leucócitos, hemácias e plaquetas e, após algumas semanas, tudo retornar aos níveis anteriores de contagem destes elementos no sangue (7).

Pesquisas com radioterapia em medicina veterinária mostraram que os protocolos clínicos utilizados em seres humanos, do ponto de vista de doses prescritas e fracionadas, podem ser aplicados integralmente a cães e gatos (8,9). Além disso, os estudos mostraram que as doses limiares para os efeitos agudos da radiação, bem como as suas intensidades, percebidos em pequenos animais, são semelhantes aos verificados nos pacientes humanos (10). No presente trabalho objetivou-se avaliar a resistência de tilápias submetidas a doses progressivas de radiação gama absorvida em corpo inteiro, num período de 30 dias.

Foram utilizados um total de 14 exemplares machos de tilápias do nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1759) com comprimento padrão entre 11cm e 12cm, com peso de 50g a 60g, adquiridos de produtores particulares, mantidos em aquários experimentais com

qualidade da água monitorada e em condições ideais para a espécie. A alimentação era “ad libitum” com ração comercial para peixes tropicais (35% proteína).

Os peixes foram colocados em recipientes individuais numerados, com capacidade de 1,5L de água. Em seguida, foram expostos à radiação gama, por meio de uma unidade telecobaltoterapia, com campo de radiação envolvendo toda a extensão do espaço onde os peixes foram posicionados. Na determinação do tempo de exposição, foram obedecidos os parâmetros radiométricos que garantiram a uniformidade do campo de radiação. Os intervalos escolhidos de dose absorvida foram 0Gy, 5Gy, 10Gy, 20Gy, 39Gy, 77Gy e 154Gy; para cada intervalo de dose irradiaram-se dois exemplares. As doses foram aferidas mediante ao emprego de câmara de ionização calibrada para a energia de radiação do ^{60}Co , seguindo o Protocolo de Dosimetria TRS-398 da Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA).

Para uma melhor distribuição da irradiação, o procedimento foi realizado em duas etapas. Metade da dose foi aplicada do lado direito e outra metade do lado esquerdo, determinando o cálculo da dose no meio da distância latero-lateral do recipiente, e assim garantindo a homogeneidade na distribuição da dose de radiação.

Após serem expostos à radiação gama, os peixes foram mantidos em aquários de vidro individuais (22cm x 22cm x 40cm, 19L) com as condições de manutenção anteriormente descritas. Foi realizado um acompanhamento diário, ininterrupto, no qual era oferecida ração uma vez ao dia no período diurno e observados os comportamentos alimentares e natatórios.

Os peixes que receberam as doses 5Gy, 10Gy e 20Gy, consideradas altas do ponto de vista radiobiológico, comportaram-se normalmente quanto à alimentação. Mantinham um padrão de deslocamento no aquário que não revelava comprometimento neurológico que afetasse sua orientação espacial. Provavelmente, o sistema de reparo pode ter atuado recuperando moléculas lesadas.

Quanto aos que receberam 39Gy, 77Gy e 154Gy, observou-se que, em média de 11 dias após radiação, demonstraram inapetência e sinais de desorientação espacial. Observou-se o desenvolvimento de lesões tegumentares de quatro dos seis exemplares. Os que receberam 39Gy desenvolveram lesões tumorais (Figura 1a e 1b). Dos peixes que receberam 77Gy, um desenvolveu lesão tegumentar próximo à nadadeira dorsal (Figura 2a). Dos que receberam 154Gy, um peixe desenvolveu lesão tegumentar aparentemente necrótica próximo à cauda (Figura 2b). A sobrevivência do grupo que recebeu 39Gy foi em média 12,5 dias, os que receberam 77Gy, 11,5 dias e o grupo de 154Gy, 10 dias. Considerando-se os efeitos radiobiológicos observados em seres humanos, os sistemas envolvidos são o circulatório, particularmente o tecido hematopoiético, o gastrintestinal e o nervoso central. A ocorrência dos sintomas é diretamente proporcional à dose de radiação total absorvida. Tais observações corroboram o que foi observado nos peixes experimentais: inapetência, desorientação espacial e morte. Estes sinais e sintomas clínicos aparecem em vítimas de acidentes radiobiológicos caracterizando a síndrome aguda da radiação. A exposição a radiações ionizantes ou a contaminação por radioisótopos, pode resultar em valores elevados de dose absorvida, envolvendo partes do corpo ou todo o corpo. Estas exposições ocorrem em situações de acidente, como os de Fukushima, Chernobyl e Goiânia. Dessa forma, depreende-se que os peixes irradiados nas condições acima sofreram modificações bioquímicas que levaram à morte. A tilápia mostrou-se um modelo interessante para estudo neste campo. Avaliações histopatológicas, possíveis comprometimentos de órgãos internos e parâmetros metabólicos e bioquímicos enriquecerão as observações aqui efetuadas.

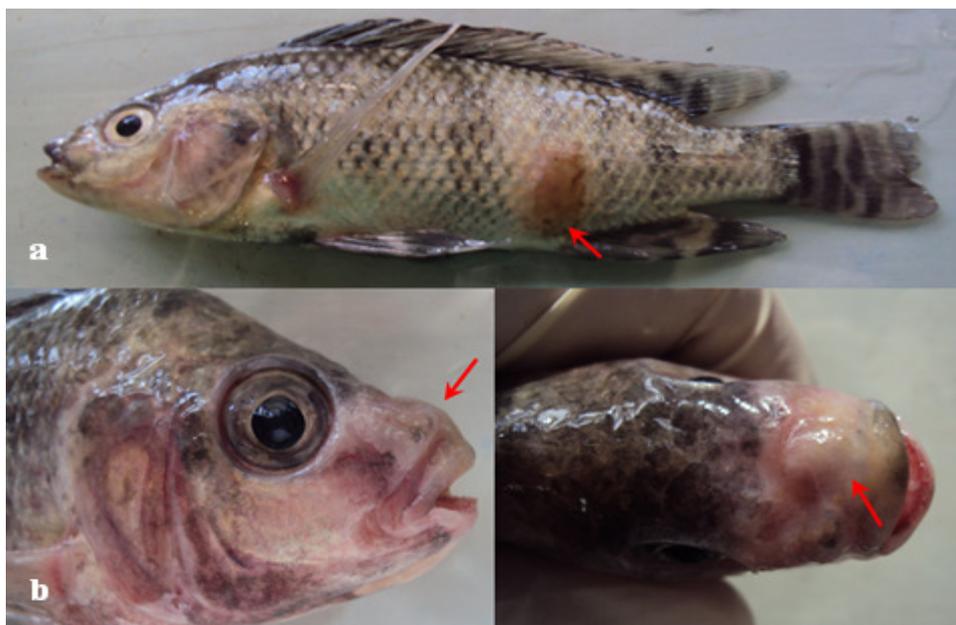


Figura 1. Exemplares machos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) irradiados com 39Gy, com formações tumorais.

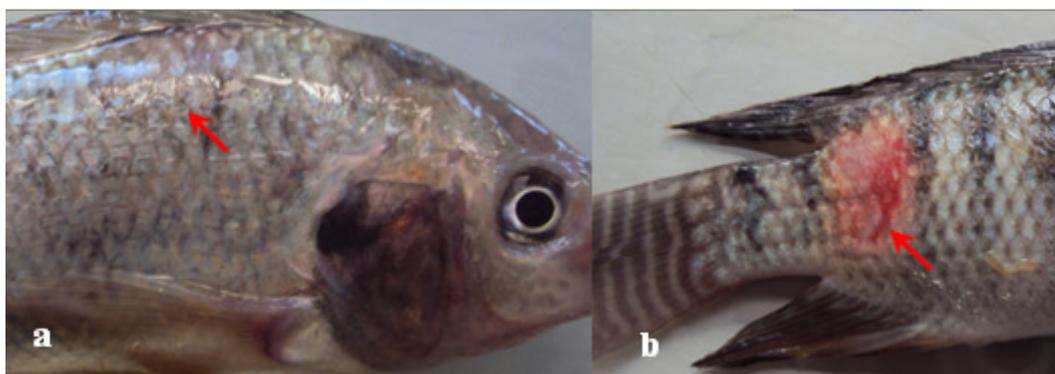


Figura 2. Exemplares machos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) com lesões tegumentares, irradiados com 77Gy (a) e 154Gy (b).

REFERÊNCIAS

1. Xavier AM, Gaidano E, Moro JT, Heilbron PF. Princípios básicos de segurança e proteção radiológica. 3a ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Comissão Nacional de Energia Nuclear; 2010.
2. Yada T, Nakanishi T. Interaction between endocrine and immune system in fish. Int Rev Cytol. 2002;220:35-92.
3. Martins ML. Efeito da suplementação com vitamina C sobre a reação inflamatória em *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 estressados [tese]. Jaboticabal: Centro de Aquicultura; 2000.
4. Barcellos LG, Souza SMG, Lucero LF. Estudos preliminares sobre o cortisol sérico em resposta ao estresse na tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). Bol Inst Pesca. 1997;24:239-245.

5. Gomes LC, Araujo-Lima CARM, Roubach R, Chippari-Gomes AR, Lopes NP, Urbinati EC. Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. *J World Aquac Soc.* 2003;34:76-84.
6. Olsvik PA, Heier LS, Rosseland BO, Teien HC, Salbu B. Effects of combined g-irradiation and metal (Al þ Cd) exposures in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *J Environ Radioact.* 2010;101:230-6.
7. Tauata L, Salati I, Di Prinzio R, Di Prinzio A. Radioproteção e dosimetria: fundamentos. Rio de Janeiro: Comissão Nacional de Energia Nuclear; 2003.
8. Fernandes MAR, Andrade AL, Luvizotto MCR, Pierô JR, Ciarlini LRP. Radioterapia em Medicina Veterinária: princípios e perspectivas. *Rev Bras Fís Méd.* 2010;4:11-4.
9. Fernandes MAR, Ramos JR WC, Oliveira JR B, Andrade AL. Sistema de cálculo para determinação do tempo de exposição em radioterapia veterinária. *Rev Bras Cancerol.* 2011;57:23.
- 10 Fernandes MAR, Andrade AL, Luvizotto MCR. Eficácia da enrofloxacina no controle da infecção urinária de cães com carcinoma de células transicionais. *Hora Vet.* 2006;25:29-33.

Recebido em: 13/05/2013

Aceito em: 22/02/2016

CAPACIDADE DE SUPORTE, PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO DOSSEL FORRAGEIRO DE TRÊS GRAMÍNEAS IRRIGADAS OU NÃO NO PERÍODO SECO¹

Vinícius Silva Oliveira²
Juliana Caroline Santos Santana³
Jucileia Aparecida da Silva Morais⁴
Camila Batista Santos³
Irla Gabriela Souza Lima³

RESUMO

Objetivou-se avaliar a capacidade de suporte, produção e composição morfológica de 3 forrageiras irrigadas ou não durante a seca. O delineamento experimental foi em esquema fatorial 3x2, com 3 forragens (*Panicum maximum* cv Tanzânia, *Cynodon* spp cv Tifton 85 e *Urochloa mosambicensis*), irrigadas ou não. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5%. Observou-se interação significativa ($P < 0,05$) na produção de MS. Na área sem irrigação o Tanzânia apresentou maior produção de MS que o Urocloa, sendo que ambos não diferiram do Tifton 85. Na área irrigada a produção de MS do Tifton 85 foi maior que os demais, sendo que o Tanzânia foi maior que o Urocloa. Na média a produção de MS foi maior na área irrigada. Observou-se interação significativa ($P < 0,05$) na produção de lâmina foliar verde (LFV). Na área não irrigada a LFV do Tanzânia foi maior que a dos demais, sendo que o Tifton 85 e o Urocloa não diferiram entre si. Na área irrigada o Tanzânia teve maior LFV que os demais, sendo o Tifton 85 foi maior que o Urocloa. A produção de LFV foi maior na área irrigada. Observou-se interação significativa ($P < 0,05$) na relação lamina foliar:colmo (RLC). Nas duas áreas o Tanzânia teve maior RLC que os demais, e o Urocloa e Tifton 85 não diferiram entre si. A RLC do Tanzânia foi maior na área sem irrigação, a RLC do Urocloa e Tifton 85 não diferiu entre as áreas. Observou-se interação significativa ($P < 0,05$) na capacidade de suporte (CS). Na área não irrigada a CS do Tifton 85 foi maior que do Urocloa, sendo que ambos não diferiram do Tanzânia. Na área irrigada a CS do Tifton 85 foi maior que a dos demais, sendo que o Tanzânia teve maior CS que o Urocloa. A CS foi maior na área irrigada.

Palavras-chave: MS, Tanzânia, Tifton 85.

SUPPORT CAPACITY, PRODUCTION AND COMPOSITION OF THREE GRASSES SWARD OR NOT IRRIGATED DURING THE DROUGHT

ABSTRACT

This study aimed to assess the carrying capacity, production and morphological composition of 3 or not irrigated forage during drought. The experimental design was a 3x2 factorial arrangement with three forages (*Panicum maximum* cv Tanzania, *Cynodon* spp cv Tifton 85 and *Urochloa mosambicensis*), irrigated or not. Data were subjected to analysis of variance and means were compared by Tukey test at 5%. It was observed a significant interaction ($P < 0.05$) in DM production. In Tanzania the area without irrigation had higher DM yield than

¹ Parte da Dissertação de Mestrado do Primeiro Autor.

² Mestrando do programa de Pós - Graduação em Zootecnia da UFS- Universidade Federal de Sergipe. Bolsista FAPITEC/Capes. Contato principal para correspondência. viny_oliveira@yahoo.com.br

³ Graduanda em Zootecnia da UFS-Universidade Federal de Sergipe.

⁴ Professora Adjunta do Departamento de Zootecnia da UFS-Universidade Federal de Sergipe.

Urocloa, both of which did not differ from Tifton 85. Irrigated area in DM yield of Tifton 85 was higher than the other, and the Tanzania was higher than Urocloa. On average DM yield was higher in the irrigated area. It was observed a significant interaction ($P < 0.05$) in the production of green leaf blade (GLB). In the non-irrigated area of Tanzania GLB was higher than the others, and the Tifton 85 and Urocloa did not differ. Irrigated area in Tanzania had the largest GLB than others, and the Tifton 85 was greater than the Urocloa. The GLB production was higher in the irrigated area. It was observed a significant interaction ($P < 0.05$) in relation lamina leaf: stem ratio (RLS). In two areas the largest RLS Tanzania had that too, and Urocloa and Tifton 85 did not differ. The RLS Tanzania was the largest in the area without irrigation, the RLS Urocloa Tifton 85 and did not differ between areas. We observed a significant interaction ($P < 0.05$) in support capacity (SC). In the non-irrigated SC Tifton 85 was higher than Urocloa, both of which did not differ from Tanzania. Irrigated area in the SC Tifton 85 was higher than the others, and the Tanzania had the highest SC Urocloa. The SC was higher in the irrigated area.

Keywords: DM, Tanzania, Tifton 85.

LA CAPACIDAD DE CARGA, PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE FORRAJES DE TRES GRAMÍNEAS IRRIGADAS O NO DURANTE LA ESTACIÓN SECA

RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo evaluar la capacidad de carga, la producción y la composición morfológica de 3 gramíneas irrigadas o no durante la sequía. El diseño experimental fue un arreglo factorial 3x2 con tres forrajes (*Panicum maximum* cv Tanzania, *Cynodon* spp cv Tifton 85 y *Urochloa mosambicensis*), de regadío o no. Los datos se sometieron a análisis de varianza y las medias se compararon mediante la prueba de Tukey al 5%. Se observó una interacción significativa ($P < 0,05$) en la producción de MS. En Tanzania, el área sin riego presentó mayor rendimiento de MS de Urocloa, los cuales no difieren de Tifton 85. La superficie de regadío en la producción de MS de Tifton 85 fue más alta que la otra, y la Tanzania fue mayor que Urocloa. El rendimiento de materia seca promedio fue mayor en el área de riego. Se observó una interacción significativa ($P < 0,05$) en la producción de lámina de la hoja verde (LHV). En la zona de secano de Tanzania LHV fue mayor que los otros, y la Tifton 85 y Urocloa no difirieron. La superficie de regadío en Tanzania tuvo la LHV más grande que otros, y la Tifton 85 fue mayor que el Urocloa. La producción LHV fue mayor en el área de riego. Se observó una interacción significativa ($P < 0,05$) en hojas de relación lámina de la hoja: tallo (RLT). En dos áreas, la más grande de Tanzania RLT tenía que también, y Urocloa y Tifton 85 no difirieron. El RLT Tanzania fue el más grande de la zona de secano, el RLT Urocloa Tifton 85 y no fue diferente entre las áreas. Se observó una interacción significativa ($P < 0,05$) en la capacidad de soporte (CS). En el secano CS Tifton 85 fue mayor que Urocloa, los cuales no difieren de Tanzania. La superficie de regadío en el CS Tifton 85 fue mayor que los otros, y el Tanzania tuvo el mayor CS Urocloa. El CS fue mayor en el área de riego.

Palabras Clave: MS, Tanzania, Tifton 85.

No Brasil os sistemas de produção de ruminantes estão quase que totalmente ligados à produção a pasto. Estes sistemas trazem como principal entrave a irregularidade na oferta de forragem ao longo do ano, uma vez que no Brasil existem duas épocas distintas, uma chuvosa e outra seca, o que leva a oscilação na produção de pastagem.

O déficit hídrico no período de seca diminui a oferta de forragem, reduzindo a capacidade de suporte das pastagens, além de reduzir a qualidade nutricional, uma vez que a planta que sofre restrição de água aumenta o teor de material lignificado em sua estrutura celular, diminuindo o aproveitamento dos nutrientes, por parte do animal, o que reduz o desempenho dos animais em pastejo. Por essa razão, faz-se necessário o estudo e validação de novos sistemas que diminuam os impactos da estiagem na produção forrageira. Esses novos sistemas têm que aliar plantas mais adaptadas e tecnologia que possibilite o suprimento adequado de água para que a pastagem atinja seu potencial produtivo. Nesse sentido, a irrigação de pastagem surge como alternativa para se tentar diminuir os efeitos da seca na produção e qualidade das forragens.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a capacidade de suporte, produção e composição morfológica de três forrageiras em áreas com e sem irrigação durante a seca.

O experimento foi realizado durante os meses de dezembro de 2012 e janeiro de 2013, na área do Campus Rural pertencente à Universidade Federal de Sergipe - UFS. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso em esquema fatorial 3x2, sendo três espécies forrageiras (*Panicum maximum* cv Tanzânia, *Cynodon spp cv Tifton 85* e *Urochloa mosambicensis*) submetidas ou não a irrigação, com 4 repetições. Na área experimental, cada espécie forrageira foi cultivada em 4 diferentes canteiros de 4 m² (2 x 2 m), com área útil de coleta de 2,0 m².

Foram realizados 2 cortes em cada canteiro em uma área de 0,16 m², com intervalo de 45 dias entre cada corte. As plantas foram cortadas a 20 cm do solo, com auxílio de uma régua graduada. Para iniciar a avaliação da produção de forragem, foi realizada uma adubação de correção e um corte de uniformização nas parcelas experimentais. O sistema de irrigação foi determinado com base na capacidade de retenção de água do solo, para isso, foram retiradas 16 amostras de solo e enviadas para análise no laboratório de solos da Universidade Federal de Sergipe.

As amostras de forragem colhidas foram sub-amostradas e fracionadas em lâminas foliares verdes (LFV), colmo verde (colmo + bainha foliar) e materiais mortos (MM, perfilhos e folhas mortas). Posteriormente, as amostras foram secas em estufa com ventilação de ar forçada a 55 °C e pesadas. A partir da participação dos componentes lâmina foliar, colmo e material morto na massa seca total de cada amostra colhida, foi estimada a biomassa de cada um dos componentes no dossel forrageiro e realizado o cálculo da produção de matéria seca (MS) de cada espécie forrageira, bem como da capacidade de suporte (CS).

Os dados de produção e composição de forragem foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

Observou-se interação significativa ($P < 0,05$) na produção de MS entre as forragens e as áreas submetidas ou não a irrigação (Tab. 1). Na área sem irrigação, o capim Tanzânia apresentou maior produção de MS que o Urochloa, sendo que ambos não diferiram do Tifton 85. Na área irrigada, o Tifton 85 teve maior produção que o Tanzânia e o Urochloa, sendo que o Tanzânia teve maior produção de MS que o Urochloa. Todas as forragens tiveram maior produção de MS na área irrigada.

A maior oferta de forragem do capim Tanzânia na área não irrigada demonstra maior adaptação dessa forrageira à região. Já o Tifton 85 teve maior resposta a irrigação aumentando sua produção em 35,9% na área irrigada. Maior oferta de forragem significa a obtenção de melhores índices produtivos, a produtividade animal que é definida pelo seu desempenho, depende da quantidade e qualidade da forragem consumida (1).

Foi observada interação significativa ($P < 0,05$) na produção de lâmina foliar verde (LFV) entre as espécies forrageiras e as áreas com e sem irrigação (Tabela 1). Na área não irrigada o capim Tanzânia apresentou maior produção de LFV que os demais capins, sendo que o Tifton 85 e o Urochloa não diferiram entre si. Na área irrigada, o Tanzânia teve maior

produção de LFV que o Tifton 85 e o Urocloa, sendo que o Tifton 85 produziu mais LFV que o Urocloa. A produção de LFV foi maior na área irrigada para todas as espécies forrageiras.

O fato de o capim Tanzânia ter maior produção LFV que os demais demonstra que essa forragem, se utilizada em sistema de pastejo, pode proporcionar maior consumo e, conseqüentemente, maior desempenho dos animais. A lâmina foliar verde é o componente morfológico da gramínea com melhor valor nutritivo (2). Animais em pastejo geralmente apresentam dieta contendo alta proporção de lâminas foliares e baixa proporção de colmos e de material morto (4).

Tabela 1. Produção de matéria seca (MS), lâmina foliar (LFV), colmo, matéria morta (MM) e relação lâmina foliar: colmo (RLC), de três espécies forrageiras em áreas com e sem irrigação.

	Irrigação	Forragens			Média	CV%
		Tifton 85	Urocloa	Tanzânia		
MS kg/ha	Sem	4331,0 ^{abB}	1961,4 ^{bB}	4421,1 ^{aB}	3571,2	21,5
	Com	12327,3 ^{aA}	4350,4 ^{cA}	9285,1 ^{bA}	8654,3	
Média		8329,2	3155,9	6853,1		
LFV kg/ha	Sem	1405,8 ^{bB}	524,9 ^{bA}	3303,1 ^{aB}	1744,6	24,9
	Com	3528,8 ^{bA}	1106,2 ^{cA}	5973,8 ^{aA}	3536,3	
Média		2467,3	815,6	4638,5		
Colmo kg/ha	Sem	1636,3 ^{aB}	895,2 ^{aB}	740,9 ^{aB}	2855,6	30,5
	Com	4710,3 ^{aA}	1847,5 ^{bA}	2009,1 ^{bA}	1090,8	
Média		3173,3	1371,4	1375,0		
MM kg/ha	Sem	1288,8 ^{aB}	541,3 ^{abB}	377,1 ^{bB}	735,7	28,0
	Com	4088,3 ^{aA}	1396,7 ^{bA}	1302,0 ^{bA}	2262,3	
Média		2688,5	969,0	839,6		
RLC	Sem	0,8 ^{bA}	0,6 ^{bA}	4,6 ^{aA}	2,0	27,1
	Com	0,7 ^{bA}	0,6 ^{bA}	3,1 ^{aB}	1,5	
		0,8	0,6	3,9		

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferiram estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Humphreys (3) afirmou que a expansão foliar é um processo fisiológico sensível ao déficit hídrico, levando a planta a cessar o alongamento de folhas, por essa razão houve diminuição na produção de LFV na área não irrigada.

Foi verificada interação significativa ($P < 0,05$) na produção de colmo entre as forragens e as áreas irrigadas ou não (Tab. 1). Na área não irrigada, não houve interação na produção de colmo entre as forragens. Na área irrigada, o Tifton 85 teve maior produção de colmo que os capins Tanzânia e Urocloa, sendo que ambos não diferiram entre si. A produção de colmo foi maior na área submetida à irrigação para todas as forragens.

Observou-se interação significativa ($P < 0,05$) na produção de MM entre as espécies forrageiras e as áreas com e sem irrigação (Tab. 1). Na área não irrigada, Tifton 85 teve maior produção de MM que o Tanzânia, sendo que ambos não diferiram do Urocloa. Na área irrigada, a produção de MM do Tifton 85 foi maior que a dos capins Urocloa e Tanzânia, sendo que estes não diferiram entre si. As três forragens tiveram maior produção de MM na área irrigada.

Verificou-se interação significativa ($P < 0,05$) na relação lâmina foliar:colmo (RLC) entre as forragens e as áreas com e sem irrigação (Tab. 1). Tanto na área irrigada como na não irrigada, o capim Tanzânia teve maior RLC que os capins Tifton 85 e Urocloa, sendo que estes não diferiram entre si. O capim Tanzânia teve maior RLC na área sem irrigação, sendo que os capins Urocloa e Tifton 85 a RLC não diferiu entre as áreas.

Observou-se interação significativa ($P < 0,05$) na capacidade de suporte, entre as forragens e as áreas com e sem irrigação (Fig. 1). Na área não irrigada, a CS do Tifton 85 foi maior que a do capim Urocloa, sendo que ambos não diferiram do Tanzânia. Na área irrigada, a CS do capim Tifton 85 foi maior que a dos demais capins, sendo que o Tanzânia teve maior capacidade de suporte que o Urocloa. Todas as forragens tiveram maior CS na área irrigada.

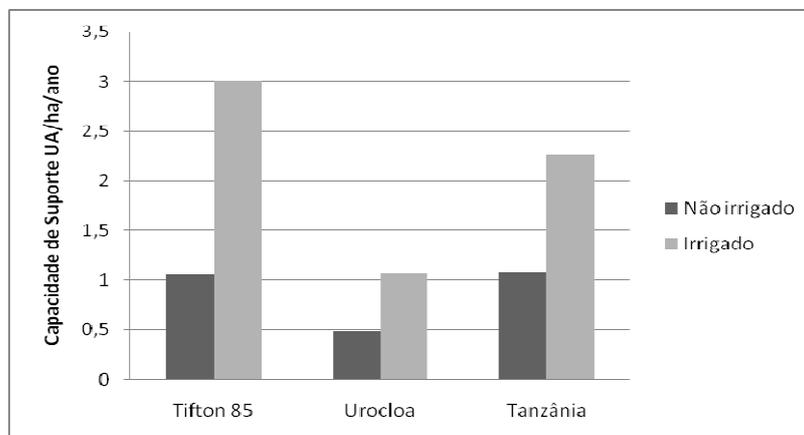


Figura 1. Capacidade de suporte de três espécies forrageiras submetidas ou não a irrigação.

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram o potencial que o Tifton 85 tem para ser utilizado em sistemas de pastejo, por apresentar alta produção e capacidade de suporte tanto em área irrigada como não irrigada e por apresentar uma alta resposta a irrigação.

O capim Tanzânia apresentou alta produção de folhas em seu dossel, o que pode lhe conferir um maior valor nutritivo, pois é na folha que está concentrada a maior parte dos nutrientes da forragem.

A irrigação de pastagens demonstra grande potencial para ser utilizado na região dos tabuleiros costeiros de Sergipe por gerar aumento na produção de matéria seca, bem como na capacidade de suporte e proporção de folhas no dossel forrageiro.

REFERÊNCIAS

1. Ribeiro EG, Fontes CAA, Palieraqui JGB, Martins CE, Coser AC, Sant'ana NF. Influência da irrigação durante as épocas se e chuvosa na taxa de lotação, no consumo e no desempenho de novilhos em pastagens de capim-elefante e capim-mombaça. *Rev Bras Zootec.* 2008;37(9):1546-54.
2. Santos MER, Fonseca DM, Euclides VPB, Ribeiro JJI, Balbino EM, Casagrande DR. Valor nutritivo da forragem e de seus componentes morfológicos em pastagens de *Brachiaria decumbens* diferida. *Bol Ind Anim.* 2008;65(4):303-11.
3. Humphreys LR. *Tropical pastures utilization.* Cambridge: Cambridge University Press; 1991.
4. Hodgson J. *Grazing management: science into practice.* New York: J. Wiley: Longman Scientific and Technical; 1990.

Recebido em: 10/09/2013

Aceito em: 22/02/2016

APLICAÇÃO E CONTRIBUIÇÃO DA CROMOENDOSCOPIA COM LUGOL, ÍNDIGO CARMIM E AZUL DE METILENO NO TRATO DIGESTÓRIO SUPERIOR DE CÃES

Emerson Legatti¹
Sabrina de Almeida Moreira²
Carolina Quarterone³
Luiz Carlos Vulcano⁴
Sheila Canavese Rahal⁵
Luiz Eduardo Naresse⁶

RESUMO

A Cromoendoscopia é definida como a aplicação tópica de corantes aquosos na mucosa do trato gastrointestinal. Estes corantes têm a função de evidenciar alterações precoces ou discretas que passariam despercebidas ao exame convencional, permitindo, assim, a coleta de tecido alterado ou o acompanhamento de doenças pré-existentes. Na Medicina Veterinária, não foram encontrados trabalhos que tenham utilizado esta técnica, mas há muitas situações em que ela pode ser empregada, como na pesquisa ou no acompanhamento de: esofagites (como esôfago de Barrett em humanos), lesões gástricas erosivas ou polipoides e lesões duodenais. Neste trabalho, dez cães adultos foram submetidos à endoscopia digestiva alta (EDA) seguida de cromoendoscopia (CRE) e biópsia de esôfago, estômago (fundo, corpo e antro pilórico) e duodeno quando acessível. As biópsias foram enviadas para exame histopatológico com o objetivo de identificar a presença ou ausência de lesão no material coletado. O objetivo deste trabalho foi demonstrar a aplicação da técnica de cromoendoscopia em cães, avaliar sua eficácia quanto à identificação e delimitação de lesões no trato digestório superior destes animais e correlacionar os achados endoscópicos pré e pós-aplicação da técnica com os resultados histopatológicos. A correlação da endoscopia convencional (E.C.) e da CRE com o exame histopatológico (padrão ouro) foi avaliada pelo teste de Kappa e os resultados demonstraram concordância importante na CRE de esôfago com acurácia de 83,33%. Concordância moderada foi observada na E.C. de esôfago e na CRE de fundo, corpo e antro piloro com acurácia de 83,33%, 70%, 70% e 70%, respectivamente. Concordância razoável foi demonstrada na CRE de estômago com acurácia de 70%. Concordância ruim foi encontrada na E.C. de antro pilórico e na E.C. e CRE de duodeno com acurácia de 50%, 40% e 40% respectivamente. Não houve concordância entre os testes na E.C. de fundo, corpo e estômago com acurácia de 40%, 40% e 43,33% respectivamente. A realização da CRE apresenta um grau de dificuldade moderado, mas esta técnica é eficaz no direcionamento de biópsias de esôfago e estômago.

Palavras-chave: cromoendoscopia, cães, lugol, índigo carmin, azul de metileno.

¹ Mestrado em Medicina Veterinária, Endoscopia Veterinária FMVZ-UNESP-Botucatu. Contato principal para correspondência.

² Doutorado em Medicina Veterinária, Enfermidades Infecciosas dos Animais, FMVZ-UNESP-Botucatu

³ Mestrado em Anestesiologia, FMVZ-UNESP-Botucatu.

⁴ Professor Titular do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ-UNESP-Botucatu

⁵ Professora Titular Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, FMVZ-UNESP-Botucatu

⁶ Professor Livre Docente do Departamento de Cirurgia da FMB-UNESP-Botucatu

USE AND CONTRIBUTION OF CHROMOENDOSCOPY WITH LUGOL, INDIGO CARMINE AND METHYLENE BLUE IN THE UPPER DIGESTIVE TRACT OF DOGS

ABSTRACT

Chromoendoscopy is defined as the topical application of aqueous dye in the gastrointestinal tract mucosa. These dyes have the function of showing early or discrete changes which may go unnoticed in conventional examination. Therefore, this procedure enables altered tissue collection or monitoring of pre-existing diseases. In Veterinary Medicine, there were no studies that have used this technique, but there are many conditions in which it can be employed as research or monitoring of esophagitis (such as humans Barrett's esophagus), erosive or polypoid gastric lesions and duodenal injuries. In the present study, ten adult dogs underwent endoscopy (EGD), followed by chromoendoscopy (CRE) and biopsy of esophagus, stomach (fundus, body and pyloric antrum) and duodenum, when available. Biopsies were sent for histopathology for identification of presence or absence of lesions in the collected samples. The aim of this study was to describe the technique of chromoendoscopy in dogs, evaluate its effectiveness on the identification and delineation of lesions in the upper digestive tract of dogs and correlate endoscopic findings before and after application of the technique with histopathologic results. The correlation between EGD and CRE by histopathology (gold standard) was evaluated using the Kappa test. The results showed significant agreement in CRE of esophagus with accuracy of 83.33%. Moderate agreement in conventional endoscopy (CE) of esophagus and CRE of fundus, body and pyloric antrum were demonstrated with an accuracy of 83.33%, 70%, 70% and 70% respectively. Fair agreement was found in CRE of stomach, with an accuracy of 70%. There was poor agreement in EGD of pyloric antrum and EGD and CRE of duodenum, with an accuracy of 50%, 40% and 40% respectively. There was no correlation between the tests in the EGD of gastric fundus, gastric body and stomach, with an accuracy of 40%, 40% and 43.33% respectively. CRE is slightly difficult to perform but is effective to guide biopsies of esophagus and stomach.

Keywords: chromoendoscopy, dogs, lugol, indigo carmine, methylene blue.

APLICACIÓN Y CONTRIBUCIÓN DE LA CROMOENDOSCOPIA CON LUGOL, ÍNDIGO CARMÍN Y AZUL DE METILENO EN EL TRACTO DIGESTIVO SUPERIOR DE LOS PERROS

RESUMEN

La cromoendoscopia se define como la aplicación tópica de colorante acuoso en la mucosa del tracto gastrointestinal. Estos colorantes tienen la función de mostrar cambios tempranos o discretos que pasan sin ser notados para el examen convencional, lo que permite la colecta de tejidos alterados o seguimiento de las enfermedades pre existentes. En medicina veterinaria, no fueron encontrados estudios que han utilizado esta técnica, pero hay muchas situaciones en las que puede ser empleado como la investigación o monitoreo: esofagitis (tales como esófago de Barrett en los seres humanos), lesiones erosivas gástricas o polipoidis y lesiones duodenales. Este trabajo se realizó en diez animales adultos, endoscopia (EGD) seguido por cromoendoscopia (CRE) y la recolección de biopsia del esófago, estómago (fondo, el cuerpo y antro pilórico) y el duodeno cuando esté disponible. Las biopsias fueron enviadas para histopatología e identificación de la presencia o ausencia de daños en el material recogido. El objetivo de este estudio fue demostrar la técnica de la cromoendoscopia en perros, evaluar su

eficacia en la identificación y la delimitación de las lesiones en el tracto digestivo superior de estos animales y correlacionar los hallazgos endoscópicos antes y después de la aplicación de la técnica a los resultados histopatológicos. La correlación entre la EGD y la CRE por histopatología (patrón oro) se evaluó mediante la prueba de Kappa. Los resultados mostraron un acuerdo significativo en la CRE esófago con una precisión de 83,33%. Acuerdo Moderado en la endoscopia convencional EGD del esófago con una precisión de 83,33% y CRE del fundus, el cuerpo y el antro pilórico con una precisión de 70%. Acuerdo razonable en CRE estómago con una precisión de 70%. Concordancia moderada en EGD de antro y EGD y CRE de duodeno con una precisión de 50%, 40% y 40% respectivamente. No hubo correlación entre los ensayos en el EGD de fondo, el cuerpo y el estómago con una precisión de 40%, 40% y 43,33%, respectivamente. La CRE tiene un grado de dificultad moderado en su aplicación y es eficaz en la dirección de cosecha de las biopsias del esófago y el estómago.

Palabras clave: cromoendoscopia, perros, lugol, índigo carmín, azul de metileno.

INTRODUÇÃO

A endoscopia é um método diagnóstico especializado minimamente invasivo com possibilidades diagnósticas e terapêuticas (1). É uma excelente ferramenta para a confirmação de alterações no trato digestório superior de cães (2) e que, a cada dia, ganha maior destaque na medicina veterinária.

A endoscopia digestiva alta (EDA) é frequentemente utilizada, nos cães para avaliar problemas clínicos como regurgitação, vômito crônico e corpos estranhos (2). Ela também pode ser utilizada para pesquisa de diversas outras enfermidades que expressam sinais gastrintestinais inespecíficos, mesmo quando a causa primária localiza-se no trato gastrintestinal, sendo o vômito o principal sinal. (3-6).

Lesões discretas, ou mesmo imperceptíveis, que ocorrem no trato gastrintestinal, provocadas, por exemplo, pela esofagite de refluxo, podem ser identificadas precocemente na medicina humana por cromoendoscopia (CRE) e este uso pode se estender para medicina veterinária.

A CRE é uma técnica que complementa o exame de EDA ou baixa (colonoscopia) e consiste na aplicação tópica de corantes aquosos nas superfícies mucosas do trato gastrintestinal. Estes corantes colocam em evidência alterações precoces e/ou discretas que passariam despercebidas ao exame “convencional” (sem aplicação de corantes). Regiões interpretadas como positivas após aplicação dos corantes e não coletadas para análise podem esconder alguma doença ou nos levar a um diagnóstico impreciso (1).

Vários corantes podem ser utilizados e cada um tem uma ação específica sobre as células do trato gastrintestinal. A escolha do corante é realizada de acordo com a região que será avaliada, associada à suspeita clínica do paciente. Em resumo, o corante escolhido é aquele que poderá nos dar mais informações sobre as células que serão examinadas (7).

Os corantes são classificados como corantes de absorção, de contraste e de reação. Após observação minuciosa do órgão que está sendo examinado, a solução corante escolhida é aplicada diretamente sobre a mucosa sob observação endoscópica com uso de cateter tipo spray. Desta forma, as informações obtidas variam de acordo com o corante, o órgão examinado e com a lesão procurada (1).

Neste contexto, a coloração da mucosa do trato gastrintestinal pode trazer esclarecimentos de três ordens: a) acentuar a visão do relevo da mucosa estudada, b) informar sobre a estrutura histológica ou histoquímica do epitélio de revestimento e de soluções de continuidade que o interromperam e c) fornecer indicações sobre as funções secretoras ou absorptivas do epitélio. Sendo assim, a CRE fornece informações diagnósticas adicionais a respeito da morfologia e fisiopatologia da superfície epitelial do órgão examinado (1)

Ainda não há relatos de utilização da cromoendoscopia em medicina veterinária e somente um proprietário muito cuidadoso, em contato próximo com seu animal, perceberia uma mudança discreta de apetite ou um simples desconforto gastrointestinal, o que já seria suficiente para o início de uma investigação.

O objetivo deste trabalho foi demonstrar a aplicação da técnica de cromoendoscopia em cães, utilizando lugol, índigo carmin e azul de metileno e avaliar sua eficácia quanto à identificação e delimitação de lesões no trato digestório superior destes animais correlacionando os achados endoscópicos pré e pós-aplicação da técnica com os resultados histopatológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Dez cães adultos (seis fêmeas e quatro machos) foram submetidos à EDA seguida de CRE e biopsia de esôfago, estômago e duodeno, quando acessível. Previamente, foi realizada avaliação física, hemograma completo e tempo de coagulação de todos os animais do estudo.

A EDA, a CRE e as biopsias foram realizadas utilizando videogastoscópio PENTAX⁷, processadora de imagem PENTAX⁸, monitor SONY⁹, cateter tipo spray OLYMPUS¹⁰ e pinça de biopsia OLYMPUS¹¹. As imagens e vídeos foram capturados do monitor diretamente para computador pessoal por meio de placa de captura de vídeo EASYCAP.

Os animais foram submetidos a jejum sólido de 12 horas e hídrico de duas horas. O protocolo anestésico utilizado foi: morfina 0,3 mg/ Kg por via im associada, no caso de animais muito agitados, a acepromazina 0,02 - 0,05 mg/ Kg por via im como fármacos pré anestésicos. Acesso venoso periférico, seguido de fluidoterapia de manutenção com 10ml/kg/h de Solução de Ringer Simples; meloxicam 0,2 mg/ kg por via iv como anti-inflamatório. Indução anestésica realizada com propofol 5 – 10 mg/ kg por via iv seguida de intubação orotraqueal e manutenção do plano anestésico com Isoflurano acrescido de oxigenioterapia a 100%. Antes do início da EDA, como medida de proteção contra danos ao equipamento endoscópico, colocou-se um protetor de boca na cavidade oral do animal já anestesiado.

O exame endoscópico do trato digestório superior seguiu o posicionamento e a rotina de inspeção segundo técnica descrita por Guilford (2) e Tams (8). De acordo com a técnica, o animal foi posicionado em decúbito lateral esquerdo para facilitar o exame do piloro, já que este posicionamento traz o piloro para o topo do abdome, o que auxilia o escoamento de líquido para o fundo gástrico. Outra vantagem desta posição é retirar, de cima do piloro, o peso do corpo e do antro gástricos, facilitando assim a passagem para o duodeno.

Neste estudo, para a escolha dos corantes, não foi levado em consideração a suspeita clínica do animal, quando esta existia, já que o objetivo principal do trabalho era demonstrar a aplicação da técnica de CRE e a eficácia dos corantes previamente escolhidos. Sendo assim, os corantes escolhidos e instilados na mucosa do trato gastrointestinal dos animais por meio de cateter tipo spray (Figura 1) foram: lugol à concentração de 2%, índigo carmin a 0,1% e azul de metileno a 0,5%.

No Quadro 1, estão destacados em vermelho, os corantes utilizados neste trabalho.

⁷ Modelo EG2540 – Tubo de inserção 8,4mm; canal de biópsia 2,4mm e comprimento 1.05m.

⁸ Modelo EPM3500

⁹ Modelo NO.LMD-1410 LCD Monitor

¹⁰ Modelo PW-6P-1

¹¹ Modelo FB 231K e FB 241K

Quadro 1. Corantes utilizados em cromoendoscopia

	Corantes	Estruturas coradas	Coloração positiva
Absorção	Iugol	Células com conteúdo glicogênico	Marrom-escuro
	azul de metileno	Células intestinais ou metaplasia intestinal	Azul
	azul de toluidina	Núcleo de células colunares, gástricas e intestinais	Azul
	Violeta de genciana	Metaplasia intestinal e neoplasia	Violeta
Contraste	Índigo-carmim	Fovéolas, criptas e pregas	Azul-violeta
Reação	Vermelho congo	Células gástricas produtoras de ácido	Vermelho para azul escuro ou preto
	Vermelho fenol	Células infectadas por <i>H. pylori</i>	Amarelo para vermelho

Fonte: adaptado de Fagundes (1).

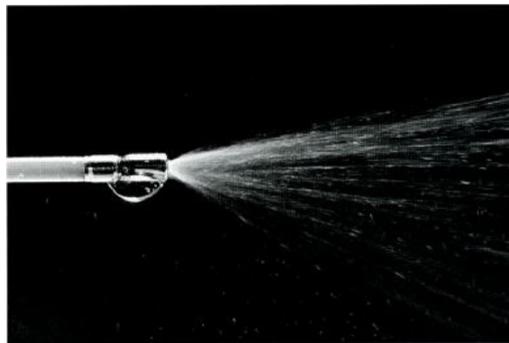


Figura 1. Cateter tipo *Spray*, Sorbi e Gostout (9).

O Iugol foi o corante de escolha para aplicação na mucosa esofágica, devido a sua interação com o conteúdo glicogênico das células do epitélio estratificado não queratinizado presentes neste órgão (7). Uma particularidade histológica esofágica nos cães é que o epitélio estratificado pavimentoso é queratinizado e possui aberturas dos canais das glândulas esofágicas, com cerca de 1 mm (10).

Após instilação de água na luz esofágica para retirada de muco e secreções, sem a necessidade do uso de mucolíticos, instilou-se de 10 a 50 ml (média de 20 ml) da solução de Iugol a 2% por meio de cateter *spray*. A instilação do corante iniciou-se próximo a junção esofagogástrica com progressão retrógrada até o esôfago proximal. Dois minutos após sua aplicação, a mucosa foi lavada com água para retirada do excesso e então avaliada para identificação de áreas iodo-claras ou iodo-negativas que foram biopsiadas (7,11).

O índigo carmim, corante de escolha para aplicação na mucosa gástrica, não penetra no meio intracelular e permite destacar os contornos e melhor salientar a topografia da mucosa. Por não ser absorvido e ser rapidamente eliminado, é praticamente inócuo (7). Utilizando a forma direta de aplicação do corante, sem a necessidade prévia do uso de mucolíticos, instilaram-se 20 a 30 ml do corante a 0,2% em toda mucosa gástrica. Por meio de cateter *spray*, iniciou-se a instilação na região do antro-pilórico com progressão retrógrada para o corpo e, finalmente, na região fúndica. As áreas destacadas em azul-violeta foram biopsiadas (1,7).

Por último, o azul de metileno, corante utilizado na mucosa duodenal quando acessível ao exame endoscópico, é absorvido e acumulado no citoplasma das células da mucosa do intestino delgado e do cólon. Utilizado, também, para realçar o epitélio de Barrett (metaplasia

intestinal especializada) uma vez que não é absorvido pelas células escamosas do esôfago nem pela mucosa gástrica (7).

Após prévia instilação de água para retirada do excesso de muco, instilaram-se 20 ml do corante na concentração de 0,5% por meio de cateter *spray*. A instilação iniciou-se na porção duodenal distal com progressão retrógrada até a primeira porção duodenal. Em seguida, realizou-se lavagem da mucosa com água (média de 50 ml) até o padrão da coloração ficar estável. Finalmente, a mucosa foi avaliada para identificação de áreas coradas em azul, sendo que as áreas não coradas foram alvo das biópsias (1,7).

Foram colhidas duas amostras de biópsia de cada uma das seguintes regiões: porção distal do esôfago; antro pilórico, corpo e fundo gástricos e duodeno, quando acessível (Tabela 1). Animais que não possuíam lesões visíveis ao exame convencional e nem após aplicação da técnica de CRE tiveram biópsias coletadas aleatoriamente das mesmas regiões citadas acima. Animais que possuíam lesões visíveis ao exame convencional ou à cromoscopia tiveram estas lesões colhidas seguindo o critério das regiões citadas anteriormente.

Tabela 1. Número de amostras colhidas de cada animal de acordo com o órgão avaliado.

Animal	Esôfago		Estômago		Duodeno*	Total
	----	Fundo	Corpo	Antro pilórico	----	
1	2	2	2	2	0	8
2	2	2	2	2	0	8
3	2	2	2	2	2	10
4	2	2	2	2	2	10
5	2	2	2	2	0	8
6	2	2	2	2	2	10
7	2	2	2	2	0	8
8	2	2	2	2	2	10
9	2	2	2	2	2	10
10	2	2	2	2	0	8
Total	20	20	20	20	10	90

* - A avaliação duodenal e consequente biópsia não foram realizadas em cinco animais devido à impossibilidade de transposição do piloro.

As amostras foram colocadas sobre um retângulo de papel filtro e depois em recipiente contendo solução de formalina neutra tamponada a 10%. O frasco foi identificado com o nome do animal, data e região coletada (12). As amostras permaneceram em formalina entre 24 e 48 horas no máximo, para fixação e, em seguida, foram encaminhadas ao Serviço de Patologia onde se realizou procedimento padrão para inclusão das amostras em parafina. Após esse procedimento, os cortes realizados foram de quatro a cinco micrômetros, as lâminas foram coradas com Hematoxilina e Eosina e examinadas sob microscopia de luz por um patologista veterinário. A correlação entre amostras colhidas e avaliadas é apresentada na Tabela 2.

Nas análises estatísticas realizadas, a endoscopia convencional (E.C.) e a cromoscopia (CRE) foram comparadas ao exame histopatológico definido como padrão ouro de diagnóstico.

A concordância, a reprodutibilidade e o grau de significância entre os exames foram avaliados pelo teste de Kappa ($p < 0,05$). O valor de Kappa varia de 0 a 1 onde, quanto mais próximo o resultado for da unidade, maior será a concordância entre os testes. Para interpretação da concordância e da reprodutibilidade utilizaram-se os valores indicados por Landis e Koch (13) e Rosner (14).

Tabela 2. Correlação entre amostras colhidas de cada órgão e amostras avaliadas pela histopatologia.

Órgão/ região	Colhidas	Histopatologia	
	n	n	%
Esôfago	20	12 ⁽²⁾	60
Estômago	-	-	-
Fundo	20	20	100
Corpo	20	20	100
Antro pilórico	20	20	100
Duodeno	10 ⁽¹⁾	10 ⁽¹⁾	100
Total	90	82	82,22

⁽¹⁾ – Avaliação e colheita de biopsia duodenal realizada em apenas cinco animais.

⁽²⁾ – Ausência de material nas amostras coletada de 4 animais.

Utilizou-se, também, o teste de Qui quadrado (X^2) com $p < 0,05$ para estimar a associação entre os sinais endoscópicos e os resultados histopatológicos. A acurácia dos testes demonstra o quanto o teste se aproximou do diagnóstico real, variando de 0 a 100%.

RESULTADOS

Esôfago

Para a E.C. o teste de Kappa apresentou-se significativo ($p=0,0142$), com concordância moderada e boa reprodutibilidade. Na CRE o teste de Kappa apresentou-se significativo ($p=0,0072$), com concordância importante e boa reprodutibilidade.

Tanto para a E.C. quanto para a CRE, o teste X^2 apresentou resultado não significativo com $p = 0,3458$ e $0,4076$ respectivamente. Sendo assim, as proporções observadas nas duas técnicas concordam com as proporções esperadas pelo exame histopatológico.

A acurácia dos dois testes foi elevada (83,33%), o que demonstra a alta capacidade dos testes em acertar o diagnóstico, com a utilização do lugol nos animais avaliados.

A CRE apresentou maior sensibilidade, enquanto a E.C. demonstrou-se mais específica. O valor preditivo negativo (VPN) das duas técnicas foi elevado, mas foi maior na CRE. Este resultado indica a elevada probabilidade da E.C. e da CRE em reconhecer os indivíduos com exames negativos e que realmente não possuam lesão.

Fundo gástrico

Para a E.C., o teste de Kappa apresentou-se não significativo ($p=0,2280$), não havendo concordância entre os testes e fraca reprodutibilidade. Para a CRE o teste de Kappa apresentou-se significativo ($p=0,0084$), com concordância moderada e boa reprodutibilidade.

Tanto para a E.C. quanto para a CRE, o teste X^2 apresentou resultado não significativo com $p = 0,2059$ e $0,0565$ respectivamente. Sendo assim, as proporções observadas nas duas técnicas concordam com as proporções esperadas pelo exame histopatológico.

A acurácia da CRE foi elevada em comparação à E.C., demonstrando a alta capacidade do exame em acertar o diagnóstico com a utilização do índigo carmim nos animais avaliados. A especificidade elevada indica a capacidade do exame em reconhecer os animais saudáveis e o VPP alto revela a capacidade de identificar indivíduos com testes positivos que realmente possuam lesão. Nessa região gástrica, a CRE foi superior a E.C. em todas as variáveis analisadas.

Corpo gástrico

Para a E.C., o teste de Kappa apresentou-se não significativo ($p=0,3240$), não havendo concordância entre os testes e fraca reprodutibilidade. O teste Kappa para a CRE apresentou-se significativo ($p=0,0339$), com concordância moderada e reprodutibilidade fraca.

Na E.C., o teste X^2 apresentou resultado significativo com $p = 0,0239$, demonstrando que as proporções observadas na E.C. não concordam com as proporções esperadas no exame histopatológico.

Já na CRE, o teste X^2 apresentou resultado não significativo com $p = 0,5250$, demonstrando que as proporções observadas na CRE concordam com as proporções esperadas no exame histopatológico.

A acurácia da CRE foi elevada em comparação à E.C., demonstrando a capacidade do exame em acertar o diagnóstico com a utilização do índigo carmim nos animais avaliados. A especificidade elevada nas duas técnicas indica a capacidade dos exames em reconhecer os animais saudáveis. O VPP alto da CRE revela a capacidade do exame em identificar indivíduos com testes positivos que realmente possuam lesão. Nesta região gástrica, a CRE também foi superior a E.C. em todas as variáveis analisadas.

Antro pilórico

Para a E.C., o teste de Kappa apresentou-se não significativo ($p=0,5000$), com uma concordância ruim entre os testes e fraca reprodutibilidade. O teste Kappa para a CRE apresentou-se significativo ($p=0,0127$), com concordância moderada e reprodutibilidade fraca.

Tanto para a E.C. quanto para a CRE, o teste X^2 apresentou resultado não significativo com $p = 0,0974$ para as duas técnicas. Sendo assim, as proporções observadas nas duas técnicas concordam com as proporções esperadas pelo exame histopatológico.

A acurácia da CRE foi elevada em comparação à E.C., demonstrando a capacidade do exame em acertar o diagnóstico com a utilização do índigo carmim nos animais avaliados. A sensibilidade, que é a capacidade do teste em reconhecer os animais com lesão, foi elevada nas duas técnicas, sendo maior na CRE. O VPN alto da CRE revela a capacidade do exame em identificar indivíduos com testes negativos que realmente não possuam lesão. Os resultados mostraram também uma porcentagem elevada de falsos positivos para E.C., que podem ter relação com o corante escolhido, com as dificuldades encontradas durante o exame ou à própria técnica utilizada. Nesta região gástrica, a CRE foi mais uma vez superior à E.C. em todas as variáveis analisadas.

Duodeno

Todas as variáveis avaliadas neste órgão obtiveram o mesmo resultado. Tanto para técnica de E.C., quanto para a CRE o teste de Kappa apresentou-se não significativo ($p=0,2146$), com uma concordância ruim e fraca reprodutibilidade. Já o teste X^2 , apresentou resultado significativo com $p = 0,0253$ demonstrando que as proporções observadas nas duas técnicas não concordam com as proporções esperadas no exame histopatológico.

A acurácia das técnicas foi baixa (40%), demonstrando a baixa capacidade dos testes em acertar o diagnóstico com a utilização do azul de metileno nos animais avaliados. Os testes foram muito específicos, mas pouco sensíveis. Os resultados mostraram também uma porcentagem elevada de falsos negativos e de VPP (100%), o que concorda com os falsos positivos (0%). O VPP indica a elevada probabilidade da E.C. e da CRE em reconhecer os indivíduos com exames positivos e eles realmente possuem lesão.

Os dados estatísticos referentes às regiões avaliadas podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3. Acurácia, Kappa e Qui quadrado da E.C. e da CRE em relação ao exame histopatológico para cada região avaliada.

TESTES	ESÔFAGO		FUNDO		CORPO		ANTRO		DUODENO	
	E.C.	CRE	E.C.	CRE	E.C.	CRE	E.C.	CRE	E.C.	CRE
Sensibilidade	50%	50%	33,33%	50%	16,67%	67,67%	80%	100%	25%	25%
Especificidade	100%	100%	50%	100%	75%	75%	20%	40%	100%	100%
Falso positivo	0%	0%	50%	0%	25%	25%	80%	60%	0%	0%
Falso negativo	50%	50%	66,67%	50%	83,33%	33,33%	20%	0%	75%	75%
VPP	100%	100%	50%	100%	50%	80%	50%	62,50%	100%	100%
VPN	80%	80%	33,33%	57,14%	37,50%	60%	50%	10%%	25%	25%
Acurácia	83,33%	83,33%	40%	70%	40%	70%	50%	70%	40%	40%
Kappa	0,5714	0,5714	-0,1538	0,4444	-0,0714	0,4	0	0,4	0,1176	0,1176
p (Kappa)	0,0142	0,0142	0,2280	0,0084	0,3240	0,0339	0,5	0,0127	0,2146	0,2146
X²	0,89	0,89	1,6	3,64	6,67	0,4	3,96	3,96	7,2	7,2
p (X²)	0,6374	0,6374	0,4328	0,1120	0,0239	0,7506	0,0974	0,0974	0,0253	0,0253

DISCUSSÃO

A técnica de cromoendoscopia (CRE) demonstrou-se de fácil aplicação como relatado por Fagundes (1), mas necessita de habilidade, ao menos mediana, no manejo do equipamento endoscópico para que seja realizada com eficiência.

Ao final do primeiro procedimento realizado neste trabalho, observaram-se episódios de tosse após a extubação e recuperação anestésica do animal. Estes episódios cessaram após uma hora do término do procedimento e foram associados ao refluxo esofágico de Lugol e irritação da faringe e laringe pelo mesmo. Nos procedimentos seguintes, o posicionamento inicial do animal para o exame foi modificado e evitou-se o refluxo esofágico do Lugol e, conseqüentemente, novos episódios de tosse. Sendo assim, os animais submetidos aos exames subsequentes foram posicionados em decúbito lateral esquerdo com elevação do tórax há aproximadamente 30° em relação à mesa.

Inicialmente, a avaliação do trato gastrointestinal superior iniciava-se com a realização de exame endoscópico convencional e avaliação esofágica, gástrica e duodenal, quando acessível. Na sequência, realizava-se a cromoendoscopia retrógrada com a avaliação e biópsia duodenal, quando acessível, gástrica e por fim esofágica.

Durante o primeiro procedimento, no momento da aplicação da CRE no estômago, observou-se o refluxo enterogástrico moderado de Azul de Metileno que interferia na interpretação das lesões gástricas.

Diante deste fato, a sequência da CRE foi alterada para: primeiramente CRE, avaliação e biópsia gástrica, depois duodenal, quando acessível e finalmente esofágica. Com esta ação evitou-se o refluxo enterogástrico de Azul de Metileno antes da avaliação gástrica o qual prejudicava a avaliação da mucosa deste órgão.

Utilizando os corantes escolhidos, a CRE demonstrou-se vantajosa no direcionamento e aquisição de biópsia do trato digestório superior de cães quando comparada à E.C. Porém, chamamos a atenção para os seguintes dados.

As duas técnicas apresentaram os mesmos valores de especificidade e porcentagem de falso positivo na região do corpo gástrico.

A especificidade, a porcentagem de falso positivo e o VPP da E.C. no esôfago, foram maiores do que na CRE. A acurácia foi a mesma para as duas técnicas, mas a CRE apresentou um maior valor de concordância entre os métodos diagnósticos para este órgão.

Muitas lesões discretas realmente foram destacadas e lesões perceptíveis à endoscopia convencional foram mais bem delimitadas.

As desvantagens no uso da CRE podem estar relacionadas à escolha inadequada do corante frente ao histórico do animal, à dificuldade de aquisição dos corantes e no custo elevado do cateter tipo *spray* adequado para realização da técnica.

No esôfago, seis amostras de biopsia (três animais) não continham material suficiente para análise histopatológica e duas amostras coletadas (um animal) não continham material algum. Este resultado pode ser atribuído ao número limitado de animais do estudo e à dificuldade de colheita das amostras, já que o esôfago dos cães possui epitélio queratinizado (mais resistente) e fica posicionado longitudinalmente em relação ao endoscópio, durante todo o exame. Os resultados falsos positivos e negativos das duas técnicas e a baixa sensibilidade da E.C. neste órgão podem ser decorrentes das dificuldades técnicas encontradas durante o exame ou de lesões precoces perceptíveis apenas quando se utiliza a CRE (sensibilidade 100% no esôfago). Regiões que na E.C. não apresentavam alterações ficaram fracamente coradas à CRE (2 animais) e foram classificadas como positivas. Estas biopsias apresentaram esofagite mononuclear, ao exame histopatológico.

Avaliando as três regiões gástricas, individualmente, observou-se em todas elas, elevada acurácia do método de CRE. A eficácia da CRE pode ser vista pela sensibilidade e VPP alto para as três regiões (valor mais baixo para antro pilórico). A sensibilidade é responsável por identificar indivíduos com lesão, enquanto o VPP é a capacidade do teste em identificar a lesão e estas realmente serem compatíveis com o exame histopatológico. Mais uma vez, a técnica, a escolha do corante ou as dificuldades encontradas durante o exame, fizeram com que os resultados falso positivos e negativos fossem sempre maiores na E.C., fato apenas não observado na região de corpo gástrico onde os resultados foram iguais.

Algumas regiões destacadas pelo índigo carmim não apresentaram lesão à histopatologia, fato demonstrado pelo resultado falso positivo, por exemplo, na região de antro piloro (60%). Outras regiões que o padrão da coloração foi homogêneo apresentaram lesões, falso negativo elevado na região fúndica e moderado, no corpo gástrico.

Avaliando o estômago como um todo, sem subdividi-lo, a acurácia e a sensibilidade da CRE mantiveram-se altas. Os falso positivos aumentaram em relação à região de fundo e corpo, mas diminuíram em relação ao antro piloro. Já os falsos negativos diminuíram em relação à região fúndica e corpo, mas aumentaram em relação ao antro piloro. Sendo assim, a CRE demonstrou-se mais eficaz na avaliação individualizada das regiões gástrica do que no estômago como um todo.

No duodeno, os testes revelaram os mesmos resultados que podem ser atribuídos ao baixo número de animais do estudo e ao baixo sucesso de transposição do piloro em metade dos animais examinados. A acurácia do teste foi baixa e, conforme demonstrado nos resultados, a CRE utilizando azul de metileno não apresentou vantagem diagnóstica quando comparada à E.C. nos animais avaliados. As lesões histopatológicas (processos inflamatórios) encontradas no duodeno foram coradas normalmente com o azul de metileno, já que este corante é absorvido pelo citoplasma das células intestinais. Os resultados mostraram também 75% de falsos negativos que podem estar relacionados às dificuldades encontradas durante o exame, ao reconhecimento de áreas coradas fracamente ou à lavagem insuficiente da mucosa duodenal para estabilização adequada do corante instilado.

CONCLUSÕES

De acordo com os corantes escolhidos, a técnica aplicada e com os animais avaliados, concluímos que a CRE é de fácil aplicação, mas é necessária habilidade, no mínimo mediana do endoscopista no manejo do equipamento endoscópico para que a técnica seja aplicada de forma eficiente.

Na CRE de esôfago, os animais devem ser posicionados com o tórax elevado aproximadamente a 30° em relação à mesa de exame evitando, assim, o refluxo de lugol para faringe e laringe dos mesmos.

A CRE apresentou vantagem no direcionamento e aquisição de amostras de biopsia no trato digestório superior dos cães, sendo que, no esôfago, a acurácia das técnicas revelou o mesmo resultado. Quando realizada no estômago, a CRE apresenta melhores resultados se as regiões gástricas forem avaliadas isoladamente.

O cateter *spray* é um item relativamente caro, mas necessário para adequada aplicação da técnica, e a aquisição dos corantes foi difícil.

Na tentativa de contornar os problemas encontrados neste estudo e confrontar os resultados obtidos, sugere-se aumentar o número de animais avaliados, elevando-se, assim, a possibilidade de se encontrar lesões diferentes das encontradas nesse estudo.

REFERÊNCIAS

1. Fagundes RB. Cromoendoscopia de esôfago e estômago. In: Magalhães AF, Cordeiro FT, Quilici FA, Machado G, Amarante HMBS, Prolla JC, et al. Endoscopia digestiva diagnóstica e terapêutica. Rio de Janeiro: Revinter; 2005. p.106-19.
2. Guilford WG. Upper gastrointestinal endoscopy. In: McCarth TC. Veterinary endoscopy for the small animal practitioner. Beaverton: Elsevier; 2005. p.279-321.
3. Fallin EA, Leib MS, Trevor P. Endoscopy case of the month. Vet Med. 1996;91(3):41-50.
4. Lecoindre P, Chevallier M, Peyrol S, Boude M, Ferrero RL, Labigne A. Pathogenic role of gastric *Helicobacter* sp in domestic carnivores. Vet Res. 1997;28(3):207-15.
5. Araújo IC, Ferreira AM. Infecção por *Helicobacter* spp em gatos. Clín Vet. 2002;7(37):41-50.
6. Benevento S, Ferreira AR. Estudo Histopatológico das Gastropatias caninas e felinas. Rev Bras Med Vet. 2002;24(2):81-4.
7. Ratilal PO, Pires EC, Deus JR, Novais LA. Cromoendoscopia : porquê colorir ? GE, J Port Gastreenterol. 2002;9:340-6.
8. Tams TR. Gastroscopy. In: Small animal endoscopy. Missouri: Elsevier Mosby; 2011. p.97-172.
9. Sorbi D, Gostout CJ. Polyp identification and marking : chromoscopy , tattooing , and clipping. Tech Gastrointest Endosc. 2000;2(1):2-8.
10. Washabau RJ, Day MJ. Esophagus. In: Canine & feline gastroenterology. 1st ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2013.

11. Moreira EF, Oliveira LA, Pinto PRA, Albuquerque W, Carvalho SD, Coelho JCCGP. Projeto Diretrizes: Cromoscopia com lugol na detecção do câncer de esôfago [Internet]. São Paulo: SOBED; 2008 [cited 2013 May 24]. p.17. Available from: http://www.sobed.org.br/web/arquivos_antigos/pdf/diretrizes/Cromoscopia.pdf.
12. Valentine BA. Endoscopic biopsy handling and histopatology. In: McCarthy TC. Veterinary endoscopy for the small animal practioner. 3rd ed. St Louis: Elsevier Saunders; 2005. p.31-47.
13. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics [Internet]. 1977 Mar [cited 2013 May 24];33(1):159-74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/843571>.
14. Rosner B. Fundamentals of biostatistics [Internet]. 7th ed. Boston, MA: Brooks/Cole; 2011 [cited 2013 Jul 9]. Available from: http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=-CQtWiJL0cC&oi=fnd&pg=PR7&dq=Fundamentals+of+Biostatistics&ots=W1J2ti_vbw&sig=MA2VQGB0P_22q7z4upVEbRCYhQA.

Recebido em: 24/09/2013

Aceito em: 29/04/2014

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DO SISTEMA DIGESTÓRIO DO BAGRE DE CANAL CRIADO EM CATIVEIRO

Milena Toporovicz da Silva¹
Jorge Henrique Carneiro²
Vânia Pais Cabral Castelo Campos³

RESUMO

Almejou-se avaliar as características morfológica e morfométrica do sistema digestório do bagre de canal, correlacionando-as ao hábito alimentar. Utilizaram-se 19 exemplares de bagre de canal hípidos (12 machos e 7 fêmeas), com peso médio de $522,77 \pm 60,87$ gramas. Após captura e jejum de 24 horas, os animais foram eutanasiados mediante anestesia com benzocaina na concentração de 50mg/L prosseguido de secção transversal da medula espinhal. Efetuaram-se avaliações morfológica e topográfica da cavidade bucofaríngea, do canal alimentar e das glândulas anexas. Observaram-se presença de fenda bucal rostral, quatro pares de barbilhões, dentes orais e faringianos, esôfago com grande número de pregas longitudinais, estômago desenvolvido e com mucosa altamente pregueada, e evidenciaram-se várias convulsões no intestino médio. Quanto à morfometria, determinaram-se os comprimentos corpóreo padrão, comprimento intestinal, quociente intestinal, índice hepatossômático e índice digestivo somático. Não houve diferença significativa do quociente intestinal, contudo, observou-se que os demais parâmetros morfométricos foram maiores nas fêmeas. Quanto à morfologia não se observaram diferenças do sistema digestório entre os gêneros. Pode-se mencionar que o bagre de canal apresenta características morfológicas e morfométricas compatíveis aos de peixes onívoros com tendência piscívora. Não obstante, o estudo pode indicar que esta espécie possa estar em período de adaptação a um novo hábito alimentar, em decorrência a algum tipo de pressão ambiental.

Palavras-chave: anatomia, peixe, *Ictalurus punctatus*.

MORPHOLOGY AND MORPHOMETRY OF THE DIGESTIVE SYSTEM OF THE CHANNEL CATFISH RAISED IN CAPTIVITY

ABSTRACT

Longed to evaluate macroscopic and morphology characteristics of channel catfish's digestive system correlating them with feeding habit. Were used 26 specimens of healthy channel catfish, with an average weight of 606 grams. After capture and 24 hours of fasting, the animals were euthanized through anesthesia containing benzocaine in concentration of 50mg/kg followed by spinal cord transverse section. Morphologic and topographic evaluations of buccopharyngeal cavity, feeding canal and accessory glands were carried out. Presence of wide oral cleft, oral and pharyngeal teeth, esophagus with a large number of longitudinal folds, developed stomach with highly folded mucosa were observed, several convolutions were noted at the posterior intestine. As for morphometry, standard and intestinal lengths were determined and the Intestine Relative Length (IRL) was calculated. There were no significative differences of average IRL between the groups. It can be mentioned that channel catfish has morphologic and morphometric characteristics that are

¹ Universidade Federal do Paraná / Curso de Zootecnia de Curitiba, Curitiba, PR, Brasil

² Mestrando no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

³ Profa Adj. do Departamento de Anatomia do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Área de Pesquisa: Morfologia Comparada dos Vertebrados. Correspondência

compatible to the ones of other omnivorous fishes with piscivorous tendency. Nevertheless, this study may indicate that this specie is under adaptation period to a new feeding habit, due to some sort of environment pressure.

Keywords: anatomy, fish, *Ictalurus punctatus*.

MORFOLOGÍA Y MORFOMETRÍA DEL SISTEMA DIGESTIVO DEL BAGRE DE CANAL CREADO EN CAUTIVERIO

RESUMEN

Se quiso evaluar las características morfológicas y morfométricas anatómicas del aparato digestivo del bagre de canal, su correlación con los hábitos alimenticios. Utilizamos 19 ejemplares de bagre de canal sano con un peso promedio de $522,77 \pm 60,87$ gramos. Después de capturar y 24 horas de ayuno, los animales se sacrificaron por anestesia con benzocaína a una concentración de 50mg/kg procedieron sección transversal de la médula espinal. Llevamos a cabo revisiones morfológicas y topográficas de la cavidad orofaríngea, tubo digestivo y glándulas accesorias. Presencia observada de fisura oral rostral, cuatro pares de barbillas, dientes oral y faríngea, el esófago con el gran número de pliegues longitudinales, estómago desarrollado y mucosa altamente plegada, se presentaron varios convulaciones en el intestino medio. En cuanto a la morfometría, se determinó la longitud estándar del cuerpo, longitud intestinal, cociente intestinal, índice hepatosomático y el índice digestivo somático. No hubo diferencia significativa en el cociente intestinal, sin embargo, se observó que los otros parámetros morfométricos fueron mayores en las hembras. La morfología del sistema digestivo no se observaron diferencias entre los géneros. Cabe mencionar que el bagre de canal presenta características morfológicas y morfométricas en consonancia con los de los omnívoros con tendencia piscívoras. Sin embargo, el estudio puede indicar que esta especie es un período de adaptación a un nuevo hábito de alimentos, debido a algún tipo de presión ambiental.

Palabras clave: anatomía, pez, *Ictalurus punctatus*.

INTRODUÇÃO

Os teleósteos correspondem à classe de peixes de maior diversidade ambiental, morfológica e alimentar (1). O interesse zootécnico na cultura de peixes teleósteos nativos e/ou exóticos tem aumentando consideravelmente em piscigranjas brasileiras (2), entre eles destaca-se o *Ictalurus punctatus* (bagre de canal) oriundo da região do Golfo do México e do Vale do Mississipi nos Estados Unidos.

Sabe-se que o canal alimentar dos peixes é distinto e apresenta ampla variedade do padrão morfológico correlacionado ao hábito alimentar e à filogenia (3). O estudo das características morfométricas e morfológicas do trato digestório podem fornecer informações básicas importantes para o conhecimento sobre a influência do hábito alimentar dos peixes e sinalizar parâmetros que podem ser usados como indicadores na produção animal (4).

Uma vez que o conhecimento dos aspectos morfofuncionais comparativo do sistema digestório de peixes de interesse comercial é fundamental para o estudo ecológico e adaptativo destas espécies na implantação de manejo em piscicultura, o presente estudo almejou descrever as características anatómicas macroscópicas e morfométricas dos órgãos do sistema digestório do bagre de canal, em ambos os gêneros, correlacionando-as aos padrões nutricionais (hábito alimentar) descritos em outras espécies de teleósteos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 19 exemplares de bagre de canal (12 machos e 7 fêmeas) hípidos, com peso médio de $522,77 \pm 60,87$ gramas, provenientes do Comércio Pesque Pague São Pedro - Ltda, localizado na região de Tijucas do Sul (PR). A coleta dos peixes foi efetuada mediante utilização de 10 minutos de arrasto, com rede de malhagem 1,5 cm entre nós adjacentes, com a profundidade variando de um metro a um metro e meio. Após a captura, os animais foram transferidos para um tanque onde permaneceram em jejum por 24 horas.

Procedeu-se a anestesia geral utilizando-se benzocaina (etil-aminobenzoato) na concentração de 50mg/L e, mediante ao efeito do fármaco, efetuou-se a eutanásia por meio de secção transversal da medula espinhal na região da articulação atlantooccipital.

Os exemplares foram individualmente identificados e realizaram-se as avaliações dos seguintes parâmetros morfológicos (Tabela 01): (1) Comprimento total do animal, mediante a mensuração do eixo craniocaudal, ou seja, da região rostral até o limite caudal da nadadeira caudal; (2) Comprimento padrão (corpóreo), medida realizada entre a linha reta da extremidade rostral da cabeça até o início dos raios da nadadeira caudal; e (3) Peso corpóreo.

Em seguida, os animais foram abertos por meio de uma incisão longitudinal na parede ventral do abdômen, tendo como parâmetros anatômicos crânio-caudal, respectivamente, o opérculo e o óstio anal e incisões transversais, caudalmente ao opérculo e ao pedúnculo caudal. A parede lateral do corpo foi rebatida e procedeu-se a avaliação anatômica da cavidade corpórea.

Avaliou-se a forma e a coloração dos órgãos da cavidade bucofaríngea e do canal alimentar e procedeu-se análise topográfica utilizando-se conceitos de holotopia, sintopia, idiotopia e esqueletopia. Realizaram-se exérese e fixação dos órgãos do canal alimentar e a determinação de outros parâmetros morfométricos: (4) Quociente intestinal ou Comprimento relativo do intestino (comprimento total do intestino/ comprimento padrão); (5) Índice digestivo somático (peso trato digestório/peso corpóreo); (6) Índice hepatossomático (peso fígado/ peso corpóreo).

Quanto ao delineamento experimental, os espécimes foram separados em grupos conforme o gênero (machos e fêmeas). Realizaram-se estudos estatísticos das amostras dos grupos utilizando-se o teste t-Student ($p < 0,05\%$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Corroborando a descrição anatômica do trato digestório de peixes descritas na literatura (5), observou-se a divisão do canal alimentar do bagre de canal em: intestino cefálico (cavidade bucofaríngea); intestino anterior (esôfago e estômago); intestino médio (intestino propriamente dito) e intestino posterior (reto).

O comprimento e a morfologia do canal alimentar têm uma grande relação com a digestão e a absorção do alimento (6,7). Não foram observadas diferenças morfológicas e morfométricas ($t > 0,05$) quanto ao gênero da espécie estudada (Tabela 01).

À similitude dos relatos descritos para peixes teleósteos de água doce (8,9), verificou-se a presença de uma cavidade peritoneal ampla e alongada longitudinalmente e ovalada transversalmente. No terço anterior, observaram-se bexiga natatória, fígado, esôfago, estômago (intestino anterior) e as primeiras porções do intestino médio (alças ascendente e descendente). No terço médio, visibilizaram-se a parte caudal da bexiga natatória, a porção convoluta do intestino médio e a porção cranial das gônadas; e no terço final, verificaram-se a porção final do intestino médio e o intestino posterior, o reto.

Tabela 1. Avaliação morfométrica do sistema digestório do bagre de canal (*Ictalurus punctatus*).

	Machos	Fêmeas
Peso corpóreo (g)	537,05 ^a	498,28 ^b
Comprimento total (padrão) (cm)	33,91	33,85
Intestino Ascendente (cm)	3,32	3,55
Intestino Descendente (cm)	5,26	5,24
Intestino Convoluta (cm)	17,90	18,31
Intestino Posterior – Reto (cm)	3,54	3,98
Comprimento intestino médio e posterior (cm)	30,04	31,10
Peso do fígado (g)	6,35	6,97
Peso do trat. Digestório (g)	18,69	19,96
IQ	0,88	0,91
HSI	1,19	1,41
DSI	3,52	4,03
CP/PTD	1,87	1,71

Valores seguidos das mesmas letras não diferem pelo teste t-Student, $p < 0,05$.

Quanto à descrição morfológica do intestino cefálico, sabe-se que a presença de uma fenda bucal ampla é característica de animais carnívoros ou de onívoros com tendência piscívora (10). Relatos descrevem que os dentes, em peixes, estão mais relacionados à apreensão do alimento do que com a mastigação (11), não obstante, há quem mencione que os dentes faringianos têm a função de trituração do alimento, apresentando-se mais desenvolvidos nos peixes herbívoros (12).

No bagre de canal observaram-se lábios (superior e inferior) carnudos, fenda bucal rostral, cavidade bucofaríngea ampla e profunda, presença de placas de dentes mandibulares e pré-maxilares compostos por aglomerados de dentículos e por duas áreas dentritivas faringianas superiores, próximos ao esôfago (Figura 1).

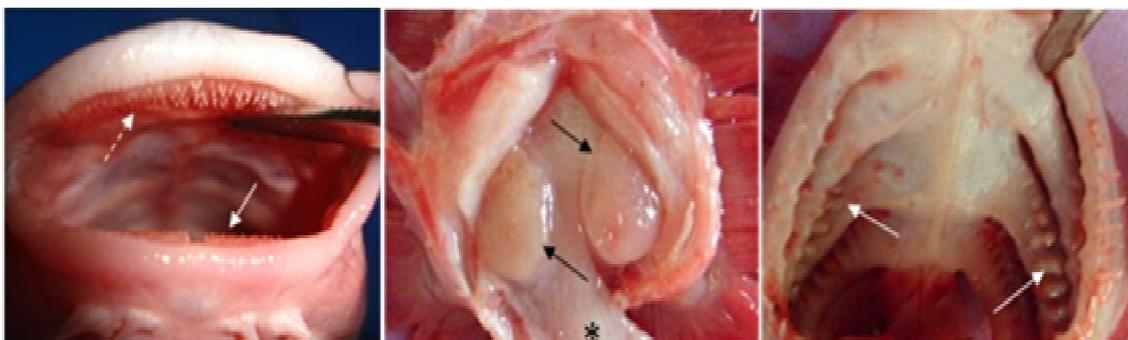


Figura 1. Anatomia do Sistema Digestório do *Ictalurus punctatus*. A) Cavidade bucofaríngea com a presença de dentes orais maxilares (seta pontilhada) e mandibulares (seta contínua); B) Placas de dentes faringianos (setas) e esôfago (*); C) Arcos branquiais com rastros branquiais (seta);

A presença de rastros branquiais apresenta a função de proteção das brânquias, apreensão da presa e auxílio na deglutição (13,14,15). Caudalmente à comissura labial, na região opercular, foram observados, no bagre de canal, os arcos branquiais compostos por quatro pares de brânquias, com rastros branquiais curtos (Figura 1), espaçados e em forma de seta. Macroscopicamente, não foram observados dentículos nos rastros branquiais, características anatômicas comuns aos peixes carnívoros.

Verificaram-se quatro pares de barbilhões, órgãos sensoriais gustativos, nos quais um par (maxilar) apresentou-se rostralmente aos bulbos oculares, outro par (mandibular) lateralmente ao lábio superior, e dois pares ventrais (mentonianos) ao lábio inferior.

Quanto à morfologia do esôfago, sabe-se que o comprimento do esôfago em peixes onívoros é curto (16), entretanto, em peixes carnívoros a mucosa esofágica apresenta pregas longitudinais e musculatura bem desenvolvida (16), características estruturais destinadas à ampla capacidade de distensão para armazenamento de alimentos ingeridos inteiros e de grande tamanho.

O esôfago do bagre de canal apresentou-se como um órgão tubular longo disposto entre a cavidade bucofaríngea e peritoneal, caracterizando-se pela ausência de esfíncter cárdico na transição com o estômago, evidenciaram-se pregas longitudinais na mucosa e de ducto pneumático (Figura 2) interligado à bexiga natatória, parâmetro anatômico que estabelece a transição entre esôfago e estômago (16). Quanto à trajetória esofágica, verificou-se que após passar pelo septo transverso, o esôfago dispõe-se dorsalmente ao fígado e direcionou-se caudalmente ao estômago.

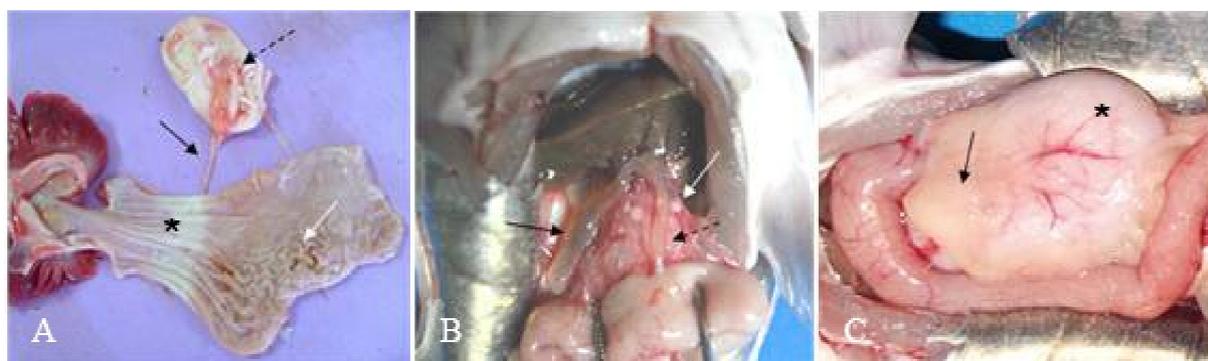


Figura 2. Anatomia do Sistema Digestório do *Ictalurus punctatus*. A) Ducto pneumático (seta preta), bexiga natatória (seta pontilhada); pregas longitudinais na mucosa do esôfago (*) e mucosa pregueada e sinuosa do estômago (seta branca); B) Fígado e vesícula biliar (seta preta contínua), ducto colédoco (seta preta pontilhada) e pâncreas (seta branca). C) Omento maior (seta preta) e região fúndica (asterisco) do estômago do tipo cecal.

Sabe-se que a interpretação do hábito alimentar baseada somente na análise isolada do conteúdo gastrointestinal pode levar a conclusões incorretas (2). Todavia, a presença do estômago bem desenvolvido é uma das características que pode ser associada aos peixes que se alimentam com pouca frequência (carnívoros), a longos intervalos de tempo, desempenhando não só a função de digestão, mas também de armazenamento (12).

O estômago do bagre de canal apresentou-se do tipo cecal (Figura 2), com a mucosa altamente pregueada e sigmoide e não apresentou esfíncter cárdico. A região pilórica caracterizou-se por apresentar túnica muscular espessa e esfíncter pilórico limitando-a ao intestino. O estômago do tipo cecal (formato de “J”) e a mucosa altamente pregueada (Figura 2) possibilitam uma alta capacidade de distensão, característico de animais com hábito alimentar carnívoro (2).

Topograficamente, o estômago do bagre de canal localiza-se caudalmente ao fígado com a maior porção de sua região fúndica localizada no antímero esquerdo, ventralmente à bexiga natatória e ao baço.

À similitude aos achados morfológicos da *Rhamdia quelen* (6), visibilizou-se que o intestino médio do bagre de canal (Figura 3) apresentou três divisões (ascendente, descendente e convoluto) e o intestino posterior ou intestino terminal (reto) correspondeu à última porção intestinal que se estende da valva ileorectal (9) (Figura 4) até o orifício anal (Figura 3).

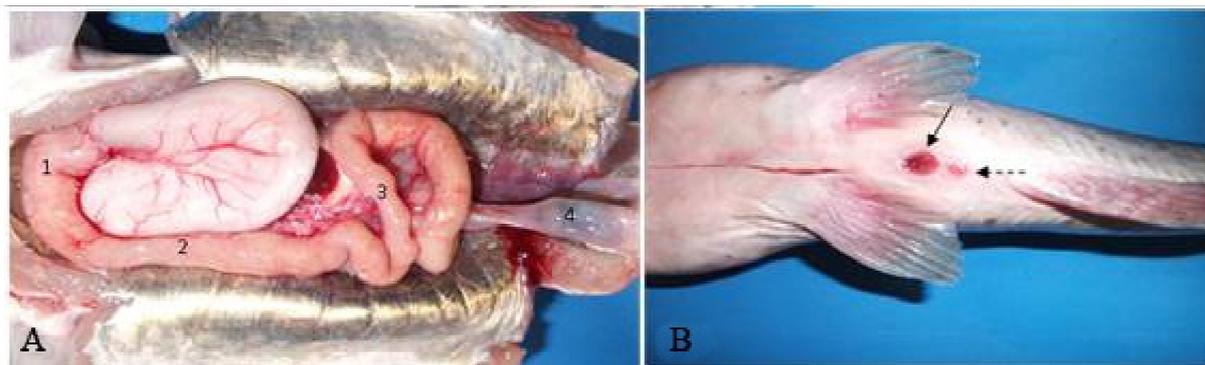


Figura 3. Anatomia do Sistema Digestório do *Ictalurus punctatus*. A) Cavidade peritoneal com a segmentação do intestino médio em ascendente (1), descendente (2) e convoluto (3); e intestino posterior reto (4). B) Óstio anal (seta preta contínua) e óstio genital (seta pontilhada).

Considerando-se os aspectos morfológicos das alças intestinais, peixes carnívoros geralmente apresentam o intestino médio retilíneo, curto e espesso, com poucas ou sem convulsões. A presença de convulsões intestinais é associada aos peixes onívoros e herbívoros (12,17). No bagre de canal, a menor porção do intestino médio (Tabela 1) foi o intestino ascendente, localizado no antímero direito, estendendo-se do esfíncter pilórico até a primeira curva da alça intestinal, observou-se a presença de ducto colédoco, entre a vesícula biliar e o intestino ascendente (Figura 1).

O intestino descendente apresentou-se um pouco mais alongado (Tabela 1), estendeu-se caudalmente ao fígado e ventralmente a vesícula biliar até a segunda curvatura, onde se verificou uma série de convulsões (intestino convoluto) (Figura 3). Verificou-se a presença do esfíncter ilioretal (Figura 4) entre o final do intestino convoluto e o início do reto. A abertura do ânus do bagre de canal localizou-se caudoventralmente às nadadeiras pélvicas e cranialmente ao óstio genital (Figura 3).

As relações entre os arranjos das pregas mucosas intestinais e a velocidade de transporte do alimento no intestino médio são fatores importantes para a análise do consumo, digestão e absorção dos nutrientes em estudos morfofuncionais em peixes (2,9). Os carnívoros apresentam uma grande quantidade de pregas intestinais na mucosa intestinal, e em contrapartida os herbívoros possuem poucas pregas (12). Todavia, o autor relata que a presença de pregas longitudinais na mucosa intestinal permite que o trânsito do alimento seja mais rápido.

Considerando-se o padrão da mucosa intestinal observaram-se, no bagre de canal, pregas longitudinais paralelas à parede intestinal, em toda a sua extensão (Figura 4). Na porção ascendente, à análise qualitativa macroscópica, a mucosa caracterizou-se por apresentar pequenas anastomoses oblíquas e curtas. À similitude, no intestino descendente e na porção cranial e média do intestino convoluto a mucosa apresentou anastomoses curtas e oblíquas mais freqüentes. Contudo, na porção convoluta caudal e na porção cranial do reto verificaram-se pregas mais sinuosas.

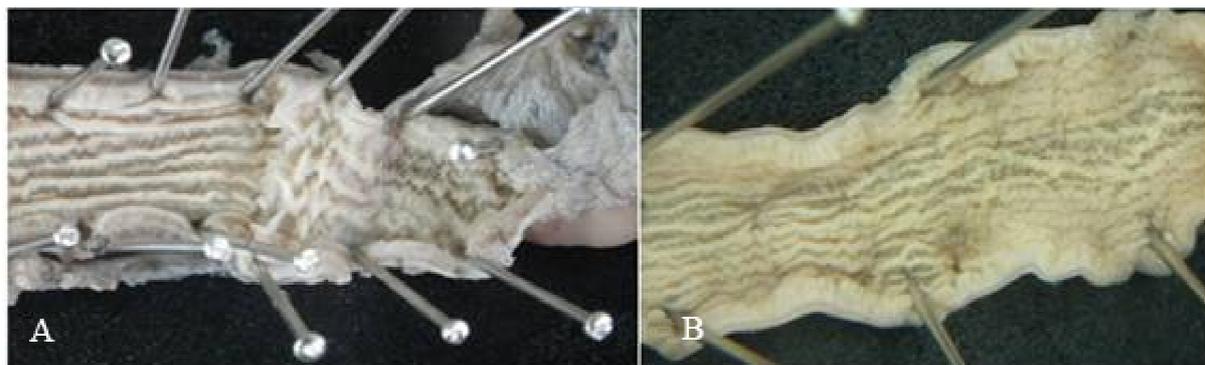


Figura 4. Anatomia do Sistema Digestório do *Ictalurus punctatus*. A) Válvula ileoretal (seta contínua) entre o intestino convoluto e o reto. B) Pregas longitudinais paralelas da mucosa intestinal.

O comprimento intestinal (intestino médio e posterior) dos teleósteos está intimamente ligado ao seu hábito alimentar, os maiores comprimentos são atribuídos aos animais herbívoros, menores aos carnívoros e os intermediários aos onívoros (12,13). Os quocientes intestinais abaixo de um indicam uma dieta carnívora, entre um e três indicam uma dieta onívora e mais do que três uma dieta de um herbívoro ou de detritívoro (18).

Não obstante, o comprimento do intestino pode estar mais correlacionado com a quantidade de material indigerível no alimento do que a sua origem animal ou vegetal, e o comprimento intestinal é menor em peixes que se alimentam com maior frequência ou os que possuem características morfológicas intestinais, tais como flexuras (pregas) e vilosidades, que aumentam a área de absorção dos nutrientes (12).

O comprimento relativo do intestino ou quociente intestinal dos peixes onívoros varia entre 0,6 e 8,0 e o valor médio encontrado nos bagres de canal corresponde a 1,6, ou seja, de um peixe onívoro (12). Observou-se que o quociente intestinal do bagre de canal (Tabela 1) teve um valor médio de 0,898. Os estudos estatísticos demonstraram que não houve diferença significativa no quociente intestinal quanto ao gênero ($t < 2,0639$) (Tabela 1).

Quanto às glândulas anexas, os peixes não apresentam glândulas salivares (1), entretanto, apresentam fígado e pâncreas. O fígado do bagre de canal apresentou coloração marrom-avermelhada, característica pertinente aos de peixes carnívoros (12). Localizou-se caudalmente ao septo transversal, delimitação das cavidades bucofaríngea e peritoneal, e ventralmente ao esôfago. Os lobos hepáticos alojaram-se em duas invaginações (sacos cegos), em ambos os antímeros (direito e esquerdo), na parede da musculatura dorsolateral próximos ao septo transversal.

A vesícula biliar apresentou-se aderida à porção ventro-lateral direita do órgão, sendo possível observar a presença de um ducto colédoco comunicante ao intestino ascendente (Figura 1).

O índice hepatossômico não é um parâmetro que deva ser utilizado para estimar o hábito alimentar dos peixes, pois não há diferenças significativas entre espécies de diferentes hábitos alimentares (4). Todavia, verificamos que o valor médio (Tabela 1) encontrado no bagre de canal foi discretamente maior ao relatado em outras espécies onívoras (tamoatá e jundiá) descritas na literatura (4).

O pâncreas (Figura 2) caracterizou-se por apresentar pequenos lóbulos difusos no mesentério, próximo ao estômago, ao fígado e adjacente à veia porta hepática similarmente aos achados encontrados na literatura (12).

CONCLUSÃO

O bagre de canal apresentou características morfológicas adaptadas para a apreensão, transporte e digestão de alimentos tanto de origem vegetal quanto animal. A correlação dos parâmetros morfológicos aos morfométricos adotados neste projeto indica que o sistema digestório de bagre de canal, criado em cativeiro, foi condizente com o hábito alimentar onívoro.

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Todos os procedimentos metodológicos envolvendo os animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná no dia 11/02/2011 (Processo 23075.056375/2010-36; Número do Certificado da CEUA 504).

REFERÊNCIAS

1. Romer AS, Parsons TS. Quem é quem entre os vertebrados. In: Anatomia comparada dos vertebrados. 5a ed. São Paulo: Atheneu; 1985. p.48-50.
2. Rotta MA. Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. Corumbá: Embrapa Pantanal; 2003 [cited 2013 Feb 21]. Available from: <http://www.cpap.embrap.br/publicações/online/DOC53.pdf>.
3. Barbieri RL, Leite RG, Sterman FA, Hernandez-Blazquez FJ. Food passage time through the alimentary tract of a brazilian teleost fish, *Prochilodus scrofa* (Steindachner, 1881) using radiography. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 1998;35(1):32-6.
4. Baldisseroto B. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2002.
5. Hernández DR, Pérez Ganeselli M, Domitrovic HA. Morphology, Histology and Histochemistry of the Digestive System of South American Catfish (*Rhamdia quelen*). *Int J Morphol* [Internet]. 2009 [cited 2013 Feb 21];27(1):105-11. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=s0717-95022009000100019&script=sci_arttext.
6. Becker AG, Gonçalves JF, Garcia LO, Behr ER, Graça DL, Kurtz Filho M, et al. Morphometric parameters comparisons of the digestive tract of four teleosts with different feeding habits. *Cienc Rural*. 2010;40(4):862-6.
7. Hidalgo F, Alliot E. La digestión en los peces. In: Espinosa De Los Monteros J, Labarta U. Nutrición en acuicultura I. 1a ed. Madrid: Plan de Formación de Técnicos Superiores en Acuicultura; 1987. p.85-107.
8. Bértin, L. Appareil digestif. In: Grassé PP. *Traité de zoologie*. 13rd ed. Paris: Masson; 1958. p.1249-301.
9. Menin E, Mimura OM. Anatomia comparativa do estômago de três peixes Teleostei de água doce de hábito alimentar ictiófago. *Rev Ceres*. 1993;40(228):203-22.

10. Seixas Filho JT, Brás JM, Gomide ATM, Oliveira MGA, Donzele JL, Menin E. Anatomia Funcional e Morfometria dos Intestinos e dos Cecos Pilóricos do Teleostei (Pisces) de Água Doce *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849). Rev Bras Zootec [Internet]. 2000 [cited 2013 Feb 21];29(2):313-24,. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982000000200001.
11. Rodrigues SS, Menin E. Anatomia do tubo digestivo de *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1817) (Pisces,haracidae, Salmininae). Biotemas [Internet]. 2008 [cited 2013 Feb 21];21(2):65-75. Available from: <http://www.ceres.ufv.br/CERES/revistas/V53N305P01906.pdf>.
12. Rodrigues SS, Navarro RD, Menin E. Anatomia do tubo digestório de *leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988 (Characiformes, Anostomidae) em relação ao seu habita alimentar. Biosci J [Internet]. 2008 [cited 2013 Feb 21];24(3):86-95. Available from: <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/6860>.
13. Keast A, Webb D. Mouth and body form relative to feeding ecology in the fish fauna of a small lake, lake Opinicon, Ontario. J Fish Res Board Can [Internet]. 1996 [cited 2013 Feb 21];23(12):1845-74. Available from: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/f66-175#.URVhwh2cdc1>.
14. Menin E. Anátomo-histologia funcional comparativa do aparelho digestivo de seis Teleostei (Pisces) de água doce [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1988.
15. Eiras-Stofella DR, Charvet-Almeida, P. Ultrastruture (SEM) of the gills of *Prochilodus scrofa* Steindachner (Pisces, Teleostei). Rev Bras Zool [Internet]. 1998 [cited 2013 Feb 20];15(2):279-87. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sciarttext&pid=S0101-81751998000200001>.
16. Fazollo RS, Menin E. Anatomia Funcional Comparada da Faringe de *Delturus carinotus* LA MONTE, 1933 e *Hypostomus affinis* STEINDACHNER, 1877 (Siluriformes, Loricariidae). In: Anais do 12o Simpósio de Iniciação Científica; 2002; Viçosa. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2002 [cited 2013 Feb 21]. p.124. Available from: <http://www.ceres.ufv.br/CERES/revistas/V53N305P01906.pdf>.
17. Moraes MFPG, Barbola IF. Alimentação e relações morfológicas com o aparelho digestivo do curimatá, *Prochilodus lineatus* (Valenciennes) (Osteichthyes, Prochilodontidae), de uma lagoa do Sul do Brasil. Rev Bras Zool [Internet]. 1997 [cited 2013 Feb 21];14(1):169-80. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-81751997000100015&script=sci_arttext.
18. Ward-Campbell BMS, Beamish FWH, Kongchaiya C. Morphological characteristics in relation to diet in five coexisting Thai fish species. J Fish Biol [Internet]. 2005 [cited 2013 Feb 21];67(5):1266-79. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1095-8649.2005.00821.x/abstract>.

Recebido em: 04/06/2014

Aceito em: 29/08/2014

AVALIAÇÃO DAS PERDAS PROTEICAS NO *POST MORTEM* DE FRANGOS DE CORTE POR MÉTODO ELETROFORÉTICO

Luciana Beckhauser Moraes¹
Juan Carlos Corti Lubeck²
Paulo Roberto Rodrigues Ramos³
Roberto Oliveira Roça⁴
Paulo Tadeu Figueira⁵

RESUMO

Na busca por obtenção de proteínas animais para alimentação humana, foi estabelecida uma rede de práticas interligadas, que se iniciam no momento da alimentação do animal na propriedade até o momento do consumo humano. Dentro destas práticas, a que se refere ao *post mortem* do animal e seu acompanhamento pode ser relacionada como essencial para formação de um produto de qualidade. Para tanto, os aspectos físico-químicos inerentes à matéria-prima são fundamentais e sua formação está diretamente relacionada com a qualidade da proteína resultante no processo. Para avaliar as características proteicas de um alimento, uma técnica muito utilizada é a de eletroforese, na qual se podem conferir as propriedades destas proteínas e seus perfis, inclusive identificando de qual espécie advém. O presente trabalho teve como objetivo específico identificar e caracterizar as perdas de frações proteicas que acontecem no *post mortem* pela avaliação da mobilidade relativa e análise densitométrica das proteínas do *Pectoralis major* de frangos de corte. Foram utilizadas amostras cárneas de *Pectoralis major* de 5 frangos de corte, abatidos em laboratório, com colheitas realizadas com intervalos de 30 minutos, totalizando 6 colheitas. Após extração proteica das amostras, sucedeu-se a corrida eletroforética em SDS-PAGE 10% e identificação das bandas proteicas fracionadas, realizou-se extração de imagem do gel em fotodocumentador e ANOVA em programa estatístico para tabulação de resultados. Com a análise dos dados, conseguiu-se constatar que durante o processo de resolução do rigor mortis, no *postmortem* ocorre perda significativa de frações proteicas, tendo maior concentração em proteínas com maior resultado em densitometria. Pode-se analisar também que, devido à utilização de aves de mesmo lote, sexo, manejo e peso semelhante, não houve alterações significativas na mobilidade relativa, comprovando esta ser uma característica específica e diferenciadora de cada espécie. Pode-se concluir que o processo metabólico da transformação de músculo em carne promove alterações na constituição nutricional do produto cárneo no que se refere a proteínas, entretanto, a mobilidade relativa das frações não é alterada pelo processo.

Palavras-chave: SDS-PAGE, densitometria, mobilidade relativa.

¹ Graduanda em Farmácia, Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR - Campus Toledo/PR

² Graduando de Medicina Veterinária, Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR - campus Toledo/PR

³ Professor Assistente Doutor do Departamento de Física e Biofísica, Instituto de Biociências - UNESP - Botucatu/SP

⁴ Professor Adjunto, FCA - UNESP - Botucatu/SP

⁵ Professor Adjunto, Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR - Campus Toledo/PR. Contato principal para correspondência.

EVALUATION OF PROTEIN LOSS IN *POST MORTEM* OF BROILER BY ELECTROPHORETIC METHOD

ABSTRACT

In the quest for obtaining better animal protein for human consumption, was established a network of interconnected practices, which begin at the time of feeding the animal on the property until the time of human consumption. Within these practices, in relation to the animal post-mortem and your monitoring, can be related as essential to the formation of a quality product. Therefore, the physical-chemical aspects inherent in raw material are fundamental, and this formation is directly related to the quality of the resulting protein in the process. To evaluate the characteristics of a protein of a food, one of the techniques widely used is the electrophoresis, in which we can check the properties of these and their profiles, including identifying what species arises. This study aimed to identify and characterize the specific loss of protein fractions that occur in post mortem by evaluating the relative mobility and densitometric analysis of proteins from Pectoralis major of broiler. Meat samples were used for 5 broilers slaughtered in a laboratory, with samples taken at intervals of 30 minutes, totaling six harvests. After extraction of protein samples, succeeded to run electrophoresis in 10% SDS-PAGE and identification of protein bands fractionated held extraction gel image in Image Capture VDS and your ANOVA in statistical program, for tabulation of results. With the analysis of the data, it was possible to see when during the process of resolution of *rigor mortis*, in the post mortem occurs one significant loss of protein fractions, with higher loss in protein with greater density. You can also analyze that because the use of broilers of the same batch, sex, and weight, with management similarly, no expected significant changes in relative mobility, because this proving to be a specific characteristic and distinctive for each species. It can be concluded that the metabolic process in the processing of meat muscle causes changes in nutritional constitution of the meat product with respect to proteins; however, the process does not alter the relative mobility of the fractions.

Keywords: SDS-PAGE, densitometry, relative mobility.

EVALUACIÓN DE LA PÉRDIDA DE PROTEÍNAS EN *POST MORTEM* EN POLLOS POR MÉTODO ELECTROFORÉTICO

RESUMEN

En la búsqueda de la obtención de una mejor proteína de origen animal para el consumo humano, se estableció una red de prácticas interconectadas, las cuales comienzan en el momento de la alimentación de los animales en la propiedad hasta el momento del consumo humano. Dentro de estas prácticas, en relación con el animal post- mortem y su seguimiento, se puede relacionar como esencial para la formación de un producto de calidad. Por lo tanto, los aspectos físico - químicas inherentes a la materia prima son fundamentales, y esta formación está directamente relacionada con la calidad de la proteína resultante en el proceso. Para evaluar las características de una proteína de un alimento, una de las técnicas utilizadas es la electroforesis, en el que se puede comprobar las propiedades de éstos y de sus perfiles, incluyendo la identificación de lo que surge especie. Este estudio tuvo como objetivo identificar y caracterizar la pérdida específica de las fracciones de proteínas que se producen en la post mortem mediante la evaluación de la movilidad relativa y análisis densitométrico de las proteínas del pectoral mayor de pollos de engorde. Las muestras de carne se utilizaron para 5 pollos de engorde sacrificados en un laboratorio, con muestras tomadas a intervalos de 30 minutos, un total de seis cosechas. Después de la extracción de muestras de proteínas,

logrado para ejecutar electroforesis en 10 % SDS - PAGE y la identificación de la imagen fraccionado celebrada de extracción de gel en la captura de la imagen VDS y su programa estadístico ANOVA en bandas de proteína, para la tabulación de los resultados. Con el análisis de los datos, fue posible ver cuando durante el proceso de resolución del *rigor mortis*, en el post mortem se produce una pérdida significativa de fracciones de proteína, con una mayor pérdida de proteína con una mayor densidad. También puede analizar que debido a que el uso de pollos de engorde de un mismo lote, el sexo, y el peso, con la gestión de manera similar, no hay cambios significativos esperados en la movilidad relativa, por esta demostrando una característica específica y distintiva para cada especie. Se puede concluir que el proceso metabólico en el procesamiento de la carne muscular causa cambios en la constitución nutricional del producto de carne con respecto a las proteínas, sin embargo, el proceso no altera la movilidad relativa de la fracciones.

Palabras clave: SDS-PAGE, densitometría, movilidad relativa.

INTRODUÇÃO

A qualidade se tornou um item imprescindível para o consumo, o que demonstra que apenas a produção eficiente e competitiva de alimentos de origem animal já não é o foco dos consumidores (1). Neste sentido, podemos relacionar qualidade da carne com as condições higiênicas e sanitárias, alto valor nutritivo do produto, das características organolépticas da mesma além da acessibilidade do mercado consumidor.

Entretanto, valores de pH, cor, capacidade de retenção de água, perdas por cocção e maciez da carne também são considerados importantes, e referem-se diretamente na qualidade das proteínas constituintes do produto cárneo, demonstrando a evolução da pesquisa físico-química destes produtos (2).

Para podermos realizar a obtenção de proteína animal para alimentação, estabelece-se uma complexa rede de operações destinadas à produção, abate, desossa, distribuição, armazenamento e preparação para o consumo humano (3,4). Na constituição dos animais, podemos citar que cerca de 30 a 40% do peso vivo consiste de músculo esquelético sendo constituído de feixes de células muito longas, cilíndricas e multinucleadas, com diâmetros que variam de 10 a 100µm, denominadas fibras musculares esqueléticas (4).

Podemos afirmar que o tipo de fibra, assim como a área onde ela se localiza, irá interferir nas propriedades histoquímicas e bioquímicas da carne, e conseqüentemente na sua qualidade, principalmente pelos efeitos que sofrem pelo metabolismo no antes e depois do abate (5). De todos os cortes cárneos extraídos das aves de interesse comercial citadas, o que possui maior valor agregado é o peito (*Pectoralis major*), sendo comercializado tanto *in natura* como em derivados processados (1).

Nas últimas décadas, a avicultura de corte brasileira tem apresentado elevado desenvolvimento tecnológico. Em quaisquer aspectos que se analise, confronta-se com uma evolução de dados e informações que apontam para um grande dinamismo do setor.

A avicultura se desenvolveu a partir do final da década de 50, na Região Sudeste, principalmente em São Paulo. Na década de 70, a atividade se deslocou para a Região Sul, período em que houve profunda reorganização do complexo de carnes no Brasil (6).

Os sistemas industriais modernos de criação de frangos caracterizam-se pela alta concentração de aves por unidade de área. Esta prática é necessária devido à intensa competitividade dos mercados doméstico e internacional. Nos Estados Unidos, no ano de 2004, o lucro médio líquido por quilograma de carne de frangos de corte processada – excluindo o frango comercializado inteiro – foi de aproximadamente 2 centavos de dólar (7).

Após o abate dos animais, uma série de modificações bioquímicas e estruturais se inicia dando origem a um processo denominado “conversão do músculo em carne”. O processo de

conversão do músculo, com diferentes graus de degradação enzimática e desnaturação de proteínas, pode resultar em marcantes variações nas propriedades da carne, como a capacidade de retenção de água, cor e firmeza da carne fresca; maciez, sabor e suculência da carne preparada para consumo, e capacidade de emulsificação das matérias primas, rendimentos de processo e cor dos produtos processados.

Segundo Roça, as modificações bioquímicas e estruturais ocorrem simultaneamente e são dependentes dos tratamentos *ante-mortem*, do processo de abate e das técnicas de armazenamento da carne (8).

Em relação aos processamentos ocorridos nos produtos cárneos, desde o abate ao tratamento ocorrido em todo processo pós abate, determinará a qualidade do produto final (8). Após o abate, o tecido muscular fica privado de oxigênio, tendo que realizar para obtenção de ATP (adenosina trifosfato) o processo fermentativo. Neste sentido, as reservas de glicogênio muscular continuam a ser degradadas, gerando queda de pH pela produção e não retirada do ácido láctico. Com esta redução de pH, a glicólise será inibida, cessando a produção de ATP de modo que a separação do complexo actina-miosina não ocorre mais, gerando a perda da plasticidade e estabelecimento do *rigor mortis* (8). Deste momento até o relaxamento da musculatura, ocorrerá à resolução do *rigor mortis*.

A eletroforese tem sido utilizada como o método de referência para o fracionamento e posterior quantificação das frações proteicas pela densitometria (9).

A utilização de eletroforese para estudo de perfil proteico tem sido utilizada para caracterização de vários alimentos proteicos (9), desde a forma *in natura* (1) até a processada (1,9). Esta técnica também tem sido utilizada para identificação de espécies de peixes ou frutos do mar (2) o que a torna muito útil para aspectos relacionados com legislação.

O princípio básico da técnica de eletroforese consiste na migração de partículas em um determinado gel durante a aplicação de uma diferença de potencial sob a influência de um campo elétrico. As moléculas são separadas de acordo com uma interação entre a carga líquida e o seu tamanho, pois as de menor massa irão migrar mais rapidamente que as de maior massa. As moléculas com carga negativa migram para o pólo positivo (anodo) e moléculas com carga positiva migram para o pólo negativo (catodo) (1).

Segundo Freitas e colaboradores (10), a eletroforese em gel de poliacrilamida contendo SDS (Dodecyl Sulfato de Sódio) para padronização das bandas proteicas por meio da organização das cargas elétricas presentes nas proteínas, constitui um método eficaz de separação dos componentes moleculares e mistura proteicas. A utilização desta técnica na detecção de fraudes em produtos cárneos pode ser de grande importância, principalmente no que se refere a identificar misturas de carnes não citadas no rótulo (10).

Neste sentido, o presente trabalho objetivou caracterizar por meio da avaliação densitométrica e de mobilidade relativa, obtidas pela técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida com adição de SDS, das perdas de frações proteicas do músculo peitoral de peito de frangos de corte durante o processo de resolução do *rigor mortis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 5 amostras do músculo peitoral (*Pectoralis major*) de frangos de corte. As amostras foram colhidas de aves abatidas em laboratório, para que não sofressem os processamentos inerentes ao processo comum de abate, que influenciariam as características bioquímicas musculares (como o processo de escalda, depenagem e resfriamento) pela técnica de desnucamento, de acordo com o procedimento aceito pela IN 49, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para abate de animais para experimentação em laboratórios, de acordo com o Bem Estar Animal, aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal (CEUA) da UNESP (Universidade Estadual Paulista) com o número de protocolo 109/2012 de 21 de maio de 2012.

De cada ave, foi removida uma porção muscular de aproximadamente 2 cm², sendo posteriormente identificadas e embaladas da seguinte forma: 1 alíquota logo após o término da sangria do animal e consequente óbito do animal, e mais 5 alíquotas subsequentes a cada 30 minutos, totalizando 2 horas e 30 minutos, sendo congeladas em nitrogênio líquido no momento da colheita, e depois foram transportadas ainda congeladas, até o laboratório de fracionamento de proteínas do Instituto de Biociências (IBB), da UNESP, na cidade de Botucatu, estado de São Paulo.

Para a extração das proteínas, foram pulverizadas em almofariz, 500 mg de amostras juntamente com 2 mL de água destilada deionizada e devidamente acondicionadas e identificadas em frascos tipo Eppendorf uma a uma. Posteriormente, foram centrifugadas em refrigeração à 4°C, com 7500 G por 15 minutos. O precipitado foi descartado e o sobrenadante, diluído em solução de aplicação na proporção 1:3 (v/v), sendo armazenado em frascos tipo Eppendorf, devidamente identificados e congelados a - 80°C, para posterior utilização nas corridas eletroforéticas.

Para a determinação dos padrões eletroforéticos das amostras, foi utilizada a técnica de eletroforese Nativa em Gel de Poliacrilamida vertical, alcalina (pH 8,3), em sistema de tampões descontínuos, com dodecyl sulfato de sódio (SDS-PAGE) descrita por Hames & Rickwood (11) com algumas alterações descritas por Ramos (12), tendo sido utilizado géis de empilhamento na concentração de 4% e géis de separação na concentração de 10%.

Foram preparados e aplicados os géis na placa da seguinte forma: 3,5 mL do gel separador foram aplicados por meio de seringa no conjunto de placas e cobertos com água deionizada até sua total polimerização. Após, foi removida a água por capilaridade com papel filtro até secagem. Posteriormente, foram adicionados 1,0 mL de gel empilhador e, em seguida, o encaixe do molde tipo pente para formação dos poços de aplicação. Foram aplicadas alíquotas de 16 µL de amostra em cada poço de aplicação. Finalizada a aplicação, a cuba foi conectada à fonte estabilizadora, mantendo o seguinte protocolo: 100 V de corrente inicial por 10 minutos seguidos de 300 V por 120 minutos. Considerando a eletroforese Nativa para a identificação das frações proteicas de acordo com suas mobilidades relativas, foram empregados os padrões de proteínas musculares puras da espécie em estudo, padronizada por Figueira (1).

Após o término da corrida, ocorreu a remoção das placas de vidro, sendo o gel imerso em solução corante (Coomasie Brilliant Blue em solução de ácido acético conforme instruções do fabricante) por 4 horas. Após a coloração, o gel foi acondicionado em uma solução descorante do Coomasie (água/metanol/ácido acético 1:3:6, V/V) até a revelação das bandas proteicas no gel.

Para a análise dos géis da eletroforese Nativa, foram calculadas as medidas das mobilidades relativas (Rf) de cada banda de proteína além da densitometria, por meio de imagem obtida no equipamento VDS, e análise no software VDS, da Pharmacia, fabricado pela LG electronics versão 3.0. Os resultados obtidos, depois de analisados no programa estatístico StatPlus:mac de AnalystSoft – programa de análise estatística Versão 2009, tendo como referência para discussão dos resultados as médias, variâncias e desvios padrões das medidas da densitometria e das mobilidades relativas de cada banda, relacionando com o tempo de *post mortem*.

RESULTADOS

Depois de realizadas as corridas eletroforéticas nas amostras de frangos de corte, os resultados para proteínas hidrossolúveis do músculo Pectoralis major, estão representados pela seleção de somente um dos géis realizados (figura 1), da demonstração de seleção de bandas (figura 2) e da densitometria (figura 3), para que não ocorresse a repetitividade de imagens apresentadas.

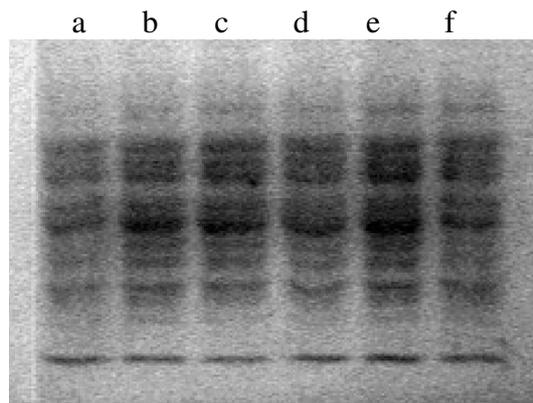


Figura 1. Exemplo de SDS-PAGE à 10% de Pectoralis major de frangos de corte de uma das amostras, apresentando aplicações relacionadas aos tempos 0 (a); 30"(b); 60"(c); 90"(d); 120"(e) e 150"(f).

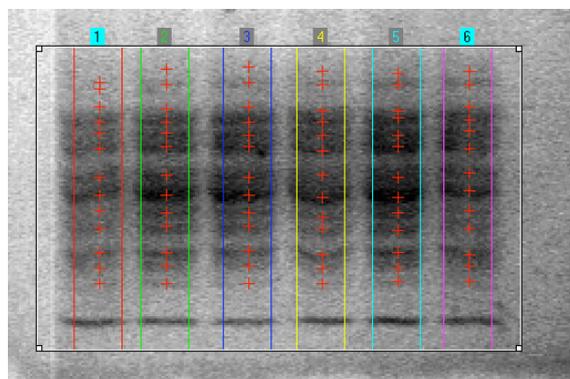


Figura 2. Exemplo de Seleção de bandas proteicas para análise de Mobilidade Relativa (Rf) e Densitometria de uma das amostras de frangos, sendo cada seleção relativa ao tempo de coleta, na sequência.

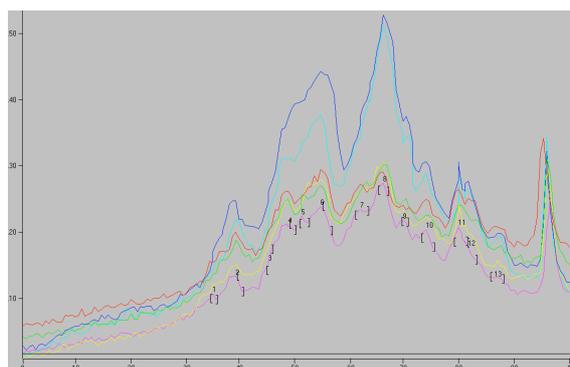


Figura 3. Imagem gráfica da densitometria realizada para cada amostra de animal analisada, confirmando a presença de 13 bandas proteicas significativas.

Em relação à avaliação estatística, foi realizado um teste ANOVA (Teste de variância) de um fator simples, uma vez que a única variável buscada seria a densitometria, que como hipótese, poderia apresentar-se alterada no *post mortem*, por ser um dado quantitativo proteico. Isso ocorre pelo fato de que como todas as amostras provêm de frangos de corte de mesma linhagem, e com pesos e manejos semelhantes, a variação da Rf não seria levada em consideração, visto que apenas a expressão gênica poderia alterar significativamente seus valores. Os dados analisados da densitometria (calculados individualmente em cada uma das

amostras testadas, e a seguir realizado média simples para cada banda proteica, relacionada com cada momento da coleta) podem ser observados na tabela 1.

Tabela 1. Dados da Anova comparando média e desvio padrão das frações proteicas (dados médios, realizados através da análise individualizada de cada gel).

Banda	Densitometria
	frações proteicas %
R1	0,584±0,149
R2	1,373±0,171
R3	0,710±0,289
R4	3,714±0,555
R5	3,204±0,819
R6	4,521±0,678
R7	3,484±0,652
R8	8,025±1,360
R9	2,357±0,679
R10	2,204±0,406
R11	3,539±0,478
R12	2,400±0,350
R13	0,873±1,156
CV% (Médio)	20,23

DISCUSSÃO

Com a análise dos resultados obtidos com as corridas eletroforéticas para proteínas hidrossolúveis de músculo de peito de frangos de corte e a análise dos dados de mobilidade relativa e densitometria, foi possível avaliar a apresentação de um perfil eletroforético característico da espécie, o que vai em encontro com o descrito por Figueira (1), em todos os géis analisados. A apresentação de 13 bandas proteicas em todas as etapas de coleta e a diferença estatística sem significância das mobilidades relativas vem corroborar com a demonstração de que as análises tratavam da mesma espécie. Pela análise das imagens obtidas dos diferentes géis produzidos (5 no total, compreendendo um para cada indivíduo utilizado), foi possível ressaltar a separação das frações proteicas de forma homogênea, variando apenas na intensidade das bandas nos momentos diferentes das coletas.

Com as coletas sendo realizadas em períodos contínuos, em intervalos de 30 minutos cada, pode-se concluir que existe uma diferença significativa na constituição percentual das frações formadoras das proteínas sarcoplasmáticas, o que também comprova a pesquisa realizada por Dierckx et al. (2) que pesquisaram a perda de frações proteicas no *post mortem*, porém, em outra espécie, a suína, mas que em termos de metabolismo muscular, conforme citado por Sarcinelli et al. (13), as alterações metabólicas coexistem nas mais diversas formas musculares das diferentes espécies, de forma padrão, alterando apenas devido ao genótipo individual, as suas características organolépticas. Com a análise da ANOVA, foi possível perceber que ocorre alteração na densitometria em todas as frações proteicas, sendo notada mais significativamente nas bandas r5, r6, r7, r8, r9 e r13, onde a variação ultrapassou o limite de variabilidade calculado, levando a média total das demais bandas para uma alteração significativa. Também pode ser avaliado pela mesma análise que as diversas ocorrências metabólicas que se iniciam no momento da morte do animal até o término das coletas realizadas foram mais intensas no intervalo que reflete o período entre 60'' e 90'', onde visualmente as aves apresentavam características macroscópicas mais proeminentes do *rigor mortis*, o que desapareceria nos 30'' seguintes, dados que demonstram que neste momento ocorre um aumento momentâneo da densitometria das frações proteicas para uma posterior

estabilização.

Mesmo com o número reduzido de amostras, com o número inicial de 10 aves, para diminuição do impacto sobre o bem estar dos animais, uma vez que em teoria um n (número) amostral alto não alteraria o resultado da análise, pois se tratava de indivíduos da mesma espécie, com manejo, sexo e peso semelhantes, e neste sentido, não alteraria o padrão eletroforético, foi possível identificar as alterações ocorridas na quantidade relativa das frações, o que foi em consonância com a literatura pesquisada. Um contrassenso com este trabalho é a falta de literatura específica para aves de interesse comercial relacionando perdas proteicas a qualidade dos produtos finais destinados ao consumidor final, uma vez que o alimento advindo desta matéria-prima é de fácil acesso socioeconômico e grande popularidade e, portanto, o tema deveria ser mais pesquisado, pois possui uma infinidade de opções de continuidade de pesquisa. Neste sentido, o presente trabalho representa um elo entre a qualidade dos produtos cárneos de origem avícola e o metabolismo que ocorre durante o processamento da mesma. Uma melhora significativa no trabalho seria realizar um maior número de coletas, adicionando pelo menos mais 60'' de intervalos (realizando mais uma coleta aos 180'' e outra aos 210'', para confirmação da estabilização das densidades das frações proteicas avaliadas). Outra parte que poderia ser adicionada ao presente trabalho seria a utilização de padrões comerciais para identificação de cada fração proteica demonstrada para que a análise fosse mais específica, identificando se a maior perda seria em porções maiores ou menores.

CONCLUSÃO

Com base nos argumentos apresentados e nos resultados analisados, é possível comprovar que existem perdas significativas de frações proteicas durante o *post mortem* de aves de interesse comercial, principalmente no que se refere à densidade das frações presentes nas proteínas sarcoplasmáticas. Por outro lado, não foi possível demonstrar variações nas mobilidades relativas das frações de forma intra-espécie, o que está de acordo com a literatura pesquisada. Entretanto, mesmo apresentando significativas perdas de frações proteicas, não foi possível identificar quais seriam estas porções, deixando espaço para que novas pesquisas sejam realizadas utilizando padrões comerciais de identificação de tais frações pesquisadas.

REFERÊNCIAS

1. Figueira PT. Caracterização eletroforética de proteínas musculares de aves de interesse comercial [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2011.
2. Dierckx SM, Ramos PRR, Bortolozzi J. Identificação das proteínas musculares de suínos submetidas à eletroforese em gel de poli(acrilamida) com Sódio Dodecil Sulfato (SDS). Arch Latinoam Prod Anim. 2004;12(1):8-11.
3. Gonzales E, Sartori JR. Crescimento e metabolismo muscular. In: Macari M, Furlan RL, Gonzales E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: Funep/Unesp; 2002. p.279-97.
4. Matheus DP, Rudge AC, Gomes GMM. Ocorrência de Salmonella spp. em carne de frango comercializada no município de Bauru, SP, Brasil. Rev Inst Adolfo Lutz. 2003;62(2):111-5.

5. Scheuermann GN, Bilgili SF, Tuzun S, Mulvaney DR. Comparison of chicken genotypes: myofiber number in pectoralis muscle and myostatin ontogeny. *Poult Sci.* 2004;83(8):1404-12.
6. Seibt EJ, Pedroso JAC, Ribeiro RV, Paiva D, Luz MLGS, Luz CAS, et al. Análise de viabilidade econômica de um aviário para a criação de aves de corte. In: XVIII CIC XI ENPOS I Mostra Científica; 2009; Pelotas. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas; 2009.
7. Souza-Soares LA, Siewerdt F. Aves e Ovos. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas; 2005.
8. Roça RO. Tecnologia da carne e produtos derivados. Botucatu: Departamento de Gestão e Tecnologia Agroindustrial, FCA, UNESP; 2000.
9. Souza EMT, Arruda SF, Brandão PO, Siqueira EMA. Análise eletroforética para detectar e quantificar soro de leite adicional em leite e bebidas lácteas. *Cienc Tecnol Aliment.* 2000;20(3):314-7.
10. Freitas AS, Lopes AB, Stephan MP, Cornejo FEP, Furtado AAL. Composição química e protéico-molecular da farinha de resíduos de camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*). *Bol Centro Pesqui Process Aliment.* 2002;20(1):111-20.
11. Hames BD, Rickwood D. Gel Electrophoresis of proteins: A practical approach. 2nd ed. New York: IRL Press; 1990.
12. Ramos PRR. Polimorfismo bioquímico de proteínas séricas do leite de vacas da raça holandês, puras por cruzamento, variedade malhada de preto [tese]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 1992.
13. Sarcinelli MF, Venturini KS, Silva LC. Características do Frango de Corte. *Boletim Técnico - PIE-UFES:01307* [Internet]. 2007 [cited 2013 May 17]. Available from: http://www.agais.com/telomc/b01307_caracteristicas_carnefrango.pdf.

Recebido em: 09/10/2013

Aceito em: 17/04/2015

DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE SUBSTÂNCIAS COM AÇÃO ANTIMICROBIANA NOS LEITES UAT E PASTEURIZADO COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE ITABUNA-BAHIA¹

Uílio Macks Barros Brito²
Leonara Martins de Souza²
Pedro Alexandre Gomes Leite³
Antônio Roberto da Paixão Ribeiro³

RESUMO

O leite é um alimento rico em nutrientes e bastante importante na dieta. A ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite pode trazer sérios riscos à saúde coletiva, além de trazer prejuízos para a indústria de laticínios. Foram analisadas 100 amostras de leite UAT de 17 marcas diferentes e 100 amostras de leite pasteurizado de três marcas diferentes comercializados nos principais estabelecimentos varejistas do município de Itabuna-BA. Realizou-se o teste de inibição de crescimento bacteriano com as bactérias teste *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis* semeadas em Ágar Mueller Hinton e observado a formação de halo de inibição em volta de papeis filtro mergulhados nas amostras de leite. No leite UAT, foram detectadas 34% de amostras positivas, sendo 8% para *Escherichia coli*, 7% para *Bacillus subtilis* e 19% para ambos. Já no leite pasteurizado, foram detectadas 27% de amostras positivas, sendo 7% para *Escherichia coli*, 11% para *Bacillus subtilis* e 9% para ambos. Observou-se uma alta frequência de resíduo de antibiótico nos leites estudados, devendo-se aumentar a fiscalização por parte dos órgãos responsáveis e realizar campanhas educativas mostrando os riscos provocados pela presença desses resíduos no leite consumido e, com isso, buscar a melhoria da qualidade do leite UAT e Pasteurizado comercializado na região pesquisada.

Palavras-chave: antimicrobiano, leite, qualidade, resíduo.

DETECTION OF RESIDUES OF SUBSTANCES WITH ANTIMICROBIAL ACTION IN THE UHT MILK AND PASTEURIZED MILK SOLD IN THE CITY OF ITABUNA-BAHIA

ABSTRACT

The milk is a rich food in nutritious and very important in the diet. The incidence of residues of antimicrobial in the milk can bring serious risks to the collective health, besides bringing damages to the industry of dairy products. They were analyzed 100 samples of UHT milk of 17 different marks and 100 samples of pasteurized milk of three different marks marketed in the principal retail establishments of the city of Itabuna-BA. It was realized the test of inhibition of bacterial growth with the test bacterias *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* sowed in Agar Mueller Hinton and the formation of halo of inhibition was observed around the filter papers plunged into the samples of milk. In the UHT milk, 34% positive samples were detected, being 8% for *Escherichia coli*, 7% for *Bacillus subtilis* and 19% for both of them. Already in the pasteurized milk, 27% positive samples were detected, being 7% for *Escherichia coli*, 11% for *Bacillus subtilis* and 9% for both. It was observed a high frequency

¹ Entidade financiadora da pesquisa: Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB

² Discente do curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Santa Cruz, - UESC

³ Docente do curso de Medicina Veterinária – Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais – UESC. Contato principal para correspondência

of residue of antibiotic in the milk samples studied, being necessary to increase the inspection by the responsible organs and to carry out educative campaigns showing the risks caused by the presence of these residues in the consumed milk and, with that, to look how to improve the quality of the UHT milk and Pasteurized milk sold in the investigated region.

Keywords: antimicrobial, milk, quality, residue.

DETECCION DE RESIDUOS DE SUSTANCIAS CON ACCION ANTIMICROBIANA EN LA LECHE UAT Y PASTEURIZADA COMERCIALIZADAS EN LA CIUDAD DE ITABUNA-BAHIA

RESUMEN

La leche es un alimento rico en nutrientes y muy importante en la dieta. La casualidad de residuos de antimicrobianos en la leche puede traer los serios riesgos a la salud colectiva, además de traer los daños y perjuicios a la industria de producto lácteos. Se analizaron 100 muestras de leche UAT de 17 marcas diferentes y 100 muestras de leche pasteurizados de tres marcas diferentes comercializadas en las principales tiendas minoristas en la ciudad de Itabuna-BA. Se realizó la prueba de inhibición de crecimiento bacteriano con las bacterias testes *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis* sembrados en el Agar Mueller Hinton y se observó la formación de halo de inhibición alrededor de los papeles de filtro sumergido en muestras de leche. En la leche UAT se detectaron 34% de las muestras positivas, mientras siendo 8% para *Escherichia coli*, 7% para *Bacillus subtilis* y 19% para ambos. Ya en la leche pasteurizada, se detectaron 27% de las muestras positivas, mientras siendo 7% para *Escherichia coli*, 11% para *Bacillus subtilis* y 9% para ambos. Se observó una alta frecuencia de residuo de antibiótico en las leches estudiadas, debe aumentar la supervisión de las agencias responsables y llevar a cabo campañas educativas que muestran los riesgos provocados por la presencia de estos residuos en la leche que se consumen y, con eso, mirar cómo mejorar la calidad de la leche UAT y leche Pasteurizada comercializada en la región estudiada.

Palabras clave: antimicrobiano, leche, calidad, residuo.

INTRODUÇÃO

O leite é o fluido secretado pelas glândulas mamárias de fêmeas mamíferas com a função de fornecer as necessidades nutricionais a seus filhotes (1). Comercialmente é denominado como leite sem nenhuma outra especificação o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (2).

É um alimento de consumo recomendado para todas as faixas etárias (3). É composto por cerca de 87% de água, 3,8% de gordura, 3,5% de proteínas, 4,9% de lactose e 0,8% de sais. Contém proteínas de alto valor biológico, boa digestibilidade das gorduras, é rico em cálcio e fósforo e possui notáveis quantidades de vitaminas A e B₂, além de exercer uma influência reguladora sobre a microbiota do trato intestinal tornando-se, assim, uma fonte importante de nutrientes para o homem (1,4). Além do valor nutritivo, o leite está entre os produtos mais importantes na agropecuária brasileira por sua participação na geração de renda e empregos (5).

O Leite fluido comercializado no Brasil é composto por leite pasteurizado e leite UAT (Ultra Alta Temperatura). Segundo o Centro de Inteligência do Leite - CILeite (6), em 2012, foram consumidos cerca de 10,9 bilhões de litros de leite no Brasil.

Entende-se por leite pasteurizado, o leite fluido elaborado a partir do leite cru, que tenha sofrido tratamento térmico com uma temperatura de 72° a 75°C por 15 a 20 segundos (2). E por leite UAT, o leite homogeneizado que foi submetido, durante 2 a 4 segundos, a uma temperatura de 130°C, mediante um processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32°C e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas (7).

O leite contaminado por substâncias químicas é considerado adulterado e impróprio para o consumo e a identificação de resíduos dessas substâncias no leite constitui um dos princípios fundamentais para a aplicação da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC). (5).

A ocorrência de resíduos de antibióticos no leite é um assunto com cada vez mais destaque na mídia e com grande impacto aos consumidores. São detectados com frequência, tanto no Brasil como em outros países, resíduos destes no leite (3,8,9).

Os resíduos presentes no leite consumido podem provocar, a depender da quantidade, riscos para a saúde pública, provocando reações de hipersensibilidade em indivíduos sensíveis, efeitos tóxicos, atividade carcinogênica, alteração da microbiota intestinal, aumento da resistência aos agentes antimicrobianos, que pode provocar dificuldades no tratamento de infecções (3,9,10). Podem também interferir nas características organolépticas dos produtos lácteos industrializados (5).

A indústria de laticínios também pode sofrer grandes prejuízos, pois a presença de resíduos de antibióticos no leite interfere na fermentação onde se utilizam culturas ácido lácticas para produção de queijos, iogurtes e manteigas (5,9,10).

Os antimicrobianos podem ser encontrados no leite por introdução voluntária e fraudulenta para prolongar a sua durabilidade (10,11).

A mastite bovina é uma doença multifatorial, de etiologia complexa e variada, com grande parte das infecções causadas por bactérias e se encontra disseminada em todas as regiões produtoras de leite no país. Constitui a principal fonte de resíduos de antibióticos em leite devido ao manejo inadequado de drogas no controle dessa doença (8,12,13).

Tenta-se globalmente reduzir a necessidade da utilização de agentes antimicrobianos e controlar o seu uso indevido (3). No Brasil, o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) proíbe a adição de qualquer substância química no leite destinado à alimentação humana (14).

A Instrução Normativa (IN) nº 62 de 29 de dezembro de 2011 define que os estabelecimentos beneficiadores devem realizar análise do leite para resíduo de antibiótico pelo menos uma vez por mês e proíbe o envio de leite de animais que estejam sendo submetidos a tratamento com medicamentos de uso veterinário, passíveis de eliminação pelo mesmo, devendo ser afastadas da produção durante o período recomendado pelo fabricante (2).

O leite produzido no Brasil está longe da qualidade desejada, o que tem gerado desenvolvimento de políticas de incentivo à produção leiteira (1). Com o objetivo de tentar minimizar a quantidade de resíduos de produtos veterinários e agrotóxicos encontrados nos produtos de origem animal e vegetal, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) criou o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC) (15).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), com o objetivo de avaliar e prevenir os riscos para a saúde, implantou no Brasil, em 2002, o programa de análise de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal (PAMvet) que visa controlar resíduos de medicamentos veterinários nos alimentos (16).

A detecção dos resíduos de antimicrobianos no leite pode ser feita por testes indiretos e diretos, sendo os métodos diretos os mais amplamente usados: testes de inibição microbiana, testes enzimáticos, aglutinação em látex, receptores microbianos, radio imunoenensaio, eletroforese e cromatografia. Esses testes podem, também, ser classificados como testes de

triagem e confirmatórios. O sistema de ensaio mais comum para a triagem tem sido o teste de inibição do crescimento bacteriano, qualitativamente muito eficiente (13,17).

Considerando os riscos para a saúde do consumidor causado pela ingestão de leite com resíduo de antibióticos e o risco para a saúde pública provocada por esses resíduos, objetivou-se com este trabalho detectar a presença de substâncias com ação antimicrobiana nos leites UAT e pasteurizado comercializados nos principais estabelecimentos varejistas do município de Itabuna-BA.

MATERIAL E MÉTODOS

Aquisição das amostras

Inicialmente foi feito um levantamento das marcas mais vendidas nos principais estabelecimentos varejistas do município de Itabuna, Bahia, sendo selecionadas 17 marcas de leite UAT e três marcas de leite pasteurizado. Foram analisadas as condições gerais do produto como local correto de armazenagem, data de validade e lote. Adquiriu-se 100 amostras de leite UAT e 100 amostras de leite pasteurizado. As amostras de leite foram encaminhadas imediatamente ao Laboratório de Microbiologia Veterinária do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), sendo o leite pasteurizado armazenado em bolsa isotérmica apropriada para efetuar o transporte.

Higienização da embalagem e do material

As embalagens, como são impermeáveis, foram lavadas com água e detergente neutro e desinfetadas com álcool 70°GL. Foi realizada a esterilização de todo o material a ser utilizado na abertura das embalagens em autoclave à 120°C com 1atm de pressão por 20min. As embalagens foram abertas próximo a chama azul do bico de Bunsen. Conforme descrito por Silva et al. (18).

Teste de Inibição do Crescimento Bacteriano

Foram inoculadas colônias isoladas em suspensão bacteriana em caldo TSB de *Escherichia coli* INCQS 00033 e *Bacillus subtilis* INCQS 00350 em placas de Petri com Ágar Mueller Hinton e espalhadas com auxílio da Alça de Drigalski. Retirou-se 2mL de cada amostra de leite e transferiu-se para frascos estéreis nos quais foram mergulhados 2 discos de papel filtro Whatman nº 3 com 6mm de diâmetro por 10 segundos com auxílio de pinça estéril. Os discos de papel foram transportados para as placas contendo *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis*. Em cada placa, foi feito o controle positivo com discos de papel mergulhados em penicilina e o controle negativo com discos de papel secos. Após esse procedimento, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica com a temperatura de 36°C por um período de 24h e posteriormente foi realizada a verificação da formação de halos de inibição de crescimento bacteriano. O teste foi baseado nas descrições de Pelayo et al. (19) e Biacchi et al. (20).

Análise estatística e interpretação dos resultados.

Foi realizada a análise estatística descritiva básica e os resultados foram interpretados segundo o RIISPOA (14) e a IN nº 62/2011 do MAPA (2).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 100 amostras de leite UAT, 34 (34%) apresentaram halo de inibição de crescimento bacteriano, sendo oito (8%) para *Escherichia coli*, sete (7%) para *Bacillus subtilis* e 19 (19%) para ambos. Já no leite pasteurizado, das 100 amostras, 27 (27%) apresentaram halo de inibição de crescimento bacteriano, sendo sete (7%) para *Escherichia coli*, 11 (11%) para *Bacillus subtilis* e nove (9%) para ambos. Na Figura 1, é possível observar a forma como se apresentou o resultado do teste.

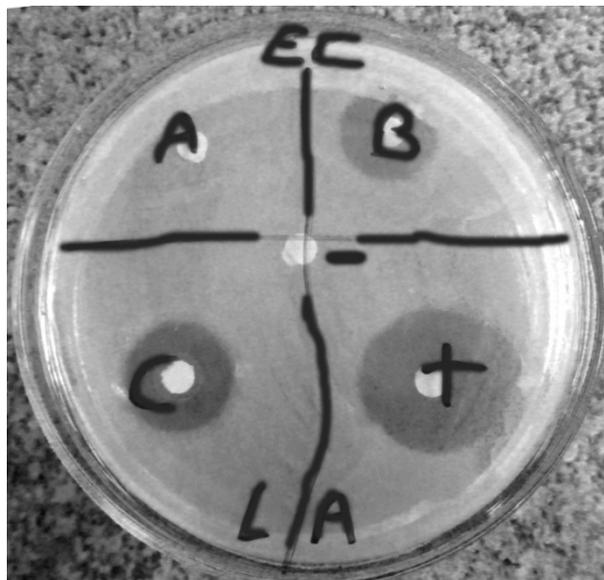


Figura 1. Na imagem, observam-se o controle negativo no centro da placa, o controle positivo no canto inferior direito, a amostra “A” no canto superior esquerdo com ausência de halo de inibição, sendo uma amostra negativa para presença de resíduo de antibióticos, e as amostras “B” e “C” no canto superior direito e inferior esquerdo, respectivamente, apresentam o halo de inibição de crescimento bacteriano, sendo amostras positivas para presença de resíduo de antibióticos.

Nascimento et al. (12) também pesquisando leite pasteurizado e UAT com metodologia semelhante em Piracicaba-SP encontraram 50% de amostras positivas, valores um pouco acima dos encontrados no presente estudo. Fonseca et al. (21) pesquisando resíduos de produtos com ação antimicrobiana em leite UAT em diferentes regiões do Brasil acharam 4% de amostras positivas. Barros et al. (4), Sousa et al. (22), Borges et al. (11) e Vieira et al. (23) analisando leite pasteurizado encontraram respectivamente 38,5%, 76,6%, 9,98% e 19% de amostras positivas. Pelayo et al. (19), em Londrina-PR, pelo método de inibição de crescimento bacteriano usando como bactéria teste o *Bacillus stearothermophilus*, encontraram 5,11% e 3,85% de amostras positivas em leite cru e pasteurizado, respectivamente. Nero et al. (8), pesquisando leite cru em várias regiões do país, encontraram 11,4% de amostras positivas. Esses dados diferem de Carvalho et al. (24) que, pesquisando leite cru no interior do estado do Maranhão, não encontraram resíduos nas amostras analisadas. A discrepância dos resultados encontrados nos diferentes trabalhos pode ser explicada pelas diferentes regiões geográficas e diferentes tipos de leite analisados. (17).

A presença de resíduos de substâncias com ação antimicrobiana encontrada no leite, nessa pesquisa, pode ser explicada devido ao uso indiscriminado de medicamentos veterinários sem respeitar o período de carência recomendado nas propriedades leiteiras antes de serem encaminhadas para o processamento do leite. Contudo, não se deve descartar a possibilidade de adição proposital de antimicrobianos no leite na tentativa de conter a proliferação de bactérias aumentando consequentemente a sua durabilidade.

O uso de saneantes em quantidade elevada ou falha no processo de higienização pode deixar resíduos desses agentes com ação antimicrobiana. Existem também inibidores naturais no leite que tem ação microbiana como a lactoperoxidase, aglutinas, lactoferrinas e bacteriófagos presentes em vacas com mastite (11-13).

Deve-se considerar também que o teste analisado se limita a detectar apenas substâncias para as quais as bactérias teste são sensíveis, podendo, assim, apresentar amostras falso-negativas e provavelmente uma frequência mais elevada do que a encontrada nessa pesquisa. Além disso, esse tipo de teste é apenas qualitativo, não podendo se analisar com ele a quantidade de resíduo presente nas amostras estudadas.

A pesquisa revela que o leite UAT e pasteurizado comercializados no município de Itabuna possuem resíduos de substâncias com ação antimicrobiana em uma frequência elevada, podendo trazer sérios riscos à saúde do consumidor e sérios problemas para a saúde pública.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que a presença de resíduos de substâncias com ação antimicrobiana em leite UAT e pasteurizado comercializados no município de Itabuna pode ser considerada preocupante. Deve-se aumentar a fiscalização por parte dos órgãos responsáveis e pelos laticínios na recepção do leite. É necessário, também, realizar campanhas educativas para os produtores, laticínios e consumidores enfatizando os prejuízos causados pela presença desses resíduos no leite para a saúde do consumidor e, dessa forma, tentar melhorar a qualidade do leite comercializado na região estudada.

REFERÊNCIAS

1. Martins PF, Andrade HV. Identificação de resíduos de antibióticos na recepção de leite cru pré-beneficiado como perigo potencial para implantação do plano APPCC em laticínios. FAZU Rev. 2011;8:108-14
2. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 62 de 29 de dezembro de 2011. Dispõe sobre regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, do leite cru refrigerado, do leite pasteurizado e o regulamento técnico da coleta de leite cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Brasília: Diário Oficial da União. 2011 Dec 30;Seç.1: 6.
3. Marques AMOLP. Avaliação de resultados da implementação de um programa de auto-controle de resíduos de antibióticos em explorações leiteiras do norte de Portugal entre 2002 e 2005, 2011 [dissertação] Porto: Faculdade de Medicina, Universidade de Porto; 2011.
4. Barros GMS, Jesus NM, Silva MH. Pesquisa de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado tipo C, comercializado na cidade de Salvador. Rev Bras Saúde Prod. 2001;2(3):69-73.
5. Silva MVM, Sarmiento AMC, França AP. Resíduos de antibióticos no leite e seus efeitos na saúde pública: uma preocupação constante. In: Anais do 35º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária; 2008 Out 19-22; Gramado, Brasil. Gramado: COMBRAVET; 2008. CDRom.

6. Centro de Inteligência do Leite. CILeite. Panorama do Leite: o consumo do leite em números [Internet]. São Paulo: CIL; 2013 [cited 2013 Jun 3]. Available from: <http://www.cileite.com.br>.
7. Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária (MAARA). Portaria Nº 146, de 07 de março de 1996. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. Diário Oficial da União. 1996 Mar 11;Seç.1: 3977-886.
8. Nero LA, Mattos MR, Beloti V, Barros MAF, Franco BDGM. Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no Brasil. Ciênc Tecnol Aliment. 2007;27:391-3.
9. Coradin MA, Andrade UVC, Hartmann W. Resíduos de medicamentos veterinários e contaminantes em leite exposto para consumo. In: Anais do 14º Seminário de Pesquisa; 2010; Curitiba, Brasil. Curitiba: Universidade Tuiuti do Paraná; 2010. CDRom.
10. Almeida LP, Vieira RL, Rossi DA, Carneiro AL, Rocha ML. Resíduos de antibióticos em leite de propriedades rurais da região de Uberlândia-MG. Biosc J. 2003;19:83-7.
11. Borges GT, Santana AP, Mesquita AJ, Mesquita SQP, Silva LAF, Nunes VQ. Ocorrência de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado integral e padronizado produzido e comercializado no estado de Goiás. Ciênc Anim Bras. 2000;1:59-63.
12. Nascimento GGF, Maestro V, Campos MSP. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. Rev Nutr. 2001;14:119-24.
13. Santos AFS, Duarte KMR, Pozzi CR. Detecção de resíduos de antimicrobianos no leite. Cient Ciênc Biol Saúde. 2011;13:205-12.
14. Ministério da Agricultura. Decreto nº 30.691 de 29.03.52, alterado pelo decreto nº 2.244 de 04.06.1997. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). 1950. 165p. Brasília: Diário Oficial da União. 1997 Jun 5;Seç. I: 11555-8.
15. Ministério da Agricultura. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa Nº 42 de 20 de dezembro de 1999. Diário Oficial da União. 1999 Dez 12;Seç. 1: 213.
16. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa de análise de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal – PAMVet. Relatório 2006/2007 - Monitoramento de resíduos em leite exposto ao consumo. Brasília: Ministério da Saúde; 2009.
17. Macedo LCS, Freitas JA. Ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite. Rev Ciênc Agrár. 2009;52:147-57.
18. Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Varela; 1997.
19. Pelayo JS, Saridakis HO, Antunes LAF, Falcão DP. Detecção de resíduos antimicrobianos no leite cru e pasteurizado tipo C, comercializado na região de Londrina-Paraná Brasil. Semina. 1991;11:89-91.

20. Biacchi NC, Jorge AOC, Ueno M. Detecção de resíduos antibióticos em leite bovino na região do Vale do Paraíba, São Paulo. *Rev Biocienc.* 2004;10(1-2):47-9.
21. Fonseca GP, Cruz AG, Faria JAF, Silva R, Moura MRL, Carvalho LMJ. Antibiotic residues in Brazilian UHT milk: a screening study. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2009;29:451-3.
22. Sousa FC, Oliveira ENA, Santos DC, Silva EFM. Ocorrência de resíduos de antibióticos em leites pasteurizados comercializados no estado do Ceará - Brasil. *Rev Verde.* 2010;5:10-4.
23. Vieira TSWJ, Ribeiro MR, Nunes MP, Machinski Jr M, Netto DP. Detecção de resíduos de antibióticos em amostras de leite pasteurizado do Estado do Paraná, Brasil. *Semina: Ciên Agrár.* 2012;33:791-6.
24. Carvalho APC, Castro FM, Kawabata CY, Tenório TGS, Vieira EL. Pesquisa de resíduos de antibióticos em amostras de leite cru no município de Araisosés-MA. *Rev Tróp Ciênc Agrár Biol.* 2012;6:22-6.

Recebido em: 21/06/2013

Aceito em: 24/04/2015

CARACTERÍSTICAS MORFOGÊNICAS E ESTRUTURAIS DO CAPIM-PIATÃ EM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA¹

Andréia da Cruz Quintino²
Roberto Giolo de Almeida
Joadil Gonçalves de Abreu
Manuel Claudio Motta Macedo

RESUMO

Objetivou-se avaliar as características morfogênicas e estruturais do capim-piatã em monocultivo e em consórcio com sorgo de corte e pastejo na rebrotação de outono-inverno, em sistema de integração lavoura-pecuária. O experimento foi realizado em área da Embrapa Gado de Corte, em Campo Grande - MS (20°27' S; 54°37' W), 530 m de altitude. O delineamento experimental foi de blocos completos casualizados com dois tratamentos e quatro repetições. As características morfogênicas e estruturais avaliadas foram: taxa de aparecimento foliar (TapF), filocrono, taxa de alongamento lâmina foliar (TAIF), taxa de alongamento do colmo, comprimento final das lâminas foliares (CFF), número de folhas vivas por perfilho (NFV), duração de vida das folhas (DVF). A TapF média foi 0,090 folha dia⁻¹, valor considerado alto. A TAIF e DVF apresentaram 5,59 cm dia⁻¹ e 85,60 dias, respectivamente, também são resultados altos para o período seco do ano. Nas características estruturais, o NFV foi de 7,25 folhas perfilho⁻¹, o CFF demonstrou valor de 31,90 cm perfilho⁻¹, considerado baixo, que pode ser resultado do menor comprimento do colmo. A rebrotação do capim-piatã não sofre interferência da consorciação com sorgo nas suas características estruturais e morfogênicas.

Palavras-chave: *Brachiaria brizantha*, outono-inverno, sorgo, taxa de alongamento foliar.

MORPHOGENETIC AND STRUCTURAL CHARACTERISTICS OF GRASS PIATÃ IN SYSTEM CROP-LIVESTOCK INTEGRATION

ABSTRACT

The objective was to evaluate the morphogenesis and structural of grass Piatã in single and intercropped with sorghum cutting and regrowth in grazing autumn-winter in integrated crop-livestock. The experiment was conducted in the area of Embrapa Beef Cattle, Campo Grande-MS (20 ° 27 'S, 54 ° 37' W), 530 m altitude. The experimental design was a randomized complete block with two treatments and four replications. The evaluated traits were evaluated: leaf appearance rate, phyllochron, leaf elongation rate, stem elongation rate, final length of leaf blade, number of leaves per tiller, leaf life span and rate of leaf senescence. The average leaf appearance rate was 0,090 day⁻¹ sheet, which is considered high. The leaf life span and leaf elongation rate had 5.59 cm day⁻¹ and 85,60 days, respectively, are also high results for the dry season. In the structural characteristics, the number of leaves per tiller was 7,25 leaves tiller⁻¹, final length of leaf blade has demonstrated value of 31.90 cm -1 tiller, considered low, which may result from lower culm length. The regrowth of grass Piatã is not interfered by intercropping with sorghum in the morphogenetic and structural characteristics.

Keywords: *Brachiaria brizantha*, autumn-winter, sorghum, leaf elongation rate.

¹ Apoio e financiamento: FUNDECT, EMBRAPA, CNPq.

² Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). Contato principal para correspondência.

MORFOGENÉTICA Y LAS CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DEL PASTO PIATÃ INTEGRACIÓN CULTIVO-GANADERÍA

RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo evaluar las características morfogénicas y estructurales del pasto Piatã en monocultivo y cultivos asociados con el corte del sorgo y el pastoreo en el rebrote de otoño-invierno en el sistema de cultivo-ganadería. El experimento se llevó a cabo en los ganados vacunos de la Embrapa, Campo Grande - MS (20° 27'S, 54° 37'W), 530 m de altitud. El diseño experimental fue de bloques completos al azar con dos tratamientos y cuatro repeticiones. Se evaluaron las características morfogénicas y estructurales: tasa de aparición foliar (TapF), filocrón, tasa de alargamiento de la lámina foliar (TAIF), tasa de alargamiento del tallo, longitud final de láminas foliares (CFF), número de hojas verdes por tallo (NFV), la vida útil de las hojas (DVF). La TapF promedio fue de 0.090 hoja día⁻¹, que se considera alto. La TAIF y DVF tenían 5,59 cm día⁻¹ y 85,60 días, respectivamente, son también altos resultados para la estación seca. Características estructurales, NFV era 7.25 hojas timón⁻¹, CFF demostró valor 31,90 cm timón⁻¹, que fue baja, lo cual puede ser consecuencia de una menor longitud de caña. El rebrote de la hierba Piatã no interfirió el cultivo intercalado con sorgo en su morfogénesis estructural y morfogénicas.

Palabras clave: *Brachiaria brizantha*, otoño-invierno, sorgo, tasa de alargamiento de la hoja.

INTRODUÇÃO

Na região dos Cerrados, é crescente a adoção, por parte dos produtores, de sistemas integrados de lavoura e pecuária, por meio da consorciação, rotação e/ou sucessão de culturas de grãos com forrageiras.

A integração lavoura-pecuária pode ser definida como o sistema que integra duas atividades com a finalidade de maximizar o uso da terra, da infraestrutura e da mão de obra; diversificar e verticalizar a produção; minimizar custos, diluir os riscos e agregar valores aos produtos agropecuários, por meio dos benefícios que uma atividade proporciona à outra. Dentro desse conceito, as áreas de lavouras dão suporte à pecuária por meio da produção de alimento para o animal, seja na forma de grãos, silagem, feno ou pasto, aumentando a capacidade de suporte da propriedade, de modo a permitir a venda de animais na entressafra e proporcionar melhor distribuição de receita durante o ano (1).

A *Brachiaria brizantha* cv. BRS Piatã foi selecionada após 16 anos de avaliações pela Embrapa Gado de Corte, a partir de material coletado na década de 1980, na região de Welega, na Etiópia, África, sendo lançada em maio 2007. É uma planta de crescimento ereto e hábito cespitoso de porte médio, com colmos verdes e finos. As bainhas foliares têm poucos pelos e a lâmina foliar é glabra. A lâmina é áspera na face superior, tem bordas serrilhadas e cortantes. Sua inflorescência diferencia das atuais cultivares disponíveis de *Brachiaria brizantha* por apresentar maior número de racemos (até 12) quase horizontais, com pelos longos e claros nas bordas, espiguetas sem pelos e arroxeadas no ápice (2), constitui opção em sistemas de integração lavoura-pecuária.

Essa forrageira floresce precocemente, no início do verão, com maior acúmulo de folhas, apesar de apresentar menor massa de forragem que o capim-xaraés, seus colmos são mais finos, o que favorece o manejo, na época seca (3).

Os sistemas integrados possuem condições de meio peculiares, tais como manutenção da umidade no solo, sombreamento e maior disponibilidade de nutrientes oriundos da mineralização da matéria orgânica, competição pelos recursos, fatores que podem influenciar diretamente os padrões de crescimento e desenvolvimento da forrageira. Nesse sentido, a

morfogênese do capim-piatã em sistema de integração lavoura-pecuária torna-se uma importante forma de avaliar a rebrotação e a produção forrageira, uma vez que o rápido restabelecimento dos padrões de crescimento é fundamental para a sustentabilidade do sistema.

Dessa forma, torna-se essencial que estudos de dinâmica de produção das gramíneas forrageiras a partir de avaliações de características morfogênicas e estruturais sejam conduzidos a fim de gerar conhecimentos básicos para definição de estratégias adequadas de manejo, sobretudo quando se considera que, para plantas de clima tropical, o impacto da estratégia de manejo do pastejo sobre suas características morfogênicas ainda é pouco conhecido (4).

Assim, objetivou-se avaliar as características morfogênicas e estruturais do capim-piatã em monocultivo e em consórcio com sorgo de corte e pastejo na rebrotação de outono-inverno em sistema de integração lavoura-pecuária.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em área da Embrapa Gado de Corte, em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, (20°27' S e 54°37' W) com 530 m de altitude. O clima, segundo KÖPPEN, encontra-se na faixa de transição entre Cfa e Aw tropical úmido. O solo da área experimental se caracteriza como Latossolo Vermelho, eutrófico de textura argilosa (5), em uso por dezesseis anos, com soja, em sistema de plantio na palhada, da gramínea, cultivada no período da entressafra (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados das análises químicas de amostra de Latossolo Vermelho, eutrófico, na profundidade de 0-20 cm.

Identificação	pH		Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	K ⁺	Al ⁺³	H+Al	S	T	t	V	m	C	K ⁺
	CaCl ₂	SMP	cmolc dm ⁻³								%			mg dm ⁻³
Capim monocultivo	5,82	6,74	4,16	2,06	0,48	0,01	2,57	6,70	9,27	6,71	71,59	0,12	0,36	187,09
Consórcio	5,82	6,76	4,07	2,08	0,37	0,00	2,49	6,52	9,01	6,53	72,17	0,05	0,36	146,15

O experimento foi conduzido de julho a setembro de 2009. Durante o período experimental, a precipitação pluvial total foi de 181 mm, valores extremamente altos para esta época do ano. Durante o período experimental, os dados climáticos foram registrados na estação meteorológica da Embrapa Gado de Corte (Figura 1).

As forrageiras foram semeadas no mês de abril, com semeadora de plantio direto sobre os restos culturais da soja, sendo duas operações mecanizadas sequenciais, primeiro o capim e depois o sorgo. Para os dois sistemas de cultivo, o espaçamento entrelinhas do capim-piatã foi de 0,25 m e o do sorgo 0,45 m. A densidade de semeadura foi de 250 pontos de valor cultural (VC) para o capim-piatã com 50% de VC e de 54 sementes por metro quadrado para o sorgo, utilizando-se sementes com 98% de germinação mínima. Não foi realizada adubação na implantação das forrageiras, objetivando o aproveitamento da adubação residual da soja, sendo que na safra seguinte a mesma é adubada de acordo com análise de solo e expectativa de produção.

A emergência do capim foi de 5 a 7 dias e para o sorgo, de 2 a 4 dias. Antes do início das avaliações, foi realizado o corte de uniformização (98 dias após a semeadura) a 0,20 m do nível do solo, por meio de roçadeira costal. A avaliação das características morfogênicas e estruturais do capim-piatã em monocultivo e em consórcio foi feita em área amostral de 1,0 m x 7,0 m, totalizando oito unidades experimentais.

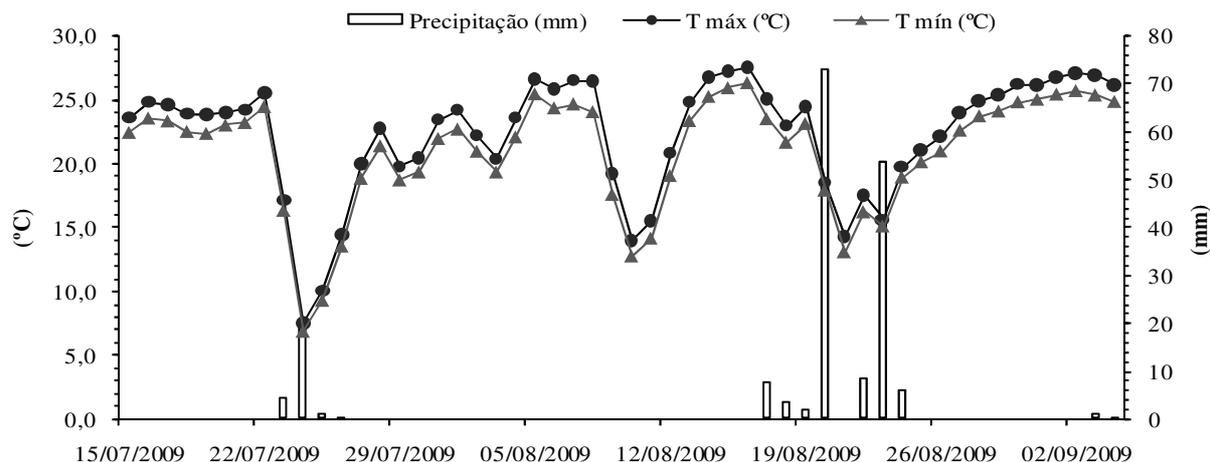


Figura 1. Variação da temperatura máxima (T máx), mínima (T mín) e precipitação (mm) durante o período experimental.

A marcação dos perfilhos foi realizada sete dias após o corte de uniformização (98 dias após a semeadura). As características morfogênicas e estruturais foram avaliadas em intervalos regulares de sete dias, devido a ser no período seco, durante 49 dias, entre 15/7/2009 a 2/9/2009, em cinco perfilhos selecionados ao acaso em cada parcela. Esses perfilhos foram identificados com fios plásticos coloridos e com hastes de arame com fita colorida para facilitar sua localização.

Por meio do uso de régua milimetrada, registrou-se o comprimento das folhas expandidas, medindo-se desde a extremidade da folha até sua lígula. No caso de folhas em expansão, o mesmo procedimento foi adotado, porém, considerou-se a lígula da última folha expandida como referencial de mensuração. Para folhas em senescência, o comprimento correspondeu à distância no local onde o processo de senescência avançou até a lígula da folha. O tamanho do colmo foi mensurado como a distância desde a superfície do solo até a lígula da folha mais jovem completamente expandida. Também foi registrado o momento do aparecimento de cada folha emitida pelos perfilhos durante o período de avaliação (6).

Com base nessas informações, foi possível calcular as seguintes características morfogênicas:

- taxa de aparecimento foliar (TApF, em folha dia⁻¹): relação entre o número de folhas surgidas por perfilho e o número de dias do período de avaliação;
- filocrono (FILOC, dias folha⁻¹): recíproca a taxa de aparecimento foliar (1/TAPF);
- taxa de alongamento foliar (TAIF, cm dia⁻¹): relação entre o somatório de todo alongamento das lâminas foliares (cm) e o número de dias do período de avaliação;
- duração de vida das folhas (DVF, dias): estimada pela equação proposta por (15): (DVF=NFV x FILOC).

Foram calculadas as seguintes características estruturais:

- taxa de alongamento do colmo (TAIC, cm dia⁻¹): relação entre a diferença do comprimento do pseudocolmo no final e no início e o número de dias do período de avaliação;
- comprimento final das lâminas foliares (CFF, cm perfilho⁻¹): comprimento médio das lâminas foliares de todas as folhas expandidas presentes em um perfilho, mensuradas do ápice foliar até sua lígula;
- número de folhas vivas por perfilho (NFV, folhas perfilho⁻¹): média do número de folhas em expansão e expandidas por perfilho durante o período de avaliação, excetuando-se as folhas senescentes que tivessem mais de 50% do comprimento de seu limbo foliar senescido.

Os dados foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade, por meio do aplicativo estatístico SAEG versão 5.0, 1993.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As características morfológicas e estruturais do capim-piatã não foram influenciadas pelo consórcio com sorgo de corte e pastejo (Tabela 2).

O efeito das qualidades físicas e químicas do solo, conforme análise de solo, somando o uso com lavoura há dezesseis anos (sistema de plantio direto) e a alta precipitação durante o período seco podem ter influenciado nas características avaliadas. Nesse sentido, a TApF (taxa de aparecimento foliar) média do capim-piatã foi de 0,090 folha dia⁻¹ valor que pode ser considerado alto. Segundo Sbrissia, avaliando a morfogênese do capim-marandu sob lotação contínua, em Piracicaba - SP, observou TApF de 0,035 e 0,089 folha dia⁻¹, nos períodos de seca e águas, respectivamente.

Tabela 2. Características morfológicas e estruturais do capim-piatã em monocultivo e em consórcio com sorgo de corte e pastejo.

Variável ¹	Capim	Consórcio	CV ²
<i>Características morfológicas</i>			
³ TApF (folha dia ⁻¹)	0,090 a	0,090	a 5,87
⁴ Filoc (dias folha ⁻¹)	11,70 a	11,15	a 5,97
⁵ TAIF (cm dia ⁻¹)	5,59 a	4,13	a 28,00
⁶ Haste (cm)	30,60 a	23,90	a 12,02
⁷ DVF (dias)	85,60 a	69,50	a 30,61
<i>Características estruturais</i>			
⁸ TAIC (cm dia ⁻¹)	0,15 a	0,10	a 33,01
⁹ NFV (folhas perfilho ⁻¹)	7,25 a	6,25	a 27,21
¹⁰ CFF (cm perfilho ⁻¹)	31,90 a	34,00	a 20,24

¹Médias seguidas de mesma letra, na horizontal, não diferem entre si pelo teste F (P>0,05). ²CV: coeficiente de variação. ³TApF: taxa de aparecimento foliar (folha dia⁻¹); ⁴Filoc: filocrono (dias folha⁻¹); ⁵TAIF: taxa de alongamento lâmina foliar (cm dia⁻¹); ⁶Haste: comprimento da haste (cm); ⁷DVF: duração de vida das folhas (dias); ⁸TAIC: taxa de alongamento de colmos (cm dia⁻¹); ⁹NFV: número de folhas vivas por perfilho (folhas perfilho⁻¹); ¹⁰CFF: comprimento final de lâmina foliar (cm perfilho⁻¹).

Trabalhando na mesma localidade anterior, com capim-xaraés submetido à lotação rotacionada (8), observou TApF de 0,088 folha dia⁻¹ no verão. Igualmente, (9), avaliando 10 cultivares de *Brachiaria* sob crescimento livre, em Viçosa – MG, observaram TApF de 0,090 folha dia⁻¹ para as cultivares piatã e marandu, de *Brachiaria brizantha*, durante o período das águas e transição águas-seca, em experimento que não foi conduzido em sistema de integração lavoura-pecuária, sendo o solo classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo, com textura franco-argilosa.

A resposta da TApF à consorciação foi, em princípio, inesperada, uma vez que as condições no microambiente que são proporcionadas pela presença da cultura consorciada levam à ocorrência de competição por recursos do meio. Respostas normalmente observadas sob estas condições não foram verificadas, uma vez que as taxas de senescência de folhas, alongamento de colmos e o comprimento final do colmo foram baixas em ambos sistemas. A taxa de aparecimento de folhas é considerada a característica central da morfogênese, uma vez

que influencia diretamente cada um dos componentes estruturais e, conseqüentemente, o índice de área foliar do pasto (10).

A não ausência de efeito da consorciação com sorgo de corte e pastejo sobre a morfogênese do capim-piatã, permite sugerir que o consórcio entre estas plantas não altera o desenvolvimento do capim, podendo esta ser considerada como estratégia para a produção de forragem na entressafra em sistemas de integração lavoura-pecuária, sem prejudicar o plantio direto da cultura subsequente. Com o sinergismo existente, é possível adiantar a entrada dos animais na área, uma vez que o sorgo tem maior precocidade, e também se consegue assegurar a produção de palhada pelo capim-piatã (11). Como não houve diferença entre os sistemas de cultivo, sugere-se que o capim-piatã possa ser manejado da mesma forma em relação à intensidade e frequência de pastejo, nos dois sistemas, sem prejuízo para o estabelecimento e desenvolvimento da forrageira.

Quando comparados aos resultados de Silveira et al. (9) que avaliaram capins do gênero *Brachiaria* (capins piatã, decumbens, marandu, xaraés e arapoty), os valores de NfV (número de folhas vivas por perfilho), DVF (duração de vida da folha), TAlF (taxa de alongamento de lâmina foliar) encontrados no presente trabalho na condição de monocultivo, foram superiores em 20,90; 9,70 e 80,32%; respectivamente. Esse fato pode ser explicado pela maior disponibilidade de fatores de crescimento como luminosidade, nutrientes e água devido às condições edafoclimáticas em que foi realizado o experimento. Assim, as folhas se mantiveram fotossinteticamente ativas por mais tempo devido do aumento do número de folhas vivas e da duração de vida das folhas. Provavelmente, o efeito do solo com valores altos de potássio ($187,09 \text{ mg dm}^{-3}$), cálcio ($4,16 \text{ cmolc dm}^{-3}$), magnésio ($2,06 \text{ cmolc dm}^{-3}$), e resultados adequados de saturação por bases de 71,59% e pH 5,82, tenham sido determinantes para a TAlF, que apresentou valor médio de $4,85 \text{ cm dia}^{-1}$. De acordo com Alexandrino et al. (12) que avaliaram a produção de capim-marandu, o efeito das doses de nitrogênio proporcionaram incremento no vigor da rebrotação.

Para CFF, esperava-se que o valor fosse superior ao encontrado por Silveira et al. (9), pois o CFF é diretamente relacionado com TAIC. Por outro lado, o menor CFF também pode ser resultado do menor comprimento do colmo. Braz, Santos, Gomes (13) observaram correlação positiva entre as variáveis CFF e TAIC e atribuíram este efeito ao aumento da TApF. No entanto, esta variável não foi influenciada pela consorciação e se manteve em valores baixos no presente trabalho.

De acordo com Skinner e Nelson (14), o maior comprimento da bainha, comum em pseudocolmos de perfilhos adubados com altas doses de N, promove menor taxa de aparecimento de folhas, o que pode ser explicado pela maior distância a ser percorrida pela folha até sua emergência. Essa afirmativa não corrobora com os resultados observados nesse estudo, no qual o menor comprimento do colmo se associou à baixa taxa de aparecimento de folhas.

A não observação de efeito do sistema de cultivo indica que as condições proporcionadas pela consorciação durante a rebrotação de inverno não foram suficientes para limitar o desenvolvimento da forrageira consorciada. O filocrono, definido como o intervalo de tempo decorrido entre o aparecimento de duas folhas consecutivas, ou seja, o tempo necessário para a formação de uma nova folha, é o inverso da TApF (15). Assim, da mesma forma que não houve efeito dos tratamentos sobre a TApF, o filocrono não foi influenciado pela consorciação. Os resultados médios de filocrono foram de 11 dias folha⁻¹, semelhantes aos encontrados por Silveira et al. (9) que foram de 12,72 dias folha⁻¹. Com isso, pode-se inferir que o capim-piatã pode ser desfolhado com a mesma frequência em ambos os sistemas de cultivo, sem prejuízo para o desenvolvimento da planta nas condições de inverno chuvoso.

A duração de vida das folhas é mais bem entendida quando analisada em conjunto com a TAlF e a TApF, pois plantas com menor TAlF e maior TApF tendem a apresentar menor

longevidade. Esse seria um mecanismo de ajuste para que o número de folhas verdes, que é fortemente influenciado pelo genótipo, possa ser mantido (9).

A senescência é intensificada quando o dossel alcança seu índice de área foliar crítico, onde nem todo incremento de radiação incidente sobre o dossel é refletido em incremento em área foliar (16). No presente trabalho, o IAF crítico foi de 4,64 no capim em monocultivo, valor que está dentro da faixa preconizada, que é de 3 a 5. No entanto, o capim no sistema consorciado obteve IAF em torno de 1,89, resultado muito inferior ao preconizado.

Para uma maior TApF, sugere-se que o NFV também se apresente maior. Assim, os resultados encontrados para este trabalho são superiores aos obtidos por Sbrissia (7), Curcelli (8) e Silveira et al.(9), que encontraram 4,3; 6,0 e 3,0 folhas perfilho⁻¹, respectivamente. Esse fato pode ser explicado pelas condições ambientais atípicas do período experimental, em que a umidade e as condições de solo possam ter favorecido o desenvolvimento e a manutenção de vida das folhas.

CONCLUSÃO

A consorciação entre capim-piatã e sorgo de corte e pastejo não interfere nas características morfológicas e estruturais do capim-piatã em condições de inverno chuvoso, sendo uma alternativa para integração lavoura-pecuária.

REFERÊNCIAS

1. Mello LMM, Yano EH, Narimatsu KCP, Takahashi CM, Borghi E. Integração agricultura-pecuária em plantio direto: produção de forragem e resíduo de palha após pastejo. Eng Agríc. 2004;24:121-9.
2. Lupatini GC. Produção, características morfológicas e valor nutritivo de cultivares de *Brachiaria brizantha* submetidas a duas alturas de resíduo [tese]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; 2010.
3. Valle CB, Euclides VPB, Valério JR, Macedo MCM, Fernandes CD, Dias Filho MB. *Brachiaria brizantha* cv. Piatã: uma forrageira para diversificação de pastagens tropicais. See New. 2007;11:28-0.
4. Carvalho CAB, Silva C, Sbrissia AF, Pinto LFM, Carnevalli RA, Fagundes JL, et al. Demografia de perfilhamento e taxas de acúmulo de matéria seca em capim “tifton 85” sob pastejo. Sci Agric. 2000;57:591-60.
5. Embrapa. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Brasília: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1999. 412p.
6. Martuscello JA, Fonseca DM, Nascimento Júnior D, Santos PM, Ribeiro Junior JI, Cunha DNFV, et al. Características morfológicas e estruturais do capim-xaraés submetido à adubação nitrogenada e desfolhação. R Bras Zootec. 2005;34:1475-82.
7. Sbrissia AF. Morfogênese, dinâmica do perfilhamento e do acúmulo de forragem em pastos de capim-marandu sob lotação contínua [tese]. São Paulo: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”; 2004.

8. Curcelli F. Respostas morfogênicas e dinâmica de acúmulo de forragem do capim-xaraés [*Brachiaria brizantha* (A. Rich.) Stapf. cv. Xaraés] submetido a estratégias de pastejo rotativo [dissertação]. São Paulo: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”; 2009.
9. Silveira MCT, Nascimento Júnior D, Silva SC, Euclides VPB, Montagner DB, Sbrissia AF. Morphogenetic and structural comparative characterization of tropical forage Grass cultivar under free growth. *Sci Agric*. 2010;67:136-42.
10. Difante GS, Nascimento Júnior D, Silva SC, Euclides VPB, Montagner DB, Silveira MCT, et al. Características morfogênicas e estruturais do capim-marandu submetido a combinações de alturas e intervalos de corte. *R Bras Zootec*. 2011;40:955-63.
11. Rodrigues JAS. Híbridos de sorgo sudão e sorgo bicolor: alternativa de forrageira para corte e pastejo. Sete Lagoas, MG: Embrapa Milho e Sorgo, 2000. 22 p. (Embrapa-CNPMS. Circular Técnica, 4).
12. Alexandrino E, Nascimento Júnior D, Regazzi AJ, Mosquim PR, Rocha FC, Sousa DP. Produção de massa seca e vigor de rebrotação da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu submetida a diferentes doses de nitrogênio e frequências de cortes. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2003;40:141-7.
13. Braz TGS, Santos MER, Gomes VM. Interdependência entre características do fluxo de tecidos do capim-braquiária. *Enc Biosf*. 2010;6:1-9.
14. Skinner RH, Nelson CJ. Elongation of the grass leaf and its relationship phyllochron. *Crop Sci*. 1995;35:4-0.
15. Lemaire G, Chapman D. Tissue flows in grazed plant communities. In: Hodgson J, Illius AW. (Eds.) *The ecology and management of grazing systems*. Wallingford: CAB International, 1996. p.3-6.
16. Pedreira BC, Pedreira CGS, Silva SC. Estrutura do dossel e acúmulo de forragem de *Brachiaria brizantha* cultivar Xaraés em resposta a estratégias de pastejo. *Pesq Agropec Bras*. 2007;42:281-7.

Recebido em: 15/12/2013

Aceito em: 17/08/2015

FORMAÇÃO DE EDUCADORES MULTIPLICADORES PARA VIGILÂNCIA E PREVENÇÃO DE ZOOSE EM MUNICÍPIO DE MÉDIO PORTE NO BRASIL: DA ANÁLISE DAS NECESSIDADES EM SAÚDE À APLICAÇÃO PRÁTICA DE RESULTADOS

Tassia Cristina Bello de Vasconcelos¹

RESUMO

A susceptibilidade das crianças às zoonoses evidencia a importância de ações de educação em saúde junto a esse público. Com o objetivo de promover uma experiência diferenciada na prevenção de tais doenças, estabeleceu-se uma parceria entre as Secretarias de Saúde e Educação de Resende, estado do Rio de Janeiro. Foi feito um levantamento de necessidades temáticas regionais em saúde, por meio da análise de dados disponibilizados pelo Ministério da Saúde e pela Secretaria Estadual de Saúde e um curso foi elaborado e disponibilizado a professores da rede municipal de ensino. A adesão foi voluntária e contou com grande participação e interesse dos docentes. Foram selecionados para abordagem os temas guarda responsável de animais, raiva, leishmaniose visceral, leptospirose, febre maculosa, doença de Lyme e dengue. Cartilhas infanto-juvenis foram confeccionadas como material de apoio para o trabalho dos professores então capacitados. Durante a experiência, os participantes puderam aprender e discutir a temática proposta, sanar dúvidas e desmistificar informações em saúde. Apresenta-se, portanto, uma experiência positiva no tocante a ações de educação e prevenção de zoonoses no âmbito do Sistema Único de Saúde no município.

Palavras-chave: educação em saúde, zoonoses, vigilância em saúde pública.

FORMATION OF MULTIPLIER EDUCATORS FOR SURVEILLANCE AND ZOOSE PREVENTION IN A MEDIUM CITY IN BRAZIL: FROM THE ANALYSIS OF HEALTH NEEDS TO THE PRACTICAL APPLICATION OF RESULTS

ABSTRACT

The susceptibility of children to zoonoses highlights the importance of health education actions for them. In order to promote a differentiated experience to prevent such diseases, a partnership was established between the Departments of Health and Education of Resende municipality, Rio de Janeiro state. A research of regional thematic health needs was done through the analysis of data provided by the Ministry of Health and by the State Health Department and a course was prepared and made available to public school educators who spontaneously showed great participation and interest. The subjects selected to the approach were the responsible pet animal guardianship and the following zoonoses: rabies, visceral leishmaniasis, leptospirosis, the Brazilian spotted fever, Lyme disease and dengue. Booklets for children and youth were prepared as background material for the work of the trained teachers. During the experience, the participants were able to learn and discuss the proposed themes, answer their questions and demystify health information. Therefore, we present a positive experience with regard to education activities and prevention of zoonoses within the Brazilian Unified Health System in this municipality.

¹ Pós-graduanda em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense/ Centro de Controle de Zoonoses, Vigilância em Saúde, Prefeitura Municipal de Resende, RJ. Contato principal para correspondência

Keywords: health education, zoonoses, public health surveillance.

FORMACIÓN DE EDUCADORES MULTIPLICADORES PARA LA VIGILANCIA Y LA PREVENCIÓN DE LAS ZONOSIS EN UN MUNICIPIO BRASILEÑO DE TAMAÑO MEDIO: DESDE EL ANÁLISIS DE LAS NECESIDADES DE SALUD HASTA LA APLICACIÓN PRÁCTICA DE LOS RESULTADOS

RESUMEN

La susceptibilidad de los niños a las zoonosis destaca la importancia de las acciones de educación en salud con ellos. Para promover una experiencia diferenciada en la prevención de zoonosis, se hizo una colaboración entre los Departamentos de Salud y Educación de Resende, estado de Río de Janeiro. Un estudio de las necesidades de salud regionales se hizo mediante el análisis de los datos del Ministerio de Salud y del Departamento de Salud del Estado, y un curso fue preparado y puesto a disposición de los maestros de escuelas públicas que mostraron espontáneamente gran participación e interés. Los temas seleccionados para el enfoque fueron la pose responsable de animales y las siguientes zoonosis: la rabia, la leishmaniasis visceral, la leptospirosis, la fiebre maculosa, la enfermedad de Lyme y el dengue. Para los niños y jóvenes, se prepararon folletos como material de referencia para el trabajo de los maestros. Durante el experimento, ellos pudieron conocer y discutir los temas propuestos, responder sus dudas y desmitificar las informaciones de salud. Se presenta, por lo tanto, una experiencia positiva con respecto a las acciones de educación y prevención de zoonosis en el Sistema Único de Salud de Brasil en este municipio.

Palabras clave: educación en salud, zoonosis, vigilancia en salud pública.

INTRODUÇÃO

Zoonoses são as doenças transmissíveis, de forma natural, entre animais e seres humanos (1). Grupos vulneráveis da sociedade, tais como as crianças, são afetadas de forma mais severa por tais doenças (2), e é nesse contexto que se evidencia a necessidade da concepção de um trabalho sistemático que envolva a formação de pedagogos e profissionais de saúde por uma prática interligada pela educação em saúde no âmbito escolar (3).

Quanto à educação para a faixa etária infanto-juvenil, os Parâmetros Curriculares Nacionais incluem a saúde como um tema transversal no currículo escolar do Ensino Fundamental (4). Para tal, o educador em saúde deve ter em sua formação acadêmica conhecimentos que ultrapassem os temas em saúde e adentram outras temáticas, tais como, as educativas e das ciências sociais (5).

Entretanto, a realidade da formação dos profissionais da saúde não contempla, de forma ampla e completa, a interdisciplinaridade necessária à proposta. Por esse motivo, sendo o professor a personagem principal do processo educativo e detendo ele o maior contato e maior imersão na realidade social e cultural de cada discente (6), a preparação de docentes nos temas em saúde se torna uma importante ferramenta no processo de transmissão de tais conhecimentos.

Apresenta-se, portanto, uma iniciativa educativa que teve por objetivo promover a formação de educadores multiplicadores para a guarda responsável de animais e prevenção de zoonoses. Partindo de uma experiência de parceria entre professores e profissionais de saúde, nas Redes Municipais de Ensino e Saúde de Resende, cidade de médio porte no estado do Rio de Janeiro, buscou-se a promoção de uma nova perspectiva educacional-preventiva no âmbito do Sistema Único de Saúde no município.

MATERIAL E MÉTODOS

Por meio de uma parceria entre as Secretarias Municipais de Saúde e Educação (SMS e SME) de Resende, foi organizado um curso de formação de educadores em saúde ministrado pela SMS e destinado aos professores da Rede Municipal de Ensino. O curso foi divulgado pela SME e a adesão foi voluntária por parte dos professores, sendo emitido, em contrapartida, certificado pela SMS.

A SME de Resende possui uma equipe de professores educadores ambientais com carga horária específica para o trabalho de temas ambientais e em saúde, sem prejuízo para as disciplinas da grade convencional, com grande potencial para multiplicação do conhecimento proposto.

Foi feito um levantamento quanto aos temas de relevância para a saúde no município e região, por meio de análise de dados em materiais de suporte técnico disponibilizados pelo Ministério da Saúde e pela Secretaria Estadual de Saúde (7-9), além de literatura científica (10-13). Foram confeccionadas e disponibilizadas aos professores apostilas com os temas selecionados. Para auxiliar na transmissão da temática proposta, cartilhas com linguagem adequada para alunos do ensino fundamental foram elaboradas em parceria com a Assessoria de Comunicação da Prefeitura de Resende.

O curso, a apostila destinada aos professores e as informações técnicas da cartilha infanto-juvenil foram organizados pelo Centro de Controle de Zoonoses de Resende.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os temas selecionados de acordo com as necessidades locais foram a guarda responsável de animais e as seguintes zoonoses: raiva, leishmaniose visceral, leptospirose, febre maculosa, doença de Lyme e dengue. O curso contou com a adesão de 20 professores da Rede Municipal de Ensino, sendo a iniciativa aprovada pelos participantes como um importante meio de veiculação de informações em saúde. Durante a experiência, os docentes puderam não apenas aprender sobre a temática proposta, como também discutir, sanar dúvidas e desmistificar informações em saúde.

A Guarda Responsável de animais foi escolhida como tema base para a implementação de medidas preventivas às doenças da interface homem/animal. De fato, quando crianças, jovens e adultos são sensibilizados quanto à guarda responsável de animais, eles ganham o potencial de se tornarem cidadãos conscientes de seus deveres e disseminadores de informações em prol do bem-estar animal e da saúde coletiva (14).

Entre as zoonoses, a raiva foi incluída devido à sua letalidade (8) e ao fato de apesar de o estado do Rio de Janeiro possuir a raiva canina controlada, foi observado um aumento nos casos de raiva em herbívoros e em morcegos, além do registro de casos da doença em felinos (9).

A franca expansão geográfica da leishmaniose visceral (13), associada à formação de uma nova área de transmissão com alta taxa de mortalidade em Barra Mansa (12), cidade vizinha à Resende, e a detecção de um caso canino alóctone no próprio município, importado do estado de Minas Gerais (11), justificaram o trabalho de educação junto à prevenção dessa zoonose.

Quanto à febre maculosa, a ocorrência de cinco casos da doença em Resende no ano de 2006, sendo dois os óbitos dentre esses (10), levou ao trabalho de conscientização quanto ao tema, abordado conjuntamente à doença de Lyme, uma vez que ambas possuem modos de transmissão e prevenção similares (7,8).

No tocante à leptospirose e à dengue, a escolha da primeira como uma das temáticas do curso proposto se deu por seu endemismo na região (9), enquanto a segunda foi abordada

devido a sua clássica importância epidemiológica, com registro de epidemias no Brasil datadas desde o século XIX (8).

De forma geral, tal iniciativa educativa demonstra a importância da análise local quanto às necessidades regionais em saúde e a aplicação de tais resultados na proposição dos temas a serem abordados. De fato, o educador de saúde pública deve possuir alta competência e liderança que lhe permitam encarregar-se de trabalhos de planejamento, organização, metodologia, estudo e investigações na área da educação em saúde (5).

Vale salientar que as crianças e adolescentes ao receberem tais informações se tornam potenciais multiplicadores junto às suas famílias, e nesse contexto, a conscientização dos pais quanto às doenças transmitidas por animais e a guarda responsável constitui-se em um instrumento importante para reduzir os riscos de transmissão de zoonoses (15).

Em última análise, a veiculação de informações em saúde ao público leigo auxilia o sistema de Vigilância em Saúde, uma vez que uma população informada pode identificar casos suspeitos e, assim, procurar mais rapidamente os serviços médico e/ou médico veterinário para acompanhamento, estudo e resolução dos mesmos.

CONCLUSÕES

Apresenta-se, portanto, uma importante perspectiva no tocante a ações de educação e prevenção no âmbito do Sistema Único de Saúde no município, demonstrando ainda que a realização de parcerias entre secretarias de educação e saúde em diferentes esferas políticas pode ser de fato uma importante ferramenta para a transmissão do conhecimento.

REFERÊNCIAS

1. Pan American Health Organization. Zoonosis and communicable diseases common to man and animals. 3rd ed. Washington: PAHO; 2001.
2. Sánchez-Ortiz IA, Leite MA. Zoonosis transmission risk factors according to population habits in Ilha Solteira city, Brazil. *Rev Salud Publica*. 2011;13(3):504-13.
3. Gonçalves FD, Catrib AMF, Vieira NFC, Vieira LJES. Health promotion in primary school. *Interface (Botucatu)*. 2008;12(24):181-92.
4. Ministério da Educação. Secretaria de Educação Fundamental. Parâmetros curriculares nacionais: meio ambiente, saúde. Brasília: SEF; 1997.
5. Marcondes RS. Educação em saúde na escola. *Rev Saude Publica*. 1972;6(1):89-96.
6. Davanço GM, Taddei JAAC, Gaglianone CP. Conhecimentos, atitudes e práticas de professores de ciclo básico, expostos e não expostos a curso de educação nutricional. *Rev Nutr*. 2004;17(2):177-84.
7. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso. 8a ed. Brasília: SVS; 2010.
8. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica. 7a ed. Brasília: SVS; 2009.
9. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sistema Nacional de Vigilância em Saúde: relatório de situação - Rio de Janeiro. 2a ed. Brasília: SVS; 2006.

10. Cunha NC, Fonseca AH, Rezende J, Rozental T, Favacho ARM, Barreira JD, et al. First identification of natural infection of *Rickettsia rickettsii* in the *Rhipicephalus sanguineus* tick, in the State of Rio de Janeiro. *Pesqui Vet Bras*. 2009;29(2):105-8.
11. de Vasconcelos TCB, Alves FJ, Mendes Júnior AV, Madeira MF, Figueiredo FB. Leishmaniose visceral canina: caso alóctone no município de Resende, estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Bras Cienc Vet*. 2013;20(2):80-3.
12. Pimentel MIF, Alves ELM, da Silva MHFF, Moza PG, de Almeida PMP, Cunha CS, et al. High visceral leishmaniasis mortality rate in Barra Mansa, a new area of visceral leishmaniasis transmission in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2014;47(4):521-3.
13. Werneck GL. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Brasil. *Cad Saude Publica*. 2010;26(4):644-5.
14. de Almeida JF, Pedro DA, Pereira VLA, Abreu DLC, do Nascimento ER. Educação humanitária para o bem-estar de animais de companhia. *Enciclopédia Biosfera*. 2014;10(18):1366-74.
15. Lima AMA, Alves LC, Faustino MAG, Lira NMS. Percepção sobre o conhecimento e profilaxia das zoonoses e posse responsável em pais de alunos do pré-escolar de escolas situadas na comunidade localizada no bairro de Dois Irmãos na cidade do Recife (PE). *Cienc Saude Coletiva*. 2010;15(1):1457-64.

Recebido em: 24/06/2015

Aceito em: 28/09/2015

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
 Dilermando 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
 Lflian 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 Chalhoub 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 Roehé
 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 palavras 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 resumen 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 resumen 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 pié** 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>>.