

Veterinária e Zootecnia

Vet e Zootec.

2015 junho; 22(2): 143-313

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

ISSN Impresso 0102-5716

ISSN Eletrônico 2178-3764

Botucatu - SP – Brasil

Veterinária e Zootecnia

ISSN Impresso 0102-5716
ISSN Eletrônico 2178-3764

VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
UNESP – Campus de Botucatu
18618-970 – 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. 22, n.1, mar. (2015)
ISSN Impresso 0102-5716
ISSN Eletrônico 2178-3764

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

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

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Administração Geral da UNESP

Reitor

Prof. Dr. 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
2015

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.....	150
ARTIGOS DE REVISÃO/REVIEW ARTICLES/ARTÍCULOS DE REVISIÓN	
QUALIDADE DO LEITE: UMA META A SER ATINGIDA/ MILK QUALITY: A GOAL TO BE CONQUERED / LECHE DE CALIDAD: UNA META A ALCANZAR. João Luis Revolta Callefe, Helio Langoni	151
INSTABILIDADE ATLANTOAXIAL EM CÃES: FISIOPATOLOGIA, ABORDAGENS CLÍNICO-CIRÚRGICAS E PROGNÓSTICO/ ATLANTOAXIAL INSTABILITY IN DOGS: PATHOPHYSIOLOGY, CLINICAL-SURGICAL APPROACHES AND PROGNOSIS/ INESTABILIDAD ATLANTOAXIAL EN PERROS: FISIOPATOLOGÍA, ENFOQUES CLÍNICO-QUIRÚRGICOS Y PRONÓSTICO. Carolina Camargo Zani, Paulo Vinícius Tertuliano Marinho, Bruno Watanabe Minto, Tiago Barbalho Lima, Paola Castro Moraes, José Luiz Laus	163
UROLITÍASE OBSTRUTIVA EM OVINOS/ OBSTRUCTIVE UROLITHIASIS IN SHEEP/ UROLITIASIS OBSTRUCTIVA EN OVEJAS. Danilo Otávio Laurenti Ferreira, Bianca Paola Santarosa, Rogério Martins Amorim, Simone Biagio Chiacchio, Roberto Calderon Gonçalves	183
PRESSÃO ARTERIAL EM CÃES: UMA REVISÃO/ BLOOD PRESSURE IN DOGS: A REVIEW/ PRESIÓN ARTERIAL EN PERROS: UNA REVISIÓN. Mariana Tebaldi, Luiz Henrique Araújo Machado, Maria Lucia Gomes Lourenço	198
RELATOS DE CASO/CASE REPORTS/ESTUDIOS DE CASO	
PNEUMONIA POR RHODOCOCCLUS EQUI EM POTRA QUARTO DE MILHA: DIAGNÓSTICO RADIOGRÁFICO E ULTRASSONOGRÁFICO/ RHODOCOCCLUS EQUI PNEUMONIA IN A QUARTER FOAL: RADIOGRAPHIC AND SONOGRAPHIC DIAGNOSIS / NEUMONÍA POR RHODOCOCCLUS EQUI EN POTRA CUARTO DE MILLA: DIAGNÓSTICO MEDIANTE RADIOGRAFÍA Y ECOGRAFÍA. Alexandra Frey Belotta, Letícia Rocha Inamassu, Bianca Paola Santarosa, Simone Biagio Chiacchio, Priscila Emiko Kobayashi, Noeme Souza Rocha, Rafaela Mastrangelo Riseti, Márcio Garcia Ribeiro, Vania Maria de Vasconcelos Machado, Luiz Carlos Vulcano	209
GASTROPATIA PILÓRICA HIPERTRÓFICA CRÔNICA SECUNDÁRIA À GASTRITE LINFOPLASMOCITÁRIA EM CÃO – RELATO DE CASO / CHRONIC HYPERTROPHIC PYLORIC GASTROPATHY SECONDARY TO LYMPHOPLASMACYTIC GASTRITIS IN A DOG - CASE REPORT/ GASTROPATÍA PILÓRICA HIPERTRÓFICA CRÓNICA SECUNDARIA A GASTRITIS LINFOPLASMOCITÁRIA EN UN PERRO - REPORTE DE CASO. Paulo Vinícius Tertuliano Marinho, Bruna Piva Maria, Josiane Moraes Pazzini, Fabio Alves Teixeira, Cristiane de Castro Vilela dos Reis, Carolina Camargo Zani, Andriago Barboza De Nardi, Mirela Costa Tinucci, Aulus Cavalieri Carciofi	215
UM CASO DE HERMAFRODITISMO VERDADEIRO EM UM CÃO/ A CASE OF TRUE HERMAPHRODITISM IN A DOG/ UN CASO DE HERMAFRODITISMO VERDADERO EN UN PERRO. Bianca da Silva Salmon Pompeu, William Volino, Letícia Marcelino Lopes.....	221

COMUNICAÇÃO CURTA/SHORT COMMUNICATION/COMUNICACIÓN CURTA

- AVALIAÇÃO TÉCNICA DE MATERIAL PUBLICITÁRIO DE PRODUTOS VETERINÁRIOS COMO ATIVIDADE DIDÁTICA COMPLEMENTAR A ALUNOS DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA/ TECHNICAL EVALUATION OF VETERINARY PRODUCTS' MARKETING MATERIALS AS AN ADDITIONAL TEACHING ACTIVITY FOR GRADUATION STUDENTS IN A VETERINARY MEDICINE FACULTY/ EVALUACION TECNICA DE MATERIALES DE PUBLICIDAD DE PRODUCTOS VETERINARIOS COMO ACTIVIDAD ADICIONAL DE ENSEÑANZA A ESTUDIANTES DEL CURSO DE GRADUACION EN MEDICINA VETERINARIA.** Marcella Zampoli Troncarelli..... 227

ARTIGOS/ARTICLES/ARTÍCULOS

- COMPARAÇÃO DE TRÊS TESTES DE TUBERCULINA USADOS PARA O DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSE EM BÚFALOS DE ÁGUA NA ILHA DE MARAJÓ / COMPARISON OF THREE TUBERCULIN SKIN TESTS USED TO DIAGNOSE TUBERCULOSIS IN WATER BUFFALOES IN MARAJÓ ISLAND/ COMPARACIÓN DE TRES PRUEBAS DE TUBERCULINA UTILIZADAS PARA DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS EN BÚFALOS DE AGUA DE LA ISLA DE MARAJÓ.** Alexandre do Rosário Casseb, Andréa Góes Negrão, Livia Medeiros Neves Casseb, Sandro Patroca Silva, Érika Dayane Leal Rodrigues, Wilton Figueiredo Lima, Hélio Langoni..... 231

- INFECÇÕES POR PARASITOS GASTRINTESTINAIS EM CÃES DOMICILIADOS E SUAS IMPLICAÇÕES NA TRANSMISSÃO ZONÓTICA/ GASTRINTESTINAL PARASITES INFECTIONS IN DOMICILED DOGS AND IMPLICATIONS IN ZONOTIC TRANSMISSION/ INFECCIONES PARASITÁRIAS GASTRINTESTINALES EN PERROS DOMICILIADOS Y SUS IMPLICACIONES EN LA TRANSMISIÓN ZONÓTICA.** Claudia Mello Ribeiro, Débora Elenice Lima, Satie Katagiri..... 238

- SINCRONIZAÇÃO DE RECEPTORAS NO DIESTRO PARA UTILIZAÇÃO EM PROGRAMA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQUINOS/ SYNCHRONIZATION OF ESTRUS IN THE RECIPIENT FOR USE IN PROGRAM EMBRYO TRANSFER IN HORSES / LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO EN EL RECEPTOR PARA SU USO EN LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES PROGRAMA EN CABALLOS.** Renata Tenório Ribeiro de Souza, João Guilherme de Góis Fontes, Mariana Furtado Zorzetto, Adelcio Barbosa da Silva Júnior, Frederico Ozanam Papa, Marco Antônio Alvarenga, José Antônio Dell'aqua Júnior..... 245

- LEVADURA ÍNTEGRA E AUTOLISADA COMO PRONUTRIENTE EM DIETAS DE TILÁPIA DO NILO DURANTE A FASE DE MASCULINIZAÇÃO / FULL AND AUTOLYSED YEAST AS PRONUTRIENT IN NILE TILAPIA DIETS DURING THE SEXUAL REVERSION/ LEVADURA INTACTA Y AUTOLIZADA COMO PRONUTRIENTE EN DIETAS PARA TILAPIA DEL NILO EN FASE DE INVERSIÓN SEXUAL.** João Fernando Albers Koch, Luiz Edivaldo Pezzato, Margarida Maria Barros, Cristina Teresa Dias Ribeiro Koberstain, Caroline Pelegrina Teixeira, Ademir Calvo Fernandes Junior, Fernando Kojima Nakagome..... 254

- ESTUDO SEROEPIDEMIOLÓGICO PROSPECTIVO DA LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA CANINA NO MUNICÍPIO DE BOTUCATU, SP / PROSPECTIVE SEROEPIDEMIOLOGICAL STUDY OF AMERICAN VISCERAL LEISHMANIASIS CANINE IN BOTUCATU, SP/ ESTUDIO SEROEPIDEMIOLOGICO PROSPECTIVO DE LEISHMANIASIS VISCERAL AMERICANA CANINA EN BOTUCATU, SP.** Selene Daniela Babboni, Nicolay Pereira, Carlos Roberto Padovani, José Carlos de Figueiredo Pantoja, Cassiano Victoria, Jéssica C. Melice Gouveia, Sandra Regina Nicoletti D'Auria, Maria Cecilia Gibrail de Oliveira Camargo, Jose Rafael Modolo..... 268

- IMUNO-EXPRESSÃO DE COX-2, CASPASE3, KI67 E SURVIVINA EM TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL CANINO/ COX-2, CASPASE 3, KI67 AND SURVIVIN IMMUNOEXPRESSION IN CANINE TRANSMISSIBLE VENEREAL TUMOR / IMUNOEXPRESIÓN DE COX-2, CASPASE 3, KI67 Y SURVIVIN EN TUMOR VENÉREO TRANSMISIBLE CANINO.** Sandra Bassani Silva, Haline Feo Ballesteros, Luis Mauricio Montoya Flórez, Noeme Sousa Rocha..... 275
- SENSIBILIDADE MICROBIANA DE *Staphylococcus spp.* ISOLADOS DE LEITE DE CABRAS COM MASTITE SUBCLÍNICA/ MICROBIAL SENSIBILITY OF *Staphylococcus spp.* ISOLATED OF GOAT MILK WITH SUBCLINICAL MASTITIS / SENSIBILIDAD MICROBIANA DE AISLADOS DE *Staphylococcus spp.* DE LECHE CAPRINA EN CASOS DE MASTITIS SUBCLÍNICA.** Anelise Salina, Gustavo Puglia Machado, Felipe de Freitas Guimarães, Helio Langoni..... 288
- ANÁLISE DA MICROBIOTA GASTROINTESTINAL DE *CHELONOIDIS* PROVENIENTES DE CATIVEIRO DA REGIÃO NOROESTE DE SÃO PAULO/ MICROBIOTA ANALYSIS OF GASTROINTESTINAL *CHELONOIDIS* FROM CAPTIVITY IN THE NORTHWESTERN REGION OF SÃO PAULO / ANÁLISIS DE LA MICROFLORA GASTROINTESTINAL DE *CHELONOIDIS* COMING FROM CAUTIVIDAD DE REGIÓN NOROESTE DE SÃO PAULO.** Matheus Marussi Ribeiro, Cilene Vidovix Táparo, Miriam Yumi Makatu, Mariana Malavazi Destro, Erivelto Correa Araújo Júnior, Sérgio Diniz Garcia, Márcia Marinho 295

EDITORIAL

ENFRENTANDO A CRISE!

Paira no ar a sensação de desânimo geral e falta de motivação das pessoas. Na Universidade, não poderia ser diferente pois muitas mudanças têm refletido negativamente, contribuindo para a falta de perspectivas futuras, influenciando inclusive na busca de recursos para o desenvolvimento de pesquisas já que os cortes são cada dia maiores. Apesar da atual situação brasileira que também é reflexo de uma crise mundial, temos que ser otimistas, e acreditar no nosso papel enquanto educadores e pesquisadores na busca de soluções para driblar o inimigo.

Essa falta de motivação pode, também, ser reflexo da falta de valorização dos recursos humanos das instituições, sejam elas públicas ou privadas, de ensino ou não. Há cortes de funcionários nas empresas, não reposição em número desejável de docentes e servidores técnico-administrativos nas Universidades e, nesse clima, é preciso acreditar e esperar por dias melhores, afinal nos cobram que devemos ser positivos. Assim, caminhamos e, entre outras atividades e funções, disponibilizamos o presente número de mais uma edição da Revista Veterinária e Zootecnia, que de forma abrangente contribui com a formação continuada em nosso país, publicando artigos nas diferentes áreas das formações profissionais de Médico Veterinário e de Zootecnista.

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: Qualidade do leite: uma meta a ser atingida; Instabilidade atlantoaxial em cães: fisiopatologia, abordagens clínico-cirúrgicas e prognóstico; Urolitíase obstrutiva em ovinos; Pressão arterial em cães: uma revisão. Os relatos de caso: Pneumonia por *Rhodococcus equi* em potra Quarto de Milha: diagnóstico radiográfico e ultrassonográfico; Gastropatia pilórica hipertrófica crônica secundária à gastrite linfoplasmocitária em cão – Relato de caso; Um caso de hermafroditismo verdadeiro em um cão. Comunicação curta: Avaliação técnica de material publicitário de produtos veterinários como atividade didática complementar a alunos de graduação em Medicina Veterinária. Os artigos originais: Comparação de três testes de tuberculina usados para o diagnóstico de tuberculose em búfalos de água na ilha de Marajó; Infecções por parasitos gastrintestinais em cães domiciliados e suas implicações na transmissão zoonótica; Sincronização de receptoras no diestro para utilização em programa de transferência de embriões em equinos; Levedura íntegra e autolisada como pronutriente em dietas de tilápia do Nilo durante a fase de masculinização; Estudo soropidemiológico prospectivo da leishmaniose visceral americana canina no município de Botucatu, SP; Imuno-expressão de COX-2, CASPASE3, KI67 e survivina em tumor venéreo transmissível canino; Sensibilidade microbiana de *Staphylococcus spp* isolados de leite de cabras com mastite subclínica; Análise da microbiota gastrointestinal de *Chelonoidis* provenientes de cativeiro da região noroeste de São Paulo.

Prof. Helio Langoni
Editor-Chefe

QUALIDADE DO LEITE: UMA META A SER ATINGIDA

João Luis Revolta Calfe¹
Helio Langoni²

RESUMO

O leite é imprescindível na alimentação humana, considerado um alimento completo pelo seu alto teor de nutrientes, e justamente por isso, é meio de proliferação de microorganismos deteriorantes e patogênicos, que podem alterar a qualidade do leite e de produtos lácteos, diminuindo seu tempo de prateleira. Além disso, pode causar no consumidor, intoxicação alimentar pela veiculação de patógenos ou de suas toxinas. Esta abordagem traz aspectos fundamentais visando melhorar a qualidade do leite e de seus derivados, desde a ordenha até o armazenamento, transporte e processamento. Alguns avanços foram conquistados, entretanto, há um longo caminho a ser percorrido no sentido de atingirmos as metas estabelecidas pelas portarias (IN-51 e IN-62) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA.

Palavras-chave: qualidade do leite, testes de qualidade do leite, mastite, produtos lácteos.

MILK QUALITY: A GOAL TO BE CONQUERED

ABSTRACT

Milk is essential for human feeding. It is considered nutritionally complete because it contains high levels of nutrients, but, at the same time, it is a way of proliferation of pathogenic and deteriorating microorganisms, which can change the quality of milk and dairy products, reducing their shelf life. Moreover, it can damage people's health by carrying pathogens or toxins. This article brings fundamental aspects to improve the milk quality and its derivatives, from milking to storage, transportation and processing. Some progress has been achieved, however, there is a long way to go towards achieving the goals set by the ordinances (IN-51 and IN-62) from the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply - MAPA.

Keywords: milk quality testing of milk quality, mastitis, dairy products.

LECHE DE CALIDAD: UNA META A ALCANZAR

RESUMEN

La leche es esencial para la nutrición humana se considera un alimento completo por su alto contenido de nutrientes, y con razón, que es una especie de proliferación de deterioro y microorganismos patógenos, que pueden alterar la calidad de la leche y los productos lácteos, la reducción de su estante. Además, se puede hacer que el consumidor, al servir patógenos intoxicación alimentaria o sus toxinas. Este enfoque trae aspectos clave para mejorar la calidad de la leche y sus derivados, a partir de ordeño para el almacenamiento, el transporte y el procesamiento. Se han logrado

¹ Graduando do curso de Medicina Veterinária da FMVZ – UNESP/Botucatu - SP

² Professor Titular: FMVZ – UNESP/Botucatu – SP – Correspondência

algunos avances, sin embargo, hay un largo camino por recorrer para alcanzar los objetivos fijados por las ordenanzas (IN-51 e IN-62) del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento - MAPA.

Palabras clave: calidad de la leche, pruebas de calidad de la leche, mastitis, productos lácteos.

INTRODUÇÃO

O mercado consumidor tem exigido produtos de origem animal de melhor qualidade e em relação ao leite e seus derivados, tal fato é também uma realidade. O leite é um alimento imprescindível e para todas as faixas etárias é considerado um alimento completo, contendo proteínas, vitaminas e sais minerais indispensáveis para o desenvolvimento e manutenção do organismo humano. Apesar de sua importância do ponto de vista nutricional, o leite pela sua composição é um excelente meio de cultivo para o desenvolvimento de micro-organismos. Desta forma os aspectos higiênicos são importantes no processo de ordenha, garantindo a ordenha de um produto de melhor qualidade. A limpeza e higienização de tetos e dos equipamentos de ordenha, além de reduzir a carga microbiana, permitem a profilaxia e controle de mastites, tanto as de origem contagiosa como ambiental.

As mastites impactam negativamente a cadeia produtiva do leite, por diminuir a produção de leite e o rendimento dos derivados lácteos na indústria de laticínios, além de diminuir o tempo de prateleira destes. Medidas profiláticas de higiene são muito importantes para controle das mastites. Várias medidas praticadas conjuntamente devem ser estabelecidas buscando-se a obtenção de produto de melhor qualidade, além de aumentar a produtividade do rebanho (1).

O Programa de Controle de Qualidade do Leite estabeleceu metas por meio das Instruções Normativas 51 (IN-51), que foram alteradas pela IN-62 de 2011, que prevê novos valores para a Contagem de Células Somáticas (CCS) e para Contagem Bacteriana Total (CBT) expressa por unidades formadoras de colônia (UFC), ambos por mL de leite. Estes dois parâmetros são avaliados por equipamentos automatizados, nos laboratórios da Rede Brasileira de Qualidade do Leite – RBLQ, distribuídos em vários estados do país. Os limites estabelecidos tanto para UFC/mL como CCS/mL de leite estão definidos de acordo com as regiões Sul e Sudeste; Centro-oeste, Norte e Nordeste. Para as regiões Sul e Sudeste, os valores para CCS/mL e UFC/mL de leite são de 500 mil e 300 mil, respectivamente, desde julho de 2014. Estes valores serão reduzidos ainda mais a partir de julho de 2016, para 400 mil CCS/mL e 100 mil UFC/mL.

Algumas indústrias de laticínios têm estimulado produtores de leite para uma produção de melhor qualidade pelo pagamento conferido ao aumento dos atributos do produto. Esta prática é de suma importância, pois premia aqueles que adotam e investem em programas de controle, que não somente permite melhor qualidade, mas também aumentam a produtividade com ganhos para o produtor e também para a indústria de laticínios, uma vez que a redução da carga microbiana do leite aumenta o rendimento dos subprodutos lácteos, além de estender o tempo do produto na prateleira. Outro aspecto fundamental é a diminuição dos riscos de transmissão de patógenos causadores de intoxicações e toxinfecções nos consumidores, principalmente nos casos de consumo de leite não pasteurizado ou fervido.

REVISÃO DE LITERATURA

Há grande preocupação com a importância de uma dieta balanceada e que ofereça todos os substratos necessários para manutenção do organismo humano. Alguns alimentos, como o leite, desenvolvem um papel importantíssimo na nutrição por conter inúmeros nutrientes que realizam essa função, como as gorduras que contêm ácidos graxos essenciais para absorção de vitaminas lipossolúveis; a lactose, que funciona como facilitador na absorção de minerais; todos os tipos de vitaminas, que desempenham papel de catalisadores de reações; sais minerais, principalmente nas formas de cálcio e fósforo, atuando como componentes de reações metabólicas e constituição de ossos e tecidos, bem como proteínas, que são de extrema necessidade para manutenção e crescimento do organismo, sendo o seu mais nobre componente (2). Costa (3) referiu que a Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda o consumo de 500 mililitros diários a um adulto, e nas fases de adolescência e terceira idade, cerca de um litro, entretanto o consumo no Brasil está bem aquém desse valor, que em 2004 foi de aproximadamente 125 litros per capita, e em 2012 de 168 quilogramas/habitante/ano (4,5,6).

No âmbito do agronegócio, o leite se destaca como um dos principais produtos. O Brasil se encontra entre um dos maiores produtores de leite do mundo e segundo dados de 2014, da Associação Brasileira de Criadores de Girolando (7), poderá se tornar o terceiro maior produtor mundial, mas atualmente é o sexto maior produtor (8). Dados mais antigos divulgados pelo IBGE, já caracterizavam essa posição de importância, pois o gado leiteiro representava 76% do valor da renda gerada pela pecuária brasileira, em 2008, referido por Siqueira (9). Ainda, segundo o IBGE, em 2012 o Brasil chegou a produzir 32,2 bilhões de litros de leite bovino. Houve um aumento na exportação de leite em pó e líquido de respectivamente 113,8% e 106,4%, quando comparado ao último trimestre de 2013 (10). Para que houvesse um crescimento cada vez maior com sustentabilidade, competitividade e produtividade, o governo lançou pelo Ministério da Agricultura em fevereiro de 2014, o plano “Plano Mais Pecuária”, com duração de dez anos. O foco do programa é a pecuária bovina, dividida em “Mais Carne” e “Mais Leite”, com objetivo de aumentar em 40% a produção leiteira pela incorporação de novas tecnologias, melhoramento genético, ampliando mercado e garantindo maior segurança e qualidade dos produtos lácteos (6,11).

Não somente a produção leiteira vem evoluindo, mas também a qualidade do leite está sendo desenvolvida para atender um mercado consumidor mais informado e exigente. Além da exigência de mercado estar maior, é fundamentalmente necessário oferecer um produto saudável, porque um leite de qualidade duvidosa pode perecer rapidamente e causar transtornos à saúde do consumidor, veiculando até mesmo, patógenos letais. O leite e seus derivados são ótimos meios para proliferação de microorganismos, que quando desejáveis permitem a produção de queijos e iogurtes, por exemplo. Todavia, pode ocorrer a presença dos patógenos zoonóticos e deteriorantes, por isso é importante a verificação desde o modo de ordenha, até processamento e estocagem do lácteo (12,13). Para enfatizar, podemos citar como exemplo do perigo que isso pode provocar, um surto de botulismo que ocorreu na Itália em 1996, causado pela intoxicação alimentar ao se consumir queijo *Mascarpone* contendo a toxina do *Clostridium botulinum* (14).

Aspectos da qualidade

A qualidade do leite inicia-se com a ordenha dos animais, independente do tipo de ordenha – manual ou mecânica. A higiene dos tetos, com limpeza, lavagem e secagem

com toalhas de papel descartável e a utilização de produtos antissépticos visando diminuir a carga bacteriana é de extrema importância, por diminuir a contagem bacteriana presente no leite oferecido para consumo. Da mesma forma a higienização das teteiras e demais equipamentos de ordenha são extremamente importantes não somente na redução da carga microbiana do leite, mas também para controle de mastites que contribuem para aumentar a contagem bacteriana do leite (CBT), de acordo com Langoni (1).

As mastites impactam negativamente a produção leiteira quer seja pela diminuição de produção dos rebanhos (15) ou por diminuir o rendimento dos subprodutos lácteos na indústria de laticínios, e por diminuir o período de validade do produto para o mercado consumidor (16). Além destes aspectos negativos referentes à cadeia produtiva do leite, enfatiza-se os aspectos de saúde pública pela possível veiculação de agentes causadores de zoonoses como *Mycobacterium bovis* e *Brucella abortus* (17,18,19) entre outros patógenos como *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase* negativos (20), produtores de enterotoxinas.

Apesar de ser considerado um alimento nobre e imprescindível para todas as fases da vida, pode oferecer riscos ao consumidor, principalmente quando o leite é produzido sem nenhum controle do ponto de vista higiênico-sanitário e vendido no comércio informal sem controle de qualidade, aliando-se ainda aos hábitos de grande número de consumidores que o ingerem sem a devida fervura, que afirmam ser de maior qualidade e mais saboroso (21).

Como parâmetros de qualidade do leite, relacionados aos aspectos higiênico-sanitários, tem-se a Contagem de Células Somáticas (CCS/mL de leite) e Contagem Bacteriana Total (CBT, em Unidades Formadoras de Colônias – UFC/mL de leite), e sua composição. Isso pode se resumir à inocuidade, características composicionais, nutricionais, sensoriais e tecnológicas, que influenciam no rendimento e tempo de validade de derivados do leite, pois é a partir disso que é permitida a disponibilização no mercado, aos consumidores (22,23,24).

O leite tipo A, é o produto obtido pela extração por ordenha mecânica, resfriado, pasteurizado e embalado na própria fazenda de produção, o que assegura baixa proliferação de micro-organismos, e dispensa transporte até a chegada ao laticínio. Antigamente, também havia a classificação do leite B, ordenhado mecanicamente e resfriado na fazenda ou em tanques coletivos, porém não era pasteurizado e embalado em sua origem, e sim transportados em tanque refrigerado até o laticínio. Ambos requerem uma sala própria para ordenha de fácil higienização (azulejada). Havia ainda o leite tipo C, extraído na ordenha manual, de menor qualidade do ponto de vista higiênico. Atualmente o maior consumo é do leite “Longa Vida” ou UHT (Ultra High Temperature) que é esterilizado, não contendo nenhum micro-organismo (25). Este tipo de leite é bem aceito pelo mercado consumidor.

A premência de manter a qualidade de um produto alimentício é intrínseca. Por isso, a instauração de normas que regularizem a produção de produtos lácteos é imprescindível. O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) por meio do Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL), em setembro de 2002, publicou a Instrução Normativa 51, para regularizar e melhorar a qualidade do leite, exigindo dos produtores maior atenção para isso (26). A normativa implementada em 2005 visou à diminuição da CCS/mL de leite, ausência de resíduos químicos no leite e queda na CBT/mL de leite, resfriamento do leite nas propriedades leiteiras a 4°C em até duas horas após a ordenha, não permitindo que a temperatura ultrapassasse os 10°C na mistura do leite de outras ordenhas ou propriedades, no caso de tanques coletivos (3,13). Como não foram atingidos os limites estabelecidos tanto para

CCS como para CBT pela maioria dos produtores, e evitando deixar de fora um número muito grande deles, a IN-51 foi revista.

Em dezembro de 2011 foi criada a IN-62 que objetiva melhorar ainda mais a qualidade do leite, com a regulamentação da produção, identificação, qualidade, coleta e transporte do leite tipo A, leite cru refrigerado e leite pasteurizado, alterando o cronograma que rege os parâmetros de qualidade (27). A tabela 1 apresenta uma comparação dos valores estabelecidos, e as modificações entre as IN 51 e IN 62, de acordo com o Serviço Nacional de Aprendizagem Rural – SENAR (28), relacionadas ao número de UFC/mL e CCS/mL, de leite cru refrigerado.

Tabela 1: Valores de CCS E UFC/mL de leite, por período e região.

IN – 51	Região	Período	UFC/mL	CCS/MI
	Sul, Sudeste, Centro-oeste	A partir de 01/07/05	1.000.000	1.000.000
		A partir de 01/07/08	750.000	750.000
		A partir de 01/07/11	100.000	400.000
	Norte e Nordeste	A partir de 01/07/07	1.000.000	1.000.000
		A partir de 01/07/10	750.000	750.000
		A partir de 01/07/12	100.000	400.000

IN – 62

	Sul, Sudeste, Centro-oeste	01/01/12 a 30/06/14	600.000	600.000
		01/07/14 a 30/06/16	300.000	500.000
	Norte e Nordeste	A partir de 01/07/16	100.000	400.000
		01/01/13 a 30/06/15	600.000	600.000
		01/07/15 a 30/06/17	300.000	500.000
		A partir de 01/07/17	100.000	400.000

Na IN 62, em vigor, é suprimida a regulamentação e identificação técnica para o antigo tipo de leite B e C, e sim em leite do tipo A, cru refrigerado e pasteurizado. Segundo nota do Centro de Inteligência do Leite da Embrapa (29), o leite B não foi extinto, apenas será melhorado com a diminuição do número colônias bacterianas, segundo a tabela 1, e sua existência irá depender da cadeia produtiva. O leite A cru refrigerado tem suas próprias especificações, e desde julho de 2014 até 30 de junho 2016, deve conter até 300 mil UFC/mL de leite e 500 mil CCS/mL de leite, devendo a conter somente 100 mil UFC/mL de leite e 400 mil CCS/mL de leite, a partir de julho de 2016 (28).

O leite é submetido ainda a tipos de análises para avaliação de sua qualidade físico-química e sensorial, como sabor e odor, além da definição de parâmetros para sua composição, contagem total de bactérias, níveis de redutase, pH, acidez titulável, estabilidade ao Alizarol, crioscopia, densidade relativa e de ausência de resíduos de antimicrobianos, conservantes químicos e pesticidas (30). A indústria de laticínios tem sido mais exigente, e no caso de desqualificação do produto deve haver aplicação de penalidades com descarte do leite.

A composição do leite é analisada quanto aos índices de gordura, proteína, lactose e sólidos totais, por meio de aparelhos modernos baseados na absorção de radiação infravermelha, ou métodos mais tradicionais para mensurar a concentração de gordura (método de Gerber) ou proteína (Kjeldahl e Micro-Kjeldahl), por meio de substâncias químicas que destituem seus componentes (30). Estes procedimentos são importantes para se oferecer para o consumidor produtos lácteos de melhor qualidade.

O teste da redutase é um método de avaliação, revelado em horas, e se relaciona com a quantidade de bactérias presentes no leite fresco, pela mistura de um indicador

como o azul de metileno, que após incubação a 37°C, o reagente é consumido caso haja crescimento bacteriano, e quanto menor esse tempo maior a quantidade de bactérias. Deve-se levar em conta, que micro-organismos psicotróficos e termotróficos são menos redutores, podendo estimar um falso resultado, dependendo de quais micro-organismos estão presentes na amostra. Além disso, a presença de resíduos de antimicrobianos também pode alterar esse valor (30).

O pH do leite fresco é ligeiramente ácido, em média de 6,6 a 25°C. Os métodos de verificação do pH do leite são bastante trabalhosos e não são aplicados rotineiramente na indústria de laticínios, porém é possível identificar por este teste se há presença de inflamação de glândulas mamárias, ou seja, de mastites, situação em que o leite se torna alcalino, pois com a inflamação há aumento de permeabilidade vascular com passagem de íons, principalmente cloro, que eleva o seu pH (30, 31).

Outro tipo de teste usado para avaliar a qualidade do leite, é de estabilidade ao Alizarol, indicador de acidez e estabilidade térmica. É de rápida realização, misturando uma solução alcoólica contendo Alizarina (um indicador de pH) e observando se há ou não coagulação, devido ao crescimento bacteriano. Entretanto, este teste pode não ser muito confiável devido a sua estabilidade para transformação em produtos condensados ou evaporados, além do que segundo a Embrapa, frequentemente são encontrados leites, que mesmo de boa qualidade, são positivos na prova do Alizarol, por conta de uma mudança no balanço de sais como Cálcio e Magnésio, por exemplo (30).

O leite é mais denso que a água (em média 1,032 g/mL) por conter substâncias dissolvidas e isso resulta em um ponto de congelamento inferior (abaixo de 0°C), que segundo a IN 62 em vigor, pode ir de -0,512 a -0,531°C. O teste de crioscopia tem como objetivo analisar estes índices de determinada amostra de leite, para garantir que não esteja adulterado e respeite os índices mínimos dos seus componentes (27).

A acidez titulável é um parâmetro usado para aferir o pH das amostras baseado na produção de ácido láctico pelas bactérias (0,14-0,18g de ácido a cada 100mL de leite). Este teste é medido em graus Dornic, determinados por faixas de variação de pH e quanto maior o grau Dornic, maior acidez presente. Também usado como guia para controle de manufatura de produtos lácteos, como o queijo. O leite fresco dentro dos padrões de normalidade, com pH entre 6,6-6,8 apresenta graduação de 15-18°D (30).

A densidade relativa do leite é medida por um aparelho denominado termolactodensímetro, que quantifica a relação entre o peso e volume do leite a 15°C, e pode variar de acordo com a densidade de gordura (desnatado, semi-desnatado e integral), pois quanto menor a quantidade de gordura no leite, maior a densidade relativa. Pode ser instrumento para verificar adulterações com adição de água gerando menor densidade, que se torna expressivo quando adicionado um teor acima de 5 a 10%. Para o leite integral a densidade relativa permitida pela legislação brasileira é de 1,028 a 1,034 g/MI (27,30).

A principal fonte de resíduos de antimicrobianos no leite são os tratamentos para a mastite, que em grande maioria, são oriundas do manejo inadequado desses fármacos, além da ampla utilização desses antimicrobianos para o tratamento de outros processos infecciosos no rebanho bovino leiteiro. Para isso, é preciso o controle deste tipo de medicamento em bovinos leiteiros, prevenindo-se os resíduos de antimicrobianos no leite. Foram desenvolvidos testes quantitativos e qualitativos, que com o passar dos anos se tornaram mais específicos e tecnológicos, que detectam resíduos de β -lactâmicos, sulfonamidas, gentamicina, tilosina, entre outros, bastante utilizados pela indústria de laticínios (32). Tamanha a importância da detecção de resíduos, que foi criado pela ANVISA o Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal (PAMVET) para monitoramento e

controle de resíduos em alimentos, conforme determina o inciso II do Parágrafo 1º do Art. 8º da Lei n. 9.782 de 26 de janeiro de 1999 (33), já que a presença de resíduos de medicamentos podem causar problemas de saúde para quem consome esse leite, além da possível seleção de cepas de bactérias resistentes, assunto de grande relevância para a saúde pública (13).

Outros dois testes de extrema importância para produção de um leite de qualidade, são os testes de Contagem de Células Somáticas (CCS) e Contagem Bactéria Total (CBT). A CCS pode ser realizada pelos métodos de contagem microscópica em lâminas (34) ou por meio de aparelhos eletrônicos, como o SOMACOUNT-300 (Bentley®). A indicação de demasiada concentração de células somáticas no leite é reflexo de baixa qualidade, principalmente por instauração de quadros de mastite ou outras doenças infecciosas no gado leiteiro. A CBT tem como finalidade contar o número total de micro-organismos aeróbicos, dando um resultado em determinada quantidade de bactérias ou unidades formadoras de colônias, permitindo avaliar desde a higiene na ordenha até estocagem do leite (30). As variações permitidas para estes testes estão discriminados na IN 62, de acordo com a tabela 1.

Uma das causas que mais compromete a produção e qualidade do leite é a mastite, considerada de alta prevalência nos rebanhos (17,35,36). A mastite pode ser classificada como ambiental ou contagiosa, dependendo do micro-organismo envolvido, apresentando manifestação clínica ou subclínica. A mastite clínica é caracterizada por resposta inflamatória mais severa que a subclínica, com alterações das características do leite, com o aparecimento de grumos de pus e sangue, verificados no teste da caneca de fundo preto, ao se examinar os primeiros jatos de leite. Em determinados casos, pode causar inclusive alterações sistêmicas na vaca, que em um quadro agudo da mastite infecciosa, causada por *S. aureus* caracteriza hipertermia, úbere quente e edemaciado, anorexia e claudicação. Em casos mais graves pode ocorrer até mesmo a gangrena e secagem da glândula. (37,38,39). A subclínica é diagnosticada por testes como o *California Mastitis Test* (CMT), que estima a quantidade de células somáticas no leite ordenhado (40). Esse quadro de mastite é caracterizado pela ausência de alterações macroscópicas no leite, apresentando somente mudanças microbiológicas e químicas (41). Por meio de um modelo epidemiológico fundamentado no momento de infecção, é possível classificar a mastite em mastite de ordenha (adquirida na ordenha) e mastite de ambiente (adquirida entre ordenhas) (42). Por isso, é possível afirmar o quão importante é o manejo e os cuidados durante a ordenha para se evitar a ocorrência de mastites. Além disso, Philpot & Nickerson (43) afirmam que para cada caso de mastite clínica, existem cerca de 15 a 40 casos subclínicos.

Costa et al. (15) destacam que a mastite pode refletir negativamente na produção leiteira por gerar queda na produção, descarte de leite, gastos com medicamentos e serviços veterinários, aumento de mão de obra, queda no valor do animal, gasto na reposição do plantel, entre outros, que resultam em prejuízo para o produtor. É importante a adoção de práticas para evitar a mastite nos rebanhos por meio de manejo profilático, desde a capacitação e treinamento de funcionários e ordenhadores, para maior sanitização do ambiente de ordenha, limpeza rigorosa de tetos, equipamentos de ordenha e tanques de resfriamento com produtos adequados, controle de temperatura, úberes sempre limpos e secos com antisepsia a cada ordenha no *pré* e *pós-dipping* (1,3,44). Além disso, é preciso investir em testes diagnósticos para detecção e tratamento dos animais evitando-se o contágio de outros. No caso de uma mastite clínica o tratamento é realizado no momento de identificação do quadro, e da subclínica na dependência do patógeno envolvido, o resultado do tratamento é mais eficiente quando realizado na secagem.

Algumas indústrias de laticínios no Brasil utilizam programas de pagamento do leite conforme análise de sua qualidade, monitorando CSS, CBT e composição (45,46). Isso se deve à grande preocupação com a qualidade de produtos lácteos que as empresas querem oferecer ao consumidor. Esta prática é importante como estímulo aos produtores que utilizam programas de controle visando a obtenção de leite de melhor qualidade. Se por um lado esta se premiando o produtor por qualidade, devemos pensar também no estímulo àqueles que de fato são os maiores responsáveis pela qualidade do leite, que são os ordenhadores e todas as pessoas envolvidas com o processo de ordenha. A valorização dos recursos humanos de uma propriedade rural deve ser pensada, pois no processo produtivo são eles que contribuem não somente para a qualidade, mas também por aumentar a produtividade. Desta forma, com melhor qualidade do leite, há ganhos para os produtores e principalmente para os consumidores, que estarão adquirindo leite e produtos lácteos de melhor qualidade.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Vários aspectos devem ser considerados para aumentar a produção leiteira, com produtos lácteos de melhor qualidade. Educação sanitária visando a obtenção higiênica do leite bem como o controle de mastites, trazem reflexos positivos diminuindo as taxas de CCS e de CBT do leite, parâmetros importantes do Programa de Qualidade do Leite do MAPA, entre outros parâmetros avaliados. Deve-se estimular o pagamento aos produtores pela qualidade do produto entregue às indústrias de laticínios e da mesma forma deve-se valorizar os recursos humanos nas propriedades rurais, especialmente os envolvidos com o processo de ordenha, que devem ser pessoas treinadas e estimuladas, para se elevar a autoestima, uma vez que elas são as responsáveis pela prevenção e controle de mastites, que resulta em aumento na produção e melhor qualidade do leite produzido.

REFERÊNCIAS

1. Langoni H. Qualidade do leite: utopia sem um programa sério de monitoramento da ocorrência de mastite bovina. *Pesq. Vet. Bras.* 2013, 33(5):620-626.
2. Aguiar CL, Coró FAG, Pedrão MR. Componentes ativos de origem animal. *B. CEPPA, Curitiba.* 2005. 23(2):413-434.
3. Costa EO. Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL). *Rev. Napgama, São Paulo.* 2005.8(2):18-21.
4. Ponchio LA, Gomes AL, Paz E. Perspectivas de consumo de leite no Brasil. *Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada - CEPEA - Esalq/Usq. São Paulo,* 2005.
5. Carvalho MP, Venturini CEP. Consumo per capita não cresce em 2012, após vários anos de forte crescimento. *Revista MilkPoint,* 2013. [Internet]. Disponível em: <http://m.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/panorama/consumo-per-capita-nao-cresce-em-2012-apos-varios-anos-de-forte-crescimento-86033n.aspx>
6. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Assessoria de Gestão e Estratégia. Plano Mais Pecuária. Brasília, 2014.

7. Associação Brasileira de Criadores de Girolando. Brasil deve subir no ranking mundial de produção de leite em 2014. Julho, 2014. [Internet]. Disponível em: <http://www.girolando.com.br/megaleite/?noticia,2033,2>
8. USDA Foreign Agricultural Service. [Internet] Disponível em: <http://apps.fas.usda.gov/pdsonline/>
9. Siqueira BK, Carreiro AV, Almeida MF, Nalon RCS. Circular Técnica Embrapa, Juiz de Fora, MG, n.104, 1ªEd. Dez, 2010.
10. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estatística de Produção Pecuária, 2013.
11. Mingoti R, Holler WA, Spadotto CA. Definição de regiões prioritárias para aumento da produção de leite no Brasil. Embrapa Gestão Territorial. Campinas, SP. 2014, 2 p.
12. Teuber M. Microbiological problem facing the dairy industry. Bull. Int. Dairy Fed., (276):6-8, 1992.
13. Guimarães FF, Langoni H. Leite: Alimento Imprescindível, mas com Riscos para Saúde Pública. Rev. Veterinária e Zootecnia. 2009 mar. 16 (1):38-51.
14. Aureli P, et al. An outbreak in Italy of botulism associated with a dessert made with Mascarpone cream cheese. Eur J. of Epidemiol, Roma. 2000. 16(10):913-8.
15. Costa, EO. Importância Econômica da Mastite Infecciosa bovina. Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 1991. 15:21-2.
16. Santos MV. Influência da qualidade do leite na manufatura e vida de prateleira de produtos lácteos: papel das células somáticas. In: Brito JFR, Portugal JAB (Org.). Diagnóstico de qualidade do leite, impacto para indústria e a questão dos resíduos de antibióticos. Juiz de Fora, 2003. v.1, p.139-149.
17. Langoni H, Silva AV, Cabral KG, Domingues PF. Aspectos etiológicos na mastite bovina: flora bacteriana aeróbica. Rev Bras Med Vet. 1998, 20:204-209.
18. 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. São Paulo. 2001,38(6):284-87.
19. Franco MMJ, Paes AC, Ribeiro MG, Pantoja JCF, Santos ACB, Miyata M, Leite CQF, Motta RG, Listoni FJP. 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.

20. Guimarães FF, Nóbrega DB, Richini-Pereira VB, Marson PM, Pantoja JCF, Langoni H. Enterotoxin genes in coagulase-negative and coagulase-positive staphylococci isolated from bovine milk. *J Dairy Sci.* 2013, v. 96 (5): 2866-72.
21. Badini KB, Nader Filho A, Amaral LA, Germano PML. Risco à saúde representado pelo consumo de leite cru comercializado clandestinamente. *Rev. Saúde Pública.* 1996, 30(6):549-552.
22. Shukken, YH, Wilson DJ, Welcome F, Garrison-Tikofsky L, Gonzalez RN. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Vet Res.* 2003, 34(5):579-96.
23. Monardes H, Dürr JW, Carvalho MP, Santos MV. Reflexões sobre a qualidade do leite. In: *O compromisso com a qualidade do leite no Brasil*; Universidade Passo Fundo. Passo Fundo: 2004. p.11-37.
24. Berry DP, O'brien B, O'callaghan KO, Sullivan KO, Meaney WJ. Temporal trends in bulk tank somatic cell count and total bacterial count in Irish dairy herds during the past decade. *J Dairy Sci.* 2006, 89(10):4083-93.
25. Porto E. Tipos de Leite. LAN/Esalq/USP, 2007. [Internet]. Disponível em: www.esalq.usp.br/departamentos/lan/pdf/tipos_leite.doc [Acesso em: 28/07/2014].
26. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 51, de 20 de setembro de 2002. Diário Oficial da União, Brasília, DF, Seção 1, p.13.
27. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 62. Brasília, 2011.
28. Dürr JW, et al. Como produzir leite de qualidade. Coleção SENAR – Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. Brasília, 2012. [Internet]. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/CRC/SENAR%20-%20Produ%C3%A7%C3%A3o%20de%20leite%20conforme%20IN%2062.pdf
29. Centro de Inteligência do Leite. Pecuarista terá que se adaptar para produzir leite B no Brasil. Embrapa Gado de Leite, 2012. Disponível em: <http://guernsey.cnppl.embrapa.br/content/pecuarista-ter%C3%A1-que-se-adaptar-para-produzir-leite-b-no-brasil> [Acesso em: 24/07/2014].
30. Souza G, Brito MA, Brito JR, Arcuri E, Lange C, Silva M. Testes de qualidade do leite. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Agência de Informação Embrapa, Agronegócio do Leite [Internet]. Disponível: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_189_21720039246.html [Acesso em 24/07/2014].
31. Langoni H, Corrêa CNM, Corrêa WM, Barros JA, Corrêa GN. Mastites bovinas por *Candida* e *Klebsiella*. *Rev. Bras. Med. Vet.* v.7, n.7, p. 203–204, 1985.

32. 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. Campinas*. 2007, 27(2): 391-393.
33. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa Nacional de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de origem animal - PAMVet. Brasília, 2009. [Internet]. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/72efdb0047458ad19441d43fbc4c6735/PAMVET.pdf?MOD=AJPERES> [Acesso em: 10/09/2014]
34. Prescott SC, Breed RS. The determination of the number of body cell in milk by a direct method. *J Infec Disease*. 1910, 7(632):632-40.
35. Halasa T, Huips K, Osteras O, Hogeveen H. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: a review. *Vet Q*. 2007;29:18-31.
36. Tozzetti DS, Bataier, MBN, Almeida LR. Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas – Revisão de literatura. *Revista científica eletrônica de medicina veterinária*. 2008, ano 6, n.10, 7p.
37. Prestes DS, Filappi A, Cecim M. Susceptibilidade à mastite: fatores que influenciam - uma revisão. *Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia*, 2003. 9 (1): 48-59.
38. Costa NA. Estudo do proteinograma e dosagens séricas dos minerais, cobre, ferro e zinco em ovelhas Santa Inês com Mastite induzida experimentalmente por *Staphylococcus Aureus*. [Tese de doutorado]. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2009.
39. Ribas BP, Peres BP, Mendonça BS, Moraes CB, Vitorino DCA, Fabris IA, Callefe JLR, et al. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina. In: *Anais do XIII Sudeste Pet*, 2013. São Paulo, Ilha Solteira; Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, 2013.5p.
40. Schalm GN, Noorlander DD. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *J. Am. Med. Assoc*. 1957, 130:199-204.
41. Domingues PF, Langoni H. Manejo sanitário animal. Rio de Janeiro: EPUB. 2001, p.210.
42. Esslemont D, Kossaibati M. Mastitis: how to get out of the dark ages. *Vet J*, 2002; 164: 85-86.
43. Philpot WN, Nickerson SC. Mastitis: Counter Attack. Naperville: Babson Bros. 1991, 150p.

44. Guerreiro PK, Machado MRF, Braga GC, Gasparino E, Franzener ASM. Qualidade microbiológica do Leite em Função de Técnicas Profiláticas no Momento de Produção. *Ciência e Agrotecnologia*. 2005, 29(1):.216-22.
45. Ribas, NP, Hartmann W, Monardes HG, Andrade UVC. Sólidos Totais do Leite em Amostras de Tanque nos Estados do Paraná, Santa Catarina e São Paulo. *Rev Bras Zootec*. 2004; 33(6):2343-50.
46. Roma Junior LC, Montoya JFG, Martins TT, Cassoli LD, Machado PF. Sazonalidade do teor de proteína e outros componentes do leite e sua relação com o programa de pagamento de qualidade. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2009, 61(6):1411-18.

Recebido em: 19/01/2015

Aceito em: 25/03/2015

INSTABILIDADE ATLANTOAXIAL EM CÃES: FISIOPATOLOGIA, ABORDAGENS CLÍNICO-CIRÚRGICAS E PROGNÓSTICO

Carolina Camargo Zani¹
Paulo Vinícius Tertuliano Marinho²
Bruno Watanabe Minto³
Tiago Barbalho Lima⁴
Paola Castro Moraes⁵
José Luiz Laus⁵

RESUMO

A instabilidade da articulação atlantoaxial é uma afecção comum entre cães de raça de pequeno porte, e os sinais clínicos desenvolvem-se com menos de dois anos de idade, geralmente são progressivos e o paciente apresenta hiperestesia cervical, ataxia proprioceptiva, e em casos severos paraplegia. A instabilidade pode gerar subluxação dorsal do axis em relação ao atlas, levando a uma lesão medular em diferentes níveis. Alterações congênitas, como ausência ou hipoplasia do processo odontóide e ligamentos, ou traumáticas, como fraturas do processo odontóide e ruptura dos ligamentos estão envolvidas na fisiopatologia da afecção. O diagnóstico pode ser realizado com auxílio de radiografias lateral e ventrodorsal com a região craniocervical em posição neutra. O tratamento clínico é a escolha primária e faz-se o uso de colar cervical por três meses, confinamento e corticosteróides. Exceção a este tratamento são pacientes com apresentação clínica severa ou refratários ao tratamento conservativo, nestes casos indica-se a cirurgia para estabilização por meio de abordagens ventrais ou dorsais. Observou-se que as técnicas cirúrgicas ventrais apresentam maiores índices de sucesso e menores recorrências de recidivas, contudo, as estabilizações cirúrgicas continuam a ser um desafio pela elevada taxa de complicações e óbitos transoperatórios.

Palavras-chave: subluxação atlantoaxial, mielopatia cervical, fisiopatogenia, cão.

ATLANTOAXIAL INSTABILITY IN DOGS: PATHOPHYSIOLOGY, CLINICAL-SURGICAL APPROACHES AND PROGNOSIS

ABSTRACT

The instability of the atlantoaxial joint is a common condition among dogs small breed, and clinical signs are developed under two years of age, are usually progressive and the patient presents cervical hyperesthesia, ataxia proprioceptive, and in severe cases tetraplegia. The instability can generate subluxation dorsal of axis in relation to the atlas, leading to spinal cord injury at different levels. Congenital abnormalities, such as absence or hypoplasia of the odontoid process and ligaments, or traumatic, such as fractures of the odontoid process and

¹ Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal. Departamento de Clínicas Veterinárias. Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR

² Mestrando do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal. Departamento de Clínicas Veterinárias. Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR. Contato principal para correspondência

³ Professor Doutor do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP – Jaboticabal, SP

⁴ Doutorando em Cirurgia Veterinária. Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP – Jaboticabal, SP

⁵ Professor(a) Doutor(a) do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP – Jaboticabal, SP

rupture of ligaments are involved in the pathophysiology of the disease. The diagnosis can be performed with the aid of lateral X-rays with the DV region craniocervical in neutral position. Clinical treatment is the primary choice and makes the use of cervical collar for three months confinement and corticosteroids. Exception to this treatment are patients with severe clinical presentation or refractory to conservative treatment in these cases is indicated surgery to stabilize through the ventral or dorsal approaches. It was observed that the ventral surgical techniques have higher success rates and lower recurrence of relapse, however, surgical stabilization remains a challenge due to high rate of intraoperative complications and death.

Keywords: atlantoaxial subluxation, cervical myelopathy, pathophysiology, dog.

INESTABILIDAD ATLANTOAXIAL EN PERROS: FISIOPATOLOGÍA, ENFOQUES CLÍNICO-QUIRÚRGICOS Y PRONÓSTICO

RESUMEN

La inestabilidad de la articulación atlantoaxial es una condición común entre los perros de raza pequeña, y los signos clínicos se desarrollan bajo dos años de edad, son por lo general progresiva y el paciente hiperestesia cervical, ataxia propioceptiva, y en casos severos tetraplejia. La inestabilidad puede generar eje dorsal subluxación en relación con el atlas, lo que lleva a una lesión de la médula espinal en los diferentes niveles. Anomalías congénitas, tales como ausencia o hipoplasia de la apófisis odontoides y ligamentos, o traumática, tales como fracturas de la apófisis odontoides y la rotura de los ligamentos están implicados en la fisiopatología de la enfermedad. El diagnóstico se puede realizar con la ayuda de los rayos X en la región lateral VD craneocervical en posición de punto muerto. El tratamiento clínico es la elección primaria y hace que el uso del collarín cervical durante tres meses de confinamiento y corticosteroides. Excepción a este tratamiento son los pacientes con presentación clínica grave o refractario al tratamiento conservador en estos casos la cirugía está indicada para estabilizar a través de los enfoques ventral o dorsal. Se observó que las técnicas quirúrgicas ventrales tienen mayores tasas de éxito y menor recurrencia de recaídas, sin embargo, la estabilización quirúrgica sigue siendo un desafío debido a la alta tasa de complicaciones intraoperatorias y muertes.

Palabras clave: atlas y subluxación, mielopatía cervical, fisiopatología, perro.

INTRODUÇÃO

A subluxação atlantoaxial é referida como uma instabilidade da articulação entre a primeira e a segunda vértebra cervical e conduz ao deslocamento dorsal do axis em relação ao atlas podendo ocasionar lesões traumáticas da medula espinhal tais como à concussão e compressão (1,2). É mais comum entre cães de raça de pequeno porte como o Poodle toy e miniatura, Yorkshire Terrier, Chihuahua, Pequinês e o Lulu da Pomerânia (2-4). Esta condição é secundária as anormalidades congênitas e de desenvolvimento do atlas e axis (ósseo ou ligamentar) ou injúria traumática da articulação, ou uma combinação de ambos (1,5).

Os cães afetados geralmente desenvolvem sinais clínicos nos primeiros dois anos de vida, em 52% a 70% dos pacientes, sendo o início com menos de um ano de idade. Não há predileção pelo sexo (2).

Lesões agudas ou crônicas na medula espinhal cervical são as principais consequências da instabilidade atlantoaxial em cães (4,6). Os sinais clínicos associados variam com a

gravidade da injúria medular, desde dor cervical à tetraplegia, e em compressões medulares graves o paciente pode vir a óbito devido à parada respiratória (3,4,7).

O tratamento cirúrgico bem como métodos conservativos tem sido descritos em literatura. Tratamentos não cirúrgicos são indicados em casos agudos e para pacientes com dor cervical e alterações neurológicas mínimas. Indica-se a estabilização com colar cervical, administração de agentes antiinflamatórios e analgésicos e confinamento em canil com espaço limitado (8,9). Pacientes não responsivos ou com piora do quadro neurológico ao tratamento conservativo, assim como pacientes com déficits neurológicos severos são candidatos à estabilização cirúrgica (10).

As técnicas cirúrgicas para estabilização são divididas em abordagens dorsais ou ventrais. Procedimentos para estabilização dorsal dependem principalmente da formação de fibrose após a estabilização com sutura protética, fios ortopédicos, ligamento nugal ou afastadores especialmente concebidos (1, 4, 8,11-14). As várias técnicas de fixação ventral envolvem a colocação de parafuso com efeito auto compressivo (*lag*) ou pinos transarticulares, utilização de pino ou parafusos com ou sem cimento ósseo e fixação com placas (7,10,14-19). Além disso, a estabilização ventral permite a remoção do processo odontóide e a incorporação de um enxerto ósseo esponjoso entre as facetas articulares a fim de maximizar a geração da artrodese atlantoaxial (6, 10,16,19).

O prognóstico para animais com subluxação atlantoaxial varia dependendo da cronicidade e da gravidade da lesão medular (5). De modo geral, em longo prazo, o resultado é de bom a excelente para os animais tratados clinicamente que apresentem dor ou déficits neurológicos leves a moderados e sinais clínicos com menos de 30 dias de progressão (20).

Devido à importância da instabilidade atlantoaxial em cães, o presente trabalho teve por objetivos discorrer sobre a fisiopatologia, os diversos tipos de tratamentos clínico-cirúrgicos a fim de se obter os melhores resultados e prognóstico para cada apresentação clínica desta afecção.

Anatomia Cirúrgica da Articulação Atlantoaxial

De acordo com Seim III (21) há peculiaridades anatômicas do atlas e axis com importância cirúrgica no tratamento da instabilidade atlantoaxial. O atlas apresenta o arco dorsal (lâmina) fino, ausência de processo espinhoso e corpo vertebral, tendo apenas uma fina fôvea ventral. Portanto, esses locais são frágeis e pouco recomendados para inserção de implantes isoladamente para estabilização.

O ponto de referência cirúrgica ventral constitui dos processos transversos do atlas, e dorsalmente o processo espinhoso do axis. O axis apresenta corpo vertebral cranial fino, com pouca força para inserção de implantes, entretanto em sua porção caudal possui bom aporte ósseo. Os processos articulares atlantoaxial representam boa base estrutural para inserção de implantes ventrais e é, também, usado para avaliar a redução anatômica (21).

O atlas apresenta os forames transversos que são pequenos canais passando obliquamente dentro do processo transversos, e o forame vertebral lateral que atravessa a porção craniodorsal do arco vertebral. A fossa atlantal representa depressões ventrais nas asas onde a veia e artéria vertebral passam. A veia se estende dentro do forame transversos caudalmente e se anastomosa com a veia jugular interna na fossa condilar ventral rostralmente. Uma ramificação venosa percorre dorsalmente dentro do dente, cranial na asa, formando o plexo venoso vertebral externo. A artéria vertebral entra no canal vertebral dentro do forame vertebral lateral, após primeiro ter corrido dentro do forame transversos do atlas (22).

Fisiopatogenia da Subluxação Atlantoaxial

A subluxação atlantoaxial foi primeiramente relatada em cães no ano de 1967 (23). Desde esta época, deformidade severa de origem congênita e de desenvolvimento da articulação atlantoaxial tem sido documentada como causa de instabilidade da coluna vertebral, predispondo a subluxação atlantoaxial, particularmente em cães jovens de raças pequenas (22).

Esta afecção é resultante de anormalidades ósseas e ligamentares entre o atlas e o axis (22). Na instabilidade atlantoaxial as alterações mais frequentemente presentes estão associadas com o processo odontóide como agenesia ou hipoplasia, angulação dorsal e fratura, avulsão ou não união do processo odontóide com o axis (2, 5, 9,24). A instabilidade articular atlantoaxial pode ocasionar uma concussão e compressão da medula espinhal cervical, resultantes do deslocamento do dente do axis (subluxação) para o interior do canal vertebral (22). Isto resultará em edema e inflamação da medula espinhal o qual pode estender-se cranialmente para o tronco cerebral (5).

A patogênese das malformações do desenvolvimento permanece incerta (1). O atlas de um cão adulto se desenvolve a partir de três elementos ósseos, e o axis de sete (5,9,22). O processo odontóide é derivado do centro de ossificação do axis referido como “centro 1”. Muitos cães também apresentam um centro de ossificação pequeno chamado de centro do proatlas que forma um pequeno apêndice ao processo odontóide. Este funde-se com o centro de ossificação do “centro 1” com três a quatro meses de idade (5, 25). Um centro do proatlas não unido pode ser erroneamente interpretado ao exame radiográfico como fratura do dente (5).

A ossificação é primeiramente vista no “centro 1” com três semanas de idade (9,25). Se o “centro 1” falhar no desenvolvimento, a porção cranial inteira do corpo do axis que articula com o atlas ficará ausente, não apenas o processo odontóide (25).

Não está claro se a ausência do processo odontóide é sempre devido a uma ausência congênita de um centro de ossificação ou se pode ser devido a uma necrose isquêmica em algumas raças de cães (5). De acordo com Vitte & Braund (1) e DeLahunta & Glass (25), é mais provável que o processo odontóide, que está presente ao nascimento, sofra uma degeneração progressiva relacionada à isquemia vascular podendo levar a reabsorção de pelo menos parte deste no período pós-nascimento e resultar em displasia do processo odontóide e posterior subluxação atlantoaxial (1,25). A patogênese da doença pode estar relacionada ao desenvolvimento prematuro de hormônios sexuais em cães de raças *toy* e miniatura (25).

A aparência e o tempo de fusão destes elementos em ambos os ossos varia mesmo dentro de ninhadas. A fusão de todas as placas de crescimento do axis progride de 30 a 396 dias após o nascimento (22).

A articulação atlantoaxial se movimenta até o limite de flexão quando a cabeça é forçada ventralmente, forças adicionais promovem estresse da articulação (9). Isto poderá resultar em estiramento ou ruptura dos ligamentos atlantoaxial dorsal, alares, transversos ou apical, ou fratura do dente, processo espinhoso ou da porção rostral do corpo do axis, ou a combinação de ambos, e com isso ocasionar subluxação atlantoaxial devido à instabilidade articular (9).

Uma força considerável é requerida para propiciar esta injúria em cães normais, entretanto, cães com anomalias congênicas graves ou do desenvolvimento são predispostos a estas alterações apenas por um trauma mínimo, causando falhas no mecanismo de suporte da articulação atlantoaxial (9,22,24).

Na maioria dos cães com subluxação atlantoaxial, o processo odontóide estará ausente ou hipoplásico em 46%, mal formado em 30% e normal em 24% dos casos (24). Em cães com processo odontóide normal ou com uma má formação, a anomalia do ligamento transversos do atlas pode produzir uma subluxação da articulação. Este se agrava quando o processo odontóide tende a sobressair dentro do canal medular (24). O grau de deslocamento e impacto

neural depende do grau de flacidez da articulação atlantoaxial e pode ser mais grave se os dentes estiverem intactos (2).

A subluxação atlantoaxial também pode ocorrer em cães em associação com má formação occipitoatlantoaxial (1). Podem estar presentes deformidades congênicas da coluna cervical superior que se caracteriza pela ausência dos côndilos occipitais com a fusão do atlas com o occipital e/ou hipoplasia do atlas, axis e dente. As articulações atlantooccipital e atlantoaxial são consideradas como um complexo único em ambos os fundamentos anatômicos e biomecânicos. Fusão da articulação atlantooccipital pode exacerbar a instabilidade da articulação atlantoaxial e dificultar o tratamento cirúrgico (1). As duas primeiras vértebras cervicais também podem estar anormais em seu formato e tamanho (2).

Fraturas do corpo do axis levam a um desprendimento do processo odontóide em direção ao atlas, entretanto comumente causa menos trauma medular do que na presença de ruptura dos ligamentos atlantoaxial (9).

Sinais Clínicos

A subluxação atlantoaxial é causa frequente de mielopatia cervical em 53 a 77% dos cães das raças *toy* (5,8,24). Cães de raças pequenas incluindo Yorkshire Terrier, Chihuahua, Poodle miniatura e Pequines são mais comumente afetados por anormalidades congênicas e de desenvolvimento que predispõe a subluxação atlantoaxial devido à instabilidade (22). Embora rara esta afecção foi descrita, em cães de grande porte, incluindo o Rottweiler, Doberman Pinscher, Pastor Alemão e Poodle gigante (2, 26).

A instabilidade não está, obrigatoriamente, associada com sinais clínicos (9). A severidade do mesmo dependerá do grau de injúria por concussão e compressão à medula espinhal após uma subluxação (22).

Ao exame neurológico, o paciente apresentará alterações compatíveis com mielopatia do segmento medular cervical C1-C5, com hiperreflexia nos membros pélvicos e torácicos, presença de reflexo cutâneo do tronco, ausência de alterações de nervos cranianos, exceto em lesões concomitantes da medula oblonga e ainda presença, porém rara, de Síndrome de Horner (1,2,5,22).

A disfunção ambulatoria está presente na maioria dos casos e, de acordo com o grau de lesão medular, apresenta-se desde ataxia proprioceptiva (observada em 56% dos casos) à tetraplegia (em aproximadamente 10% dos casos) (2,24,26). Dor cervical está presente em 30 a 60% dos cães com alterações congênicas (9,22,24).

Os sinais clínicos possuem progressão variada, podendo ter início agudo ou crônico, e evolução intermitente ou progressiva (5). As alterações neurológicas medulares podem ser assimétricas, e comumente os sinais clínicos apresentam-se piores nos membros pélvicos (22).

Sinais clínicos graves podem estar presentes em alguns cães mesmo na ausência notável de compressão medular; nestes casos, o uso da ressonância magnética pode sugerir anormalidades do parênquima medular, incluindo hemorragia (27). O edema e hemorragia podem ser devido a trauma grave na medula espinhal cervical que se estendem para a medula oblonga caudal resultando em déficits de nervos cranianos (1). Anormalidades da postura como rigidez do pescoço, podem ser vista em cães devido a uma siringohidromielia concomitante (22).

Na instabilidade atlantoaxial os sinais clínicos são exacerbados após flexão do pescoço, pois o processo odontóide comprime cada vez mais a medula espinhal. Em casos graves sinais clínicos de lesão da medula oblonga caudal, como hipoventilação e sinais vestibulares estão presentes, e paralisia respiratória e morte súbita pode ocorrer posteriormente (2,5).

Os sinais neurológicos podem ser inespecíficos quando a instabilidade atlantoaxial se apresentar associada às anomalias encefálicas e, nestes casos, devem ser avaliados com

cuidado a fim de diagnóstico. Estudos relatam hidrocefalia em cães com subluxação atlantoaxial, o que pode culminar com sinais relacionados ao córtex cerebral. A hidrocefalia também pode acompanhar a siringohidromiela. Outra possível explicação para os sinais de córtex cerebral em cães com subluxação atlantoaxial é a encefalopatia hepática que se apresenta em cães de raça *toy*, e foi relatada em 2 de 6 cães que se submeteram a cirurgia para correção de subluxação atlantoaxial (24).

Sinais neurológicos compatíveis com alteração cortical, tais como incoordenação junto com déficits vestibulares, também são associados com a compressão da artéria basilar causada pelo processo odontóide, o que restringe o fluxo sanguíneo nessas regiões. Os sinais tendem a se resolver após o tratamento clínico-cirúrgico (24).

Diagnóstico

O diagnóstico da subluxação atlantoaxial é baseado no histórico, sinais clínicos e neurológicos, além dos exames de imagem (9). Podem ser encontradas apresentações clínicas de origem traumática, congênita ou ambas. A forma traumática pode ocorrer em cães independentemente da raça, idade ou porte. Entretanto, a forma congênita, quase que exclusivamente, afeta cães de raças *toy*, com menos de 1 ano de idade, mas pode apresentar-se ao longo da vida (9). Os cães apresentam histórico de trauma em muitos casos, mas a magnitude do mesmo é muito menor na forma congênita e relacionadas a atividades cotidianas, como pular da cadeira (9).

Os sinais clínicos são variados de acordo com o tipo de lesão, mas ao exame neurológico, a localização da lesão sempre irá evidenciar alteração no segmento medular C1-C5. Não se deve flexionar o pescoço de um paciente com suspeita de subluxação atlantoaxial, pois os sinais neurológicos podem se agravar (24).

Radiografias cervicais laterais bem posicionadas frequentemente fornecem um diagnóstico definitivo de subluxação atlantoaxial (9). Estas evidenciam fratura ou um deslocamento anormal dorsal e cranial do axis em relação ao atlas com aumento da distância entre o processo espinhoso do axis e o arco dorsal do atlas e anormalidades do dente (2,5,9,24). O atlas também pode estar anormalmente curto. Se a instabilidade não for evidente com o pescoço em posição neutra, este pode ser ligeiramente flexionado, de preferência utilizando-se da fluoroscopia para minimizar o grau de flexão necessária para identificar instabilidade (2, 5, 9,24).

A projeção lateral é a mais útil, mas as anormalidades do dente são melhores observadas nas projeções ventrodorsais e oblíquas, pois o processo transversal do atlas não sobrepõe ao processo odontóide (2, 5, 9,24).

Nos pacientes com fratura traumática do processo odontóide, um deslocamento craniodorsal do axis sugestivo de subluxação atlantoaxial pode estar evidente nas radiografias, entretanto, a linha de fratura pode não ser tão facilmente visibilizada na projeção lateral (8).

Em alguns casos, as radiografias não evidenciam alteração atlantoaxial e, quando tomados isoladamente, não demonstram o grau de compressão neural (2,8). Imagens adicionais são recomendadas em cães suspeitos de instabilidade atlantoaxial para avaliar o grau de compressão da medula espinhal e determinar se outros distúrbios da junção craniocervical e encefálica estão presentes (2).

A mielografia não é um exame indicado para diagnóstico, apesar de avaliar o grau de compressão da medula espinhal, pois não permite a avaliação do parênquima e tem o risco relacionado à deterioração neurológica, convulsões e parada respiratória pós-exame (2,24). Adicionalmente, não se deve realizar punção na cisterna magna para coleta do líquido cefalorraquidiano (LCR) ou para realização da mielografia. Se estritamente necessário, realizar a punção lombar, pois devido alterações anatômicas presentes nesta afecção há um risco elevado de lesão à medula oblonga (24). A coleta do LCR é recomendada nos casos em

que o diagnóstico não é evidente nas imagens, especialmente em cães de raças tipicamente propensos à doença inflamatória do sistema nervoso central (5).

Embora se disponha de técnicas muito mais simples como radiografias para avaliar a instabilidade atlantoaxial, técnicas adicionais de diagnóstico por imagem contribuem sobremaneira para uma avaliação pré-operatória efetiva (24). A tomografia computadorizada (TC) proporciona uma imagem excelente das partes ósseas que auxilia no planejamento da intervenção cirúrgica. Se anomalias congênitas múltiplas e doenças concomitantes como doença do disco intervertebral estiverem presentes, a TC será útil para excluir ou confirmar outros diagnósticos diferenciais (5). Este exame também revela estruturas anormais do processo odontóide, observadas em mais de 70% dos cães (24).

A ausência desses potenciais efeitos colaterais e melhor avaliação de estruturas neurais fornecida com a ressonância magnética (RM) torna esta uma modalidade de imagem ideal para cães com instabilidade atlantoaxial associados com sinais clínicos de doença encefálica (2,5,24). A RM pode ser utilizada para avaliar as vértebras e identificar compressão da medula espinhal (27). Esta também revela a extensão da lesão do parênquima medular e encefálico (5). Além disso, a RM é útil para excluir a presença de doenças concomitantes com sinais clínicos para uma mesma região, e para identificar doenças subjacentes (siringohidromielia) que podem influenciar no prognóstico da mielopatia em longo prazo (5,24). Hemorragia medular intraaxial secundária à subluxação atlantoaxial foi diagnosticada em um cão através do exame de RM (27).

Diagnóstico diferencial

Diagnósticos diferenciais para cães de raças pequenas que apresentam sinais de lesão cervical incluem diversas afecções. As mais prováveis estão relacionadas às doenças inflamatórias e infecciosas do sistema nervoso central como meningoencefalites, meningomielites e meningoencefalomielites (5,22,24). A doença do disco intervertebral cervical é mais comum em cães de idade avançada e rara em cães com menos de 2 anos de idade. A discoespondilite e fraturas cervicais podem estar presentes em qualquer idade (5,24). Outras anomalias crânio-espinhais (por exemplo, siringohidromielia, síndrome de Chiari, sobreposição atlantooccipital, malformação occipitoatlantoaxial, compressão dorsal craniocervical) e neoplasias da coluna cervical ou cerebrais podem estar presentes (5,24). O diagnóstico de instabilidade na articulação atlantoaxial deve ser considerado um achado clinicamente relevante e tratado rapidamente (5).

Tratamento

A instabilidade traumática ou congênita pode ser tratada tanto de modo conservativo como cirúrgico (2, 5, 9,24). Ambos os tratamentos possuem resultados favoráveis (8).

Tratamento Conservativo

O tratamento conservativo é recomendado para cães com déficits neurológicos leves, sinais clínicos com início agudo, cães com imaturidade vertebral, e aqueles para os quais as restrições financeiras não incluem a cirurgia como uma opção (2). O objetivo do tratamento conservativo é imobilizar a articulação atlantoaxial gerando uma fusão por meio de fibrose ou formação de calo ósseo nos casos associados com fratura. Este processo é resultado da rigidez da articulação enquanto as estruturas ligamentares cicatrizam (2,8,22). Segundo Cerda-Gonzalez & Dewey (2), a taxa de sucesso do tratamento conservativo varia de 50% a 63%.

O tratamento consiste em confinamento em canil por seis a doze semanas, utilização de analgésicos (cloridrato de tramadol 3 mg/kg TID), antiinflamatórios (meloxicam 0,1 mg/kg

SID) e colar cervical rígido (2,5,22,24). O movimento da cabeça e do pescoço é restringido por um colar cervical confeccionado com materiais para tala com um suporte rígido (9). A bandagem deve ser realizada com a coluna rígida e estendida, e delimitada entre o limite caudal à mandíbula até os ombros e região do processo xifóide (8,20). Caso a bandagem não esteja o mais cranial possível do pescoço, um estresse pode ser gerado na articulação atlantoaxial. Se a bandagem for realizada muito caudal, sem um suporte adequado na porção cranial, ocorrerá redução no movimento da porção média e caudal da coluna cervical gerando um aumento do movimento de estresse na região atlantoaxial, o qual não é desejado (8).

Poderá haver complicações com bandagens muito apertadas na região cervical alta, a maioria com potencial de compressão das vias aéreas, ou dano venoso, e desenvolvimento de edema de face, especialmente no espaço intermandibular (8). Outras complicações associadas à tala são úlcera de córnea, migração da tala, dermatite, úlcera de decúbito, hipertermia, anorexia, otite externa, acúmulo de restos de alimentos entre a tala e a mandíbula (22).

O corticóide é empregado apenas no trauma medular agudo, dentro das primeiras 8 horas após o trauma, mas seu uso ainda é controverso apesar de extensa pesquisa clínica (28). Os mecanismos propostos para o uso de corticosteróides incluem efeitos anti-radicais livres, antiinflamatórios e melhora no fluxo de sangue regional, apenas no uso de succinato sódico de metilprednisolona (SSMP). A principal propriedade neuroprotetora do SSMP parece ser seu efeito anti-radicais livres. Outros corticosteróides (por exemplo, prednisona e dexametasona) não possuem essa propriedade e é improvável que tenham qualquer efeito benéfico no tratamento (28). Nenhum estudo demonstrou efeito benéfico dos corticoides na melhora da função motora. Dado o potencial para efeitos secundários adversos, tais como a ulceração gastrointestinal, imunossupressão e comprometimento da perfusão renal em pacientes com hipovolemia, a administração rotineira de corticosteróides (incluindo SSMP) não é recomendada (28).

Como o tratamento conservativo se baseia em resultado em longo prazo, os proprietários devem ser alertados em proteger seus cães de trauma, indefinitivamente (9).

Devido a este tipo de tratamento não permitir a fusão articular direta e nem o realinhamento das vértebras cervicais, pode ocorrer um aumento contínuo ou recorrente de lesões às estruturas neurais (2). Animais com menos de seis meses de idade indica-se a terapia conservadora, se possível, para permitir uma completa mineralização dos ossos e fechamento das fises vertebrais, antes de se tentar a estabilização cirúrgica (5).

Havig et al. (20) avaliaram os resultados a longo prazo no tratamento conservativo em 19 cães com subluxação atlantoaxial utilizando colar cervical. Neste estudo, observou-se que cães apresentando duração média de sinais clínicos menor ou igual há 30 dias antes do início do tratamento conservativo foram significativamente mais propensos a ter um bom resultado a longo prazo em comparação com os cães afetados com mais de 30 dias. Adicionalmente, o grau neurológico na admissão, o aspecto radiográfico do processo odontóide, bem como a idade de início dos sinais clínicos não foram correlacionados com sucesso nos resultados clínicos (20).

Tratamento Cirúrgico

O tratamento cirúrgico é indicado para cães que apresentam sinais neurológicos crônicos progressivos, agudos graves ou irresponsivos ao tratamento conservativo, mas com maturidade vertebral (2,9,24). Entretanto, Platt & Da Costa (22) recomendam o tratamento cirúrgico para todos os cães com subluxação atlantoaxial a fim de gerar fusão permanente e redução das chances de recidiva.

Várias opções cirúrgicas foram descritas objetivando a descompressão medular e o realinhamento e estabilização vertebral (24). A descompressão pode ser realizada pelo acesso dorsal, através da hemilaminectomia do axis, ou ventral, pela remoção do processo odontóide.

A descompressão dorsal é raramente recomendada, pois compromete a estabilidade e o sucesso das estabilizações dorsal. A descompressão ventral também compromete a porção cranial do corpo do axis e deve ser evitada. Como a redução anatômica com fixação apropriada resulta em descompressão, as técnicas descompressivas diretas são raramente utilizadas (9).

As técnicas cirúrgicas de estabilização da articulação atlantoaxial podem ser realizadas pelo acesso ventral ou dorsal (24). A falta de suporte ósseo e presença de estruturas importantes próximas às vértebras tornam a fixação dificultosa. Cuidado é essencial para o posicionamento do implante para garantir um resultado satisfatório (9).

Estabilização dorsal

O acesso dorsal permite redução da subluxação e fixação da lâmina dorsal do axis ao processo espinhoso de atlas. Os procedimentos cirúrgicos utilizados para fixação dorsal incluem a utilização de cerclagem, cerclagem e cimento ósseo, material de sutura, porção do ligamento nucal, retrator metálico e pinos (21,22).

Técnicas dorsais promovem descompressão, redução e estabilização da articulação atlantoaxial. É preferível para cães leves (peso inferior a 2 kg) que não permitem a utilização de implantes metálicos ventrais pelo tamanho reduzido da vértebra ou, para cães cuja fixação ventral inicial falhou. Está contra indicada quando há um desvio dorsal do processo odontóide comprimindo a medula espinhal (21,22).

A fixação depende da formação de tecido fibroso para uma boa imobilização (22). Geralmente, a fusão óssea não é realizada, pois as técnicas dorsais utilizadas não resistem aos movimentos em outras direções além da flexão. Devido à mobilidade, pode ocorrer falha do material de fixação e possível recorrência dos sinais clínicos (22).

O procedimento dorsal apresenta taxa de insucesso de 39 a 46% (2). A principal desvantagem é a incapacidade de realizar fusão diretamente, o que poderia ocasionar maior susceptibilidade de falha do implante, conduzindo a uma relaxação da articulação atlantoaxial. Desvantagens adicionais incluem aumento do risco de trauma da medula espinhal durante a colocação do implante, falha do implante por fratura do arco do atlas, processo espinhoso ou realinhamento inadequado da articulação atlantoaxial (2).

Sutura dos tecidos moles com fio inabsorvível

Os pacientes com instabilidade atlantoaxial são um desafio cirúrgico devido ao tamanho restrito e tecido ósseo frágil, podendo haver falha de implantes (21, 22, 29). Sánchez-Masian et al. (29) descreveram uma técnica para a estabilização dorsal utilizada em cães com menos de 2 kg.

O procedimento cirúrgico baseia-se na incisão da pele na linha média dorsal desde a protuberância do occipital à terceira vértebra cervical, ato contínuo, os músculos paraespinhais são separados através da utilização de afastador autoestático, mas sem a exposição do processo espinhoso do axis. A origem do músculo *obliquus capitis caudalis* no axis é transpassada por meio de fio de nylon e inserida no músculo *obliquus capitis cranialis* no occipital do lado oposto. O procedimento deve ser repetido no lado contralateral do processo dorsal do axis. A subluxação é reduzida cuidadosamente forçando o axis na direção ventral e caudal. A estabilização é completada quando o nó de ambas as suturas são serrados próximo ao occipital. Duplas suturas devem ser colocadas bilateralmente para assegurar a estabilização. A musculatura paravertebral é aproximada por aposição simples e fechamento do subcutâneo e pele realizado como de rotina (29). Todos os pacientes receberam colar cervical por um período de duas a quatro semanas.

Nesta técnica, o acesso é de fácil execução e o local da inserção das suturas não apresenta risco potencial de lesão direta à medula espinhal. Entretanto, como a fusão da articulação atlantoaxial não é alcançada, falha no material da fixação pode ser associada com subseqüente subluxação (29). Um bom sucesso foi alcançado com a técnica (12 em 15 cães), entretanto dois casos necessitaram de uma segunda intervenção cirúrgica (29).

Cerclagem Atlantoaxial

O acesso dorsal deve ser realizado segundo técnica descrita por Sharp & Wheeler (24) com exposição das margens craniais e caudais do arco do atlas e discreta abertura do canal vertebral para passagem do implante. Duas perfurações são realizadas no processo espinhoso do axis. A redução da luxação é realizada por meio de leve deslocamento do axis ventralmente. Em seguida, um fio de cerclagem dobrado ao meio é passado abaixo do arco dorsal do atlas caudocranialmente e retraído através do espaço atlanto-occipital, retornando ao axis. Esta manipulação pode gerar um trauma iatrogênico a medula espinhal pela manipulação do implante. A dobra do fio de cerclagem é cortada obtendo duas pontas livres, e cada extremidade é passada através da perfuração do axis, e fixadas aos pares. Modificações da técnica podem ser realizadas utilizando fio não metálico e não absorvível (8,22,24).

A colocação de cerclagem dorsal tem uma elevada proporção de fracassos, e muitas vezes pode ser útil reforça-la com cimento ósseo (24). Complicações pós-operatórias como colapso ou laceração óssea podem ocorrer, pois o arco dorsal do atlas e o processo espinhoso do axis em cães jovens de raça *toy* apresentam pouca força e resistência (21). Adaptações da técnica a fim de diminuir as complicações propõe a utilização de fio não absorvível multifilamentar ou parte do ligamento nugal ao invés do fio de aço (8). É possível que ocorra redução inadequada da subluxação ou estabilização imprópria, especialmente se usada em conjunto com técnicas descompressivas (21). Micromovimentos contínuos na articulação atlantoaxial podem gerar deiscência por estresse no fio e, adicionalmente, sua colocação imprópria resultar em injúria medular. Pacientes podem vir a óbito por parada respiratória durante a flexão da articulação atlantoaxial que é exigido no momento de passar o material de sutura abaixo do arco dorsal do atlas (8).

Técnica do ligamento nugal

Esta técnica foi relatada por LeCourter et al. (12) para estabilização da subluxação atlantoaxial envolvendo o uso do ligamento nugal para fixar o processo espinhoso do axis com o arco dorsal do atlas. Originalmente foi indicada para cães com alterações congênitas, entretanto também foi relatada para cães de raça grande que possuem subluxação traumática secundária a fratura do axis (12).

O ligamento nugal é exposto desde sua origem no aspecto caudal do processo espinhoso do axis até sua inserção no processo espinhoso da primeira vértebra torácica (T1). Após este é desinseridos caudalmente de T1 e seccionado longitudinalmente. Ambas as bordas livres são trazidas cranialmente e passado através do espaço atlantooccipital e direcionado para o aspecto ventral do arco do atlas, passando de cranial para caudal. As extremidades do ligamento são transpassadas através de uma perfuração criada com uma goiva no processo espinhoso do axis e suturadas entre si (12,22).

O objetivo da cirurgia é eliminar todas as pressões sobre a medula espinhal, para reduzir a subluxação atlantoaxial e imobilizar a articulação atlantoaxial. A técnica de fixação com o ligamento nugal foi originalmente descrita como uma técnica de fixação para cães de raça *toy*. Entretanto o diâmetro do ligamento nugal em algumas raças pequenas é de difícil manuseio. Os autores obtiveram sucesso em três dos quatro casos operados. Falhas foram observadas devido à deiscência das suturas do ligamento nugal (12).

Pino cruzado dorsal

A utilização de pinos ou fio de Kirschner para estabilização dorsal foi descrita inicialmente por Jeffery (8) no tratamento da subluxação atlantoaxial em um Yorkshire terrier com tetraplegia. O cão teve recuperação satisfatória, entretanto, não há pesquisas adicionais com número maior de casos ou acompanhamento em longo prazo a fim de avaliar com precisão o valor desta técnica (8).

De acordo com Sharp & Wheeler (24) é uma técnica mais estável do que a cerclagem dorsal, não implica em risco de traumatismo a medula espinhal, sendo uma técnica de resgate útil para qualquer fracasso de fixação. Uma desvantagem é que a estabilização depende do processo espinhoso frágil do axis. Cuidados são exigidos durante a exposição do processo transversal do atlas para evitar a raiz do nervo da primeira vértebra cervical e a artéria vertebral (22).

Após o realinhamento da articulação, um fio de kirschner de 1 mm é direcionado ventrolateralmente entre cada lado do processo espinhoso do axis, encaixado e penetrado na metade caudal da asa do atlas. A orientação correta do implante pode ser facilitada pela perfuração óssea de pequeno diâmetro e usando um passador de fios ou um instrumento como guia de fio. Os fios são angulados e cortados até deixar 1 cm de excesso na superfície dorsal do processo espinhoso do axis. Os pinos são então incorporados com cimento ósseo (22).

Banda de tensão atlantoaxial de Kishigami

Embora a banda de tensão atlantoaxial de Kishigami (BTAA Kishigami) tenha sido primeiramente descrita em 1984 (13), apenas recentemente foi introduzida e disponível comercialmente (30). A BTAA Kishigami reduz o risco de lesão à medula espinhal quando comparada a outras técnicas dorsais, porque ela se fixa no espaço epidural sem transpassar entre a medula espinhal e o arco dorsal do atlas (22).

Após exposição do atlas e axis pelo acesso dorsal, duas pequenas perfurações são realizadas no processo espinhoso do axis. Uma cerclagem (0,6 a 0,8 mm) é passada na perfuração caudal do axis e ambas as pontas são direcionadas na perfuração proximal e interseccionada entre elas. A fásia dorsal atlanto-occipital do arco do atlas é cuidadosamente incisada em uma largura semelhante à porção cranial do gancho da BTAA Kishigami, o qual é inserido neste espaço (22,30).

O processo espinhoso do axis é empurrado com o objetivo de reduzir a luxação da articulação atlantoaxial. A articulação está reduzida quando o processo espinhoso do axis repousa sobre o arco dorsal do atlas. As pontas dos fios são então retorcidas para fora através dos ganchos na base da BTAA de Kishigami e são dobradas caudalmente. O alinhamento vertebral e a posição são verificados neste ponto, e qualquer flexão persistente é reduzida por ajuste no comprimento do fio. O excesso das pontas dos fios é cortado e os ganchos da base são pressionados para assegurar a redução estável (22,30).

Pujol et al. (30) demonstraram que a técnica é simples e segura. Em seu estudo, a técnica foi associada a resultado bom a excelente em longo prazo em seis de oito cães com subluxação atlantoaxial sendo que nenhum apresentava desvio dorsal do processo odontóide. Esta técnica é indicada para cães de raças toy devido a maior quantidade óssea disponível para inserção de implantes no acesso dorsal em comparação com as abordagens ventral (30).

As complicações pós-operatórias estão relacionadas a má inserção do implante e dos fios de cerclagem, gerando falhas de fixação (13).

Estabilização ventral

As técnicas de estabilização ventral são utilizadas com a finalidade de fundir o atlas com o axis ou para reparação de fraturas (9). Estas foram introduzidas devido às falhas ocasionadas na fixação dorsal e por proporcionar estabilização adequada (8).

A fixação ventral é preferível à dorsal, pois permite a visualização das articulações atlantoaxial, do processo odontóide do axis e da medula espinhal (2). A capacidade de estabilização direta e utilização de enxerto ósseo permite estimular a fusão por longo prazo com menor risco de lesão neural iatrogênica ou reluxação em caso de falha do implante (2).

Se a compressão da medula espinhal for agravada, devido a uma fratura ou não união do processo odontóide do axis, uma odontoidectomia pode ser realizada através deste acesso (2,22).

O osso mais substancial disponível ventralmente permite a escolha de diversas técnicas para fixação dos implantes (9). A fusão da articulação atlantoaxial pode ser realizada utilizando-se fixação transarticular (pinos ou parafusos efeito *lag* com ou sem utilização de cimento ósseo) ou implantes múltiplos (pinos, parafusos, placas e cimento ósseo) com sucesso (2,9,24).

Complicações potenciais associadas com a fixação ventral incluem trauma neurológico iatrogênico, perfuração ou necrose focal da traqueia, pneumonia aspirativa, falha do implante (migração ou quebra), mucocele, paralisia da laringe e síndrome de Horner (2).

Em revisão da literatura atual, foram identificados vários relatos, que em conjunto, descrevem 83 cães que foram tratados para instabilidade atlantoaxial com redução e fixação cirúrgica ventral (4,6,10,17). Resultado positivo, definido como melhora dos sinais clínicos sem recorrência ou necessidade de revisão cirúrgica, foi relatado em 72% dos cães (17).

O acesso cirúrgico à região cervical ventral deve ser realizado de acordo com técnicas descritas (8, 9, 21, 22,24). O aspecto ventral da articulação atlantoaxial é exposto pela desinserção e divisão dos músculos *longus colli* no atlas e a exposição da articulação C1-C2 por capsulotomia (8,9).

Platt et al. (19) descreveram uma técnica simples e com sucesso para redução da subluxação atlantoaxial de modo a reduzir possíveis lesões iatrogênicas durante esse processo. Inicia-se pela inserção de parafuso ósseo cortical de 1,5mm na porção caudal do corpo de C2 e, se necessário, um parafuso adicional na porção cranial. Estes parafusos servirão como ponto de apoio para fios ortopédicos que serão passados em torno da cabeça do parafuso. O fio é tracionado em direção caudoventral elevando o corpo do axis ventralmente a fim de manter o alinhamento vertebral apropriado enquanto o implante é inserido. Este método possui a finalidade de proteger a medula espinhal de repetidas concussões (19).

Forterre et al. (31) descreveram um método de redução indireta baseada na distração óssea e muscular que permitiu fácil redução atlantoaxial. Em cinco cães de raça miniatura com subluxação atlantoaxial foi realizada distração e alinhamento das vértebras através da utilização de mini afastadores de Gelpi inseridos ao longo do plano sagital, entre a articulação atlanto occipital e cranial a C3 (após realização de fenestração do espaço C2-C3 e mini slot). Neste estudo obteve sucesso em todos os casos, podendo ser uma técnica auxiliar na exposição da região atlantoaxial (31).

A cápsula articular pode ser incisada e a cartilagem articular escarificada de ambas as superfícies caudais das placas terminais. Isto estimula a fusão articular, que é o objetivo primário a longo prazo da fixação, podendo este ser auxiliado pelo uso de enxerto ósseo esponjoso obtido do úmero proximal (2,22).

Outras técnicas descritas visam estabilizar o corpo vertebral do axis temporariamente com um micro afastador de Halsted posicionado no meio da seção lateral do corpo. Manter o osso estabilizado pela inserção de um instrumento entre C1 e C2 no espaço intervertebral é outra opção, porém perigosa devido ao risco de trauma medular (22).

De acordo com Jeffery (8) e Shires (9) a redução da subluxação pode ser obtida pelo simples posicionamento do animal em decúbito dorsal ou auxiliada por pinças ósseas de redução.

Pinos ou Parafusos com efeito lag transarticular

Para a fixação de pinos transarticular entre o atlas e o axis, uma abordagem ventral deve ser realizada, como de padrão, a fim de expor a região articular. Dois pinos são necessários para alcançar a estabilização desejada, sendo um pino em cada superfície articular (16). O ângulo ideal para inserção dos pinos e o comprimento foi descrita por Revés et al. (32). O ângulo de inserção ideal seria de 40° lateralmente a partir da linha média dorsal e 20° dorsal ao canal neural em um plano sagital, pois resulta na máxima aquisição óssea. A largura do corredor varia de 3 a 5 mm e a média de comprimento do corredor é de 7 mm. Estes ângulos foram mensurados a partir de cães normais, entretanto, na instabilidade atlantoaxial como há má formação nesta região, estes ângulos podem variar (32).

Na prática, um ângulo ótimo para inserção do pino é obtido pelo direcionamento de cada pino do centro do corpo ventral do axis para o centro de cada articulação atlantoaxial, levemente inserido do axis medial para a fissura alar e mantendo a ponta do pino tão longe ventralmente possível (9,22). O enxerto ósseo esponjoso é coletado do úmero proximal e adicionado dentro e em torno da articulação (9). A modificação da técnica utiliza parafusos efeito *lag* ao invés de pinos. Uma vez que a vértebra está alinhada e temporariamente segura pelo método previamente mencionado, uma perfuração de 1,5mm para um parafuso de 1,5mm deve ser realizada no aspecto cranial de C2, iniciando de um lado do corpo vertebral apenas entre a parede óssea cranial. Subsequente, a perfuração para o parafuso de C1 é realizada usando uma broca de 1,1mm; a broca é direcionada craniolateralmente, aproximadamente em um ângulo de 30° da linha média para assegurar uma grande porção de osso lateral do atlas. A perfuração é macheda com um macho de 1,5 mm (22).

A colocação de parafuso pode ser prejudicada devido ao pobre acesso para perfuração dos orifícios e a tendência do parafuso em fissurar o tecido ósseo. Dificuldades associadas ao mau posicionamento dos implantes podem ocorrer (como dano a medula espinhal ou vascular), porém o problema mais comum é a migração do pino (8). Para evitar esta sequela, uma modificação da técnica foi descrita utilizando cimento ósseo na extremidade do pino para segurá-lo em sua posição (8).

O ângulo e a profundidade do posicionamento dos implantes são críticos. Para evitar o canal vertebral, artéria vertebral, e o osso fino do atlas, cada pino ou parafuso deve ser previamente mensurado pela radiografia e avaliado cuidadosamente (9). As vantagens mecânicas e o poder de fixação dos pinos de perfil positivo ou parafusos devem ser considerados em pacientes grandes o suficiente para ser utilizados na prática. Parafusos inseridos no ângulo requerido pode ser um desafio na exposição e tamanho dos ossos envolvidos (9).

A taxa de insucesso com a técnica de fixação transarticular é de aproximadamente 30% (22). Além disso, estudos indicam que a fusão é frequentemente atrasada ou incompleta (24).

Quando se utiliza um parafuso inserido com efeito *lag* sozinho em um cão de pequeno porte, o pequeno volume de osso do axis disponível para inserção do parafuso e a área para o posicionamento do parafuso não permite qualquer erro (3). Isto pode levar a danos iatrogênicos das vértebras, especialmente no osso relativamente macio de um cão imaturo, e uma incapacidade subsequente de fusão da articulação atlantoaxial. O uso alternativo de fios de Kirschner neste procedimento deixa pouco osso de C2 retido no pino, mesmo quando eles estão corretamente colocados e também ocorre frequentemente a migração do implante. A utilização de cimento ósseo não impede a migração do pino devido à pequena interface relativa entre pino-osso. Esta técnica é também difícil por causa da pressão, que deve ser

aplicada a partir no perfurador ou no fio de kirschner no aspecto cranial de C2, que potencialmente se traduz em pressão sobre a medula espinhal. Manter a estabilidade óssea durante esse procedimento usando um instrumento de alavanca inserido dentro da articulação tem sido descrito, mas é muito arriscada (32).

Pinos e cimento ósseo

Fixação com fios de Kirschner ou pinos lisos associados ao cimento ósseo pode ser realizada em C1 e C2 ventralmente. Após a inserção de enxerto ósseo e realinhamento vertebral os pinos são direcionados perpendicularmente nos planos medianos e transversos dentro de cada pedículo do atlas. Pinos são posicionados no corpo caudal do axis em um ângulo de 30° com o plano transversal (22,24). Todos os pinos são cortados um centímetro ventral a superfície óssea e ambas as pontas são dobrados, após, o realinhamento é novamente alcançado para que então cimento ósseo possa ser inserido, recobrimo e unindo todos os pinos. Esse procedimento pode ser associado com pinos transarticulares atlantoaxial (22).

Em relato, Aikawa et al. (33) utilizaram de 6 a 8 pinos de schanz de perfil positivo associado ao cimento ósseo em 49 cães com instabilidade atlantoaxial. Os dois primeiros pinos são inseridos de maneira transarticular, conforme descrito acima, dois pinos adicionais são inseridos no pedículo do atlas, paralelo ao pino transarticular. O quinto e o sexto pino são inseridos caudal, no corpo do axis. Caso os pinos não tenham ficado rigidamente fixados, recomenda-se a inserção de pinos adicionais no pedículo ou corpo vertebral do axis (33). Um excelente sucesso foi obtido com esta técnica, sendo que 47 cães tornaram-se ambulatorios, apenas um cão não obteve retorno da função locomotora e dois cães vieram a óbito no período perioperatório (33).

Para rafia, o músculo *longus coli* pode ser suturado, mas geralmente isto não é possível devido ao cimento ósseo. A colocação de membrana biológica acima dos implantes de fixação pode auxiliar a cicatrização do músculo e proteger os tecidos locais de aderências fibróticas (22).

Deve-se utilizar o implante com o tamanho maior possível, mas de modo a não gerar fissuras ou fraturas durante a inserção, e estes devem penetrar as duas corticais. Os pinos rosqueados geram maior estabilidade em longo prazo do que os pinos lisos (24). O comprimento do implante e o volume de cimento ósseo devem ser proporcionais ao tamanho do cão. Cuidados devem ser tomados a fim de proteger os tecidos moles do calor gerado pela polimerização, e evitar bordas ásperas que podem lesar os tecidos (24).

Em estudo sobre instabilidade atlantoaxial realizado por Schulz et al. (10) utilizando pinos e cimento ósseo no tratamento de nove cães (seis de origem congênita e três de origem traumática), foi possível observar uma recuperação de boa a excelente em oito pacientes. A dor cervical foi eliminada ou reduzida e nenhum dos cães apresentou déficits neurológicos residuais importantes (10). A artrodese não pôde ser confirmada nas radiografias pós-operatórias, devido à presença do cimento ósseo, no entanto, a estabilização adequada foi alcançada com base na resolução dos sinais clínicos (10).

Pinos, Parafusos e cimento ósseo

A estabilização modificada utilizando pinos, parafusos e cimento ósseo foi descrita por Platt et al. (19). Após acessar a região cervical ventral e expor as superfícies articulares entre o atlas e axis, um parafuso cortical de 1,5mm ou 2,0 mm é colocado na metade caudal do corpo do axis, de modo que a cabeça e uma pequena porção da rosca fiquem expostas, e o comprimento não ultrapasse a cortical trans. Um fio ortopédico deverá envolver a cabeça do parafuso e tracioná-lo caudalmente a fim de manter a redução da luxação e alinhamento do aspecto cranial do corpo do axis. Um segundo parafuso deve ser inserido na metade cranial do

corpo vertebral de C2. Enquanto mantém a redução da articulação, a cartilagem articular deve ser escarificada. Após, dois pinos transarticulares devem ser inseridos, conforme descrito em técnica acima. Três parafusos corticais adicionais são fixados no arco ventral do atlas, deixando a cabeça e uma porção de rosca exposta. Enxerto ósseo esponjoso é adicionado no espaço articular e o cimento ósseo é moldado sobre as pontas expostas dos implantes no atlas e axis. O músculo longus colli deve ser aposicionado, se possível, e a rafia dos demais tecidos é realizada de forma rotineira (19).

Migração e fratura dos pinos com perda na redução são as complicações mais comuns da técnica. Isto ocorre com maior potencial, provavelmente devido ao conjunto de movimento residual de flexão exercido sobre o pino, que por sua vez pode sugerir falha de fusão da articulação (19). Danos secundários nas estruturas respiratórias superiores e esôfago, devido à dimensão do cimento ósseo, é uma desvantagem do método de fixação com implantes múltiplos porque uma quantidade relativamente maior de cimento ósseo é necessária, o que pode causar problemas sérios, especialmente em cães miniaturas (19).

Como vantagem da técnica destaca-se a diminuição no potencial de falha completa da fixação, devido à estabilização transarticular e periarticular, e com isso manter estabilidade suficiente, caso um dos métodos venha a falhar. Para Platt et al. (19) os parafusos proporcionam melhor fixação e são menos propensos a migrar quando comparado aos pinos. Em estudo os cães obtiveram melhora clínica 68,4% dos casos (19).

Placa e parafusos

Outra técnica para estabilização atlantoaxial ventral propõe a utilização de placa em formato T ou H (34, 35), e mais recentemente o uso da placa bloqueada em formato borboleta fixada no aspecto ventral do axis e do atlas (9,36).

Placas duplas utilizadas no corpo ventral do atlas e axis são possíveis em cães de porte grande que possuam estrutura óssea suficiente para acomodar as placas. Este método foi realizado em fraturas traumáticas de cães grandes (9). Nesta situação duas pequenas placas de 2mm são colocadas ventralmente entre a linha de fratura. A colocação de parafusos é dificultosa porque o espaço disponível é mínimo (9).

O princípio da utilização de placa sugere inserção de dois parafusos em cada lado da fratura. Quando factível este método provavelmente promoverá mais segurança de fixação (7).

Em estudo Dickomeit et al. (36) utilizaram placas bloqueadas de titânio de 1,5 mm com cinco furos no tratamento de instabilidade atlantoaxial em três cães de raça toy. Um excelente resultado clínico com redução, estabilização e descompressão da medula espinhal e melhora dos sinais neurológicos foram identificadas em todos os três pacientes (36).

A utilização de placa no tratamento de instabilidade atlantoaxial não é comumente descrita devido a fatores limitantes como tipo de placa, tamanho e forma, bem como tipo e tamanho dos parafusos. Falha precoce do implante, com perda da estabilidade atlantoaxial antes da fusão, pode levar a consequências neurológicas catastróficas. A perda de estabilização, devido ao afrouxamento do parafuso e da placa tem sido uma falha comum deste tipo de implante (36). Por conseguinte, o uso de placas bloqueadas possui a vantagem de ser biomecanicamente mais estável, uma vez que o sistema bloqueado permite que a cabeça do parafuso se encaixe e fixe no orifício da placa, e desta forma, previne a migração do parafuso (36).

Como complicações da técnica têm-se a presença de parte do parafuso no canal medular, lesão iatrogênica da medula espinhal, migração e não união da articulação atlantoaxial (36).

Complicações cirúrgicas

As taxas de complicações cirúrgicas são ao redor de 71% na técnica dorsal e 53% com técnica de fixação ventral (22).

A manipulação da articulação pode lesionar a medula espinhal no local devido a repetidas concussões, sendo relatada nas técnicas dorsais e ventrais. Dano iatrogênico a medula espinhal é também possível como resultado do posicionamento errôneo dos implantes (22-25).

O risco de paralisia laríngea está presente nas técnicas ventrais devido à retração e trauma do nervo laríngeo recorrente (19,22). Adicionalmente, a compressão da traqueia pelo implante ou tração transcirúrgica prolongada foi relatada causando necrose da traqueia e tosse em cães. Muitos desses pacientes podem apresentar outras doenças respiratórias concomitantes como colapso de traqueia ou síndrome braquicefálica (22). Em casos severos, a dispnéia pode ser manejada com traqueostomia temporária. Complicações respiratórias fatais são raras, mas podem ocorrer por trauma ao sistema nervoso central transoperatório. Pneumonia aspirativa foi relatada em cães no pós-operatório (22).

Migração ou fratura do implante pode ocorrer em cirurgias ventrais e dorsais e tende a ser relatada três semanas após a cirurgia, embora seja visto meses após o procedimento com a utilização de fio de Kirschner. Parafuso *lag* transarticular pode também estar sujeito à falha, especialmente durante o procedimento de inserção, devido ao pequeno diâmetro viável de osso do axis e área ideal para posição do parafuso, que não permite qualquer erro (8,22,24).

Posicionamento impróprio do pino com uma quantidade inadequada de osso é a principal causa de migração do pino (8). Isto pode ser um achado incidental após radiografia de exames seriados, ou pode ser aparente após sinais clínicos recorrentes, ou com aparência do implante na superfície da pele. Reparações dorsais feitas com fios podem ser associadas com quebra do implante. Dependendo do tempo pós cirúrgico quando a falha ocorre, outra cirurgia pode não ser necessária, pois a articulação já apresenta fusão óssea (22).

Reparação dorsal utilizando o arco dorsal do atlas pode ocasionar fratura do mesmo devido ao osso fino e imaturo (19). Nas fixações ventrais transarticulares, o aspecto cranioventral do corpo de C2 pode fraturar devido ao implante mal posicionado e imaturidade vertebral (20).

Dores episódicas graves foram relatadas em cães após meses da cirurgia e sempre foi uma razão para eutanásia desses pacientes (19). Isto ocorre como resultado de falha na descompressão medular, realinhamento ou fixação vertebral (22).

Cuidados pós-operatórios

O sucesso dos resultados da cirurgia é satisfatório em curto e longo prazo, mas uma variedade de complicações pode ocorrer desde falha do implante até complicações cardiopulmonares (9).

Os cuidados pós-operatórios são similares em todos os casos requerendo, a princípio, confinamento por quatro semanas seguidas por quatro semanas de restrição de exercícios (9). Avaliações radiográficas das condições dos implantes e para evidência de formação de calo ósseo é realizada por quatro a oito semanas do pós-operatório (9). Projeções dorsoventral e lateral são imperativas para visibilizar o alinhamento articular (22).

Pode ser necessária a utilização de um colar cervical rígido nos cães, no período pós-operatório, a fim de reduzir a movimentação e tensão exercida sobre os implantes cirúrgicos durante a cicatrização óssea (2). Estes cães devem ser avaliados frequentemente a fim de evitar possíveis complicações associadas a utilização do colar como, desconforto respiratório, infecções e feridas na pele, sendo que alguns cães podem ficar relutantes em caminhar ou comer (2). Platt et al. (19) acreditam não ser necessário a utilização pós operatória de colar

cervical se uma fixação interna apropriada foi realizada, uma vez que este pode resultar em muitas complicações.

Prednisona ou prednisolona (1mg/kg) podem ser administrados para reduzir o edema medular pós-cirúrgico causado por injúrias à medula espinhal durante o posicionamento ou cirurgia (2). Analgesia com opióides deve ser realizada, pelo menos, nas primeiras 24-48 horas (19).

A monitoração respiratória deve ser prioridade em todos os pacientes nos primeiros dois a três dias; muitos pacientes podem ter problemas respiratórios preexistentes e o estresse da cirurgia pode exacerbar os sintomas (22).

Os proprietários devem ser alertados para utilização de coleiras peitorais ao invés de cervicais e o paciente não deve realizar exercícios com grande impacto pelo resto da vida (22).

Prognóstico

De acordo com Sharp & Wheeler (24), o tratamento conservativo produz resultados excelentes. Em estudo com seis cães de raça *toy*, 100% de retorno à deambulação foram observados (24). Apesar dos excelentes resultados com tratamento não cirúrgico, a preocupação é que qualquer melhora pode ser perdida depois de retirar o colar cervical. Não obstante, pode ser considerada uma alternativa útil para cães muito jovens e de alto risco (5).

Um estudo recente (20) com resultados em longo prazo de cães tratados conservativamente relatou que cães com início agudo dos sinais clínicos e sem histórico prévio de instabilidade atlantoaxial obtiveram um bom resultado em 60% dos casos, independentemente da gravidade da apresentação inicial. Entretanto, cães apresentando sinais clínicos há mais de 30 dias apresentaram prognóstico ruim ao tratamento conservativo em longo prazo (5,20).

A taxa de mortalidade transoperatória associada com fixação atlantoaxial é em torno de 10% a 30%. Os principais fatores para um prognóstico significativamente positivo estão associados à idade da apresentação (menor que 24 meses), duração dos sinais clínicos (menor que 10 meses) e estado neurológico pré-operatório (1,2,20).

O sucesso em longo prazo foi, quando todos os métodos de cirúrgicos dorsais são considerados, bom a excelente em 61% dos cães (22). As taxas de sucesso com técnicas ventrais são boas a excelentes em 47 a 92% dos cães, dependendo do método de escolha (5). O uso de pino transarticular único apresentou taxa de sucessos menores (47%) do que comparado com pinos múltiplos e parafusos e cimento ósseo. Parafusos efeito *lag* sozinhos obtiveram taxa de sucesso de até 90% em um estudo, entretanto demonstrou 40% de sucesso em outro, sem utilização de enxerto ósseo (20,28). O nível de experiência e habilidade do cirurgião na realização da cirurgia na região atlantoaxial é provavelmente uma das influências mais importantes sobre o resultado geral dos pacientes (5).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A patogênese das malformações do desenvolvimento permanece incerta, porém acredita-se que seja devido a uma isquemia vascular levando a reabsorção do processo odontóide.

O tratamento conservativo para subluxação atlantoaxial é indicado como primeira escolha, e, o tratamento cirúrgico, para casos progressivos, sendo a técnica de eleição a estabilização ventral com utilização de implantes múltiplos (pinos transarticular, parafusos e cimento ósseo). Vale salientar que a taxa de sucesso cirúrgico está fortemente correlacionada com a habilidade e experiência do cirurgião.

REFERÊNCIAS

1. Vite CH, Braund KG. Clinical neurology in small animals: localization, diagnosis and treatment. New York: International Veterinary Information Service; 2006.
2. Cerda-Gonzalez S, Dewey CW. Congenital diseases of the craniocervical junction in the dog. *Vet Clin North Am*. 2010;40:121-41.
3. Denny HR, Gibbs C, Waterman A. Atlantoaxial subluxation in the dog: a review of thirty cases and an evaluation of treatment by lag screw fixation. *J Am Anim Hosp Assoc*. 1988;29:37-47.
4. McCarthy RJ, Lewis DD, Hosgood G. Atlantoaxial subluxation in dogs. *Compend Contin Educ Vet*. 1995;17:215-27.
5. Westworth DR, Sturges BK. Congenital spinal malformations in small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2010;40:951-81.
6. Beaver DP, Ellison GW, Lewis DD, Goring RL, Kubilis PS, Barchard C. Risk factors affecting the outcome of surgery for atlantoaxial subluxation in dogs: 46 cases (1978-1998). *J Am Anim Hosp Assoc*. 2000;216:1104-9.
7. Stead AC, Anderson AA, Coughlan A. Bone plating to stabilize atlantoaxial subluxation in four dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1993;34:462-5.
8. Jeffery ND. Cervical spinal surgery. In: Handbook of small animal spinal surgery. London: Saunders; 1995. p.155-62.
9. Shires PK. Condições atlantoaxiais e síndromes da oscilação. In: Slatter D. Manual de cirurgia de pequenos animais. 3a ed. São Paulo: Manole; 2007. p.1173-80.
10. Schulz KS, Waldron DR, Fahie M. Application of ventral pins and polymethylmethacrylate for the management of atlantoaxial instability: results in nine dogs. *Vet Surg*. 1997;26:317-25.
11. Chambers JN, Betts CW, Oliver JE. The use of nonmetallic suture material for stabilization of atlantoaxial subluxation. *J Am Anim Hosp Assoc*. 1977;13:602-2.
12. Lecouteur RA, McKeown D, Johson J, Eger CE. Stabilization of atlantoaxial subluxation in the dog using the nuchal ligament. *J Am Vet Med Assoc*. 1980;177:1011-7.
13. Kishigami M. Application of an atlantoaxial retractor for atlantoaxial subluxation in the cat and dog. *J Am Anim Hosp Assoc*. 1984;20:413-9.
14. Wheeler SJ. Atlantoaxial subluxation with absence of the dens in a rottweiler. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1992;33:90-3.
15. Renegar WR, Stoll SG. The use of methylmethacrylate bone cement in the repair of atlantoaxial subluxation stabilization failures – Case report and discussion. *J Am Anim Hosp Assoc*. 1979;15:313-8.
16. Sorjonen DC, Shires PK. Atlantoaxial instability: a ventral surgical technique for decompression, fixation, and fusion. *Vet Surg*. 1981;10:22-9.

17. Thomas WB, Sorjonen DC, Simpson ST. Surgical management of atlantoaxial subluxation in 23 dogs. *Vet Surg.* 1991;20:409-12.
18. Shores A, Tepper LC. A modified ventral approach to the atlantoaxial junction in the dog. *Vet Surg.* 2007;36:765-70.
19. Platt SR, Chambers JN, Cross A. A modified ventral fixation for surgical management of atlantoaxial subluxation in 19 Dogs. *Vet Surg.* 2004;33:349-54.
20. Havig ME, Cornell KK, Hawthorne JC, McDonnell JJ, Selcer BA. Evaluation of nonsurgical treatment of atlantoaxial subluxation in dogs: 19 cases (1992-2001). *J Am Vet Med Assoc.* 2005;15:257-62.
21. Seim III HB. Cirurgia da coluna cervical. In: Fossum TW. *Cirurgia de pequenos animais.* 2a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008. p.1441-7.
22. Platt SR, Da Costa RC. Cervical spine. In: Tobias KM, Johnston SA. *Veterinary surgery-small animal.* Missouri: Elsevier; 2012. p.410-48.
23. Geary JG, Oliver JE, Hoerlein BF. Atlanto axial subluxation in the canine. *J Small Anim Pract.* 1967;8:577-82.
24. Sharp NJH, Wheeler SJ. Atlantoaxial subluxation. In: *Small animal spinal disorders: Diagnosis and surgery.* 2a ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2005. p.161-80.
25. DeLahunta A, Glass E. Small animal spinal cord disease. In: *Veterinary neuroanatomy and clinical neurology.* 4a ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2009. p.268-9.
26. Stigen O, Aleksandersen M, Sorby R, Jorgensen H J. Acute non-ambulatory tetraparesis with absence of the dens in two large breed dogs: case reports with a radiographic study of relatives. *Acta Vet Scand.* 2013;55:31.
27. Kent M, Eagleson JS, Neravanda D, Schatzberg SJ, Gruenenfelder FI, Platt SR. Intraaxial spinal cord hemorrhage secondary to atlantoaxial subluxation in a dog. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2010;46:132-7.
28. Fletcher DJ, Dewey CW. Spinal trauma management. In: Dewey CW. *A practical guide to canine and feline neurology.* 2a ed. Ames: Wiley-Blackwell; 2008. p.405-17.
29. Sánchez-Masian D, Luján-Feliu-Pascual A, Font C, Mascort J. Dorsal stabilization of atlantoaxial subluxation using non-absorbable sutures in toy breed dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2014;27:62-7.
30. Pujol E, Bouvy B, Omaña M, Fortuny M, Riera L, Pujol P. Use of the kishigami atlantoaxial tension band in eight toy breed dogs with atlantoaxial subluxation. *Vet Surg.* 2010;39:35-42.
31. Forterre F, Vizcaino Revés N, Stahl C, Gendron K, Spreng D. An indirect reduction technique for ventral stabilization of atlantoaxial instability in miniature breed dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2012;25:332-6.

32. Revés NV, Stahl C, Stoffel M, Bali M, Forterre F. CT Scan based determination of optimal bone corridor for atlantoaxial ventral screw fixation in miniature breed dogs. *Vet Surg.* 2013;42:819–24.
33. Aikawa T, Shibata M, Fujita H. Modified ventral stabilization using positively threaded profile pins and polymethylmethacrylate for atlantoaxial instability in 49 dogs. *Vet Surg.* 2013;42:683-92.
34. Thomas WB, Sorjonen DC, Simpson ST. Surgical management of atlantoaxial subluxation in 23 dogs. *Vet Surg.* 1991;20:409-12.
35. Stead AC, Anderson AA, Coughlan A. Bone plating to stabilize atlantoaxial subluxation in four dogs. *J Small Anim Pract.* 1993;34:462-5.
36. Dickomeit M, Alves L, Pekarkova M, Gorgas D, Forterre F. Use of a 1.5 mm butterfly locking plate for stabilization of atlantoaxial pathology in three toy breed dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2011;24:246-51.

Recebido em: 31/08/2013

Aceito em: 10/04/2015

UROLITÍASE OBSTRUTIVA EM OVINOS

Danilo Otávio Laurenti Ferreira¹
Bianca Paola Santarosa²
Rogério Martins Amorim³
Simone Biagio Chiacchio³
Roberto Calderon Gonçalves⁴

RESUMO

A urolitíase é uma doença de elevada ocorrência nas criações de ovinos. Os urólitos são formados a partir de fatores predisponentes, tais como, dieta excessivamente proteica, com alto teor de fósforo, magnésio ou cálcio ou ainda por ingestão de plantas com grande quantidade de oxalato ou sílica. Ocorre na maioria dos casos nos machos jovens devido à anatomia da uretra peniana. Geralmente, a obstrução uretral é completa, embora em alguns casos possa ser parcial. Após o aparecimento dos sinais clínicos há poucas chances de reversão do quadro clínico e se for necessário tratamento cirúrgico a grande maioria dos animais torna-se inapto para a reprodução. A prevenção constitui a melhor medida para controlar o surgimento da enfermidade, por meio do balanceamento adequado da alimentação e acidificação da urina com a suplementação na dieta empregando o cloreto de amônio, que se mostraram bem eficazes.

Palavras-chave: alimentação, cordeiros, cloreto de amônio, sistema urinário, urólito.

OBSTRUCTIVE UROLITHIASIS IN SHEEP

ABSTRACT

Urolithiasis is a disease of high occurrence in sheep creations. Uroliths are formed from predisposing factors such as excessive protein diet with high content of phosphorus, magnesium or calcium or by ingestion of plants with large amount of oxalate or silica. In most cases occurs in young male due to the anatomy of penile urethra. Generally the urethral obstruction is complete, although in some cases it may be partial. After the onset of clinical signs there is a little chance of reversing the clinical picture and if is necessary surgical treatment the vast majority of animals becomes unfit for reproduction. The prevention is the best measure to control the onset of disease, by the proper balancing of the power and acidification of the urine with dietary supplementation employing ammonium chloride, which proved effective as well.

Keywords: ammonium chloride, feed, lambs, urinary system, urolith.

¹ Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI), Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo (SAA)

² Mestranda em Medicina Veterinária; Departamento de Clínica Veterinária, Área Clínica de Grandes Animais. FMVZ-UNESP/Botucatu. Contato principal para correspondência

³ Professor Assistente Doutor do Departamento de Clínica Veterinária, Área Clínica de Grandes Animais. FMVZ-UNESP/Botucatu

⁴ Professor Adjunto do Departamento de Clínica Veterinária, Área Clínica de Grandes Animais. FMVZ-UNESP/Botucatu

UROLITIASIS OBSTRUCTIVA EN OVEJAS

RESUMEN

La urolitiasis es una alta incidencia de la enfermedad en las creaciones de ovejas. Urolitos se forman a partir de factores predisponentes tales como la dieta excesiva de proteínas con alto contenido de fósforo, magnesio o calcio o por ingestión de plantas con gran cantidad de oxalato o sílica. En la mayoría de los casos ocurre en la anatomía masculina joven debido a la uretra peneana. Generalmente, la obstrucción uretral es completa, aunque en algunos casos puede ser parcial. Después de la aparición de los signos clínicos hay pocas posibilidades de revertir el cuadro clínico y si el tratamiento quirúrgico necesario, la gran mayoría de los animales se convierte en no aptos para la reproducción. La prevención es la mejor medida para controlar la aparición de la enfermedad, por el equilibrio adecuado de la alimentación y la acidificación de la orina con la suplementación dietética empleando cloruro de amonio, que resultó ser eficaz también.

Palabras clave: corderos, cloruro de amonio, pienso, sistema urinario, urolitos.

INTRODUÇÃO

Desde a década de 70, o interesse pela produção de ovinos apresenta aumento gradativo no Brasil. Em 2011, o rebanho efetivo brasileiro de ovinos era de 17,6 milhões de cabeças, representando aumento de 1,6% sobre o número registrado em 2010. No estado de São Paulo a população ovina é cerca de 700 mil cabeças, o que reflete a relevância crescente que esta espécie apresenta na pecuária paulista, especialmente na produção de carne e comercialização de material genético (1).

A intensificação da produção, aliada à comercialização de animais de alto valor genético, acarretou profundas alterações no manejo alimentar dos ovinos, desencadeando o aumento da ocorrência de doenças nutricionais e metabólicas, e entre as principais se destaca a urolitíase obstrutiva (2,3). Considerada como enfermidade de maior importância do trato urinário de ruminantes, ocorre particularmente em machos jovens, e causa sérios prejuízos econômicos relacionados à saída prematura dos animais da reprodução, gastos com tratamento, morte dos animais afetados e condenação da carcaça em abate emergencial (4,5).

Após o aparecimento dos sinais clínicos a reversão do quadro é difícil, podendo ser necessário tratamento cirúrgico quando, na grande maioria dos casos, os animais tornam-se inaptos para a reprodução. Tais limitações econômicas, devido à prolongada terapia clínica e ao difícil acesso cirúrgico, frequentemente fazem com que o animal seja descartado. Isto implica em prejuízo econômico ao produtor, pois além do animal, perde-se também material genético de alto valor zootécnico (6,7).

Os urólitos são formados a partir de fatores predisponentes, tais como, manejo intensivo dos animais, dieta excessivamente proteica ou com alto teor de fósforo, magnésio ou cálcio e ainda a ingestão de plantas com grande quantidade de oxalato ou sílica (8). Tais fatores não ocorrem de forma isolada, mas associados. Os machos são os mais afetados devido à anatomia da uretra peniana. O aumento da densidade urinária, a redução de água ingerida, desidratação, estase urinária, pH urinário alcalino, aumento de excreção mineral na urina, relacionada com a composição da dieta, a diminuição na concentração de colóide protetor da urina ou a descamação de células epiteliais da bexiga favorecem a precipitação de solutos que dão origem ao urólito (9,10).

A adoção de práticas preventivas constitui a melhor medida para o controle desta doença, e, para isso, é necessário conhecer a composição dos urólitos e corrigir todos os possíveis fatores que podem estar relacionados com sua formação (11). A acidificação do pH

urinário evita, principalmente, a formação dos cálculos de fosfato (12). Ferreira (13) comparou dois produtos para acidificação urinária em ovinos, o cloreto de amônio e a vitamina C (ácido ascórbico), e constatou que o cloreto de amônio diminuiu o pH da urina, mantendo a acidificação constante, enquanto o ácido ascórbico apresentou oscilações.

Considerando que a urolitíase é problema comum e limitante à ovinocultura o objetivo desta revisão é descrever a etiopatogenia, sinais clínicos, tratamento, e principalmente a prevenção da urolitíase obstrutiva em ovinos.

REVISÃO DE LITERATURA

Epidemiologia e Etiopatogenia

A urolitíase obstrutiva é caracterizada por formação de cálculos no trato urinário, que impedem o fluxo da urina. É uma doença amplamente discutida na literatura, acomete animais e humanos, e se relaciona com o manejo nutricional em todas as espécies (14). Ocorre com maior frequência e importância econômica em cordeiros, cabritos, garrotes, e animais de elite confinados (7,15). Robinson et al. (14) citaram a quantidade de publicações relacionadas à urolitíase em animais, sendo a maioria das descrições na espécie canina [342], seguida dos felinos [155], suínos [108], bovinos [68], equinos [57], ovinos [27] e caprinos [26]. Em ovinos há trabalhos descritos na literatura desde a década de 30 (16).

Além da predisposição anatômica do pênis dos ruminantes, a castração precoce pode induzir a hipoplasia uretral e peniana, com conseqüente diminuição do diâmetro da uretra (17,18,19). Todas as raças de ovinos são suscetíveis, os ovinos da raça Texel são particularmente eficientes na absorção e excreção de minerais, quando comparados com as raças Sulffok e Blackface, sendo mais predispostos à urolitíase devido à elevada concentração de minerais na urina (5).

A doença está presente, com maior frequência, em sistemas de manejo intensivo, onde a ração é formada basicamente de grãos. Este tipo de alimento, de modo geral, tem elevado teor de fósforo e de magnésio, mas baixo teor de cálcio, desta forma, a proporção de Ca e P varia de 1:4 a 1:6, enquanto que a relação ideal seria de 1:1 a 2:1. O desequilíbrio Ca: P resulta em elevada excreção de fósforo pela urina, sendo importante fator para a gênese dos urólitos (2,20,21,22). A urina dos ruminantes é alcalina, o que torna o fósforo insolúvel, precipitando-o e formando cristais com o cálcio e o magnésio (7).

Animais confinados são predispostos à formação de cálculos de fosfato, pois geralmente recebem dietas ricas em grãos com alto teor de fósforo (P) e baixo teor de cálcio (Ca), resultando em desbalanço da proporção Ca:P. Assim, o animal apresenta hiperfosfatemia e conseqüentemente eleva a excreção renal de fosfatos. A saliva é importante, também, no metabolismo do fósforo, pois apresenta uma concentração de fósforo 12 a 16 vezes maior do que o sangue. Os ruminantes removem o fósforo do organismo pela sua excreção pela saliva e daí para o rúmen e fezes. Normalmente, cerca de 60% do P que chega ao rúmen é proveniente da saliva e os 40% restantes vêm da dieta. Dietas altas em concentrados e baixas em volumosos diminuem a formação de saliva, em conseqüência mais fósforo deve ser eliminado pelo rim e excretado na urina aumentando o risco de urolitíase (2), porém grande parte do fósforo ingerido chega aos intestinos, e é excretado pelas fezes (8,23).

A concentração da urina pela pouca ingestão de água pode causar urolitíase, e o problema é agravado em pastagens onde os animais não conhecem os acessos à água ou não há água de boa qualidade disponível. A estase urinária resultante de infecções e processos inflamatórios do trato urinário favorece o aparecimento de cálculos, pois o acúmulo de restos celulares altera o pH da urina, forma compostos salinos insolúveis, produz colóides estranhos à urina (pus e sangue), proporcionando a formação do núcleo ou matriz orgânica. O uso de

estrogênio aumenta a descamação do epitélio urinário e o aumento da produção de muco, favorecendo a formação da matriz orgânica (24).

Os principais fatores que contribuem para o desenvolvimento da urolitíase podem ser agrupados naqueles que auxiliam o desenvolvimento de um núcleo, ao redor dos quais ocorre a precipitação e concreção, aqueles que facilitam a precipitação de solutos no núcleo e, os que favorecem a concreção por cimentar sais precipitados para o desenvolvimento do cálculo (3,9).

A presença de coloides protetores altera as propriedades físicas da urina deixando-a mais viscosa, prevenindo assim a precipitação dos solutos. Porém, esses coloides possuem capacidade limitada de prevenção da precipitação dos sais e após atingir uma concentração máxima, a urina se torna instável, tendo como característica a presença intermitente de precipitados. A fração mucopolissacarídica das mucoproteínas atua como agente “cimentante” quando há precipitação de solutos (9,13).

Animais mais jovens e a redução da uretra devido à castração precoce podem reduzir o diâmetro da uretra e, portanto, aumentar o risco de obstrução. Os locais mais comuns de obstrução incluem o processo uretral (apêndice vermiforme) e a flexura sigmoide distal, embora o triângulo vesical, a bexiga e a pelve renal também sejam locais de grande acúmulo de cálculos (25,26).

Existem diferentes tipos de cálculos que podem ser formados. A etiologia do cálculo é complexa e multifatorial. Influências geográficas e sazonais, fatores dietéticos, ambientais, hormonais e doenças infecciosas do sistema urinário têm sido descritas como fatores predisponentes à formação de urólitos (16,27).

Os cálculos são compostos por uma fração orgânica e outra inorgânica. A solubilidade de alguns sais é influenciada pelo pH da urina, sendo que o pH alcalino favorece a formação de cálculos de fosfato, estruvita e carbonato (9,11). Animais confinados são predispostos à formação de cálculos de fosfato, pois geralmente recebem dietas ricas em grãos que são ricos em fósforo (20). O urólito de magnésio forma-se em dietas que apresentam teor de magnésio acima de 0,6% da ração, principalmente em substitutos do leite bovino (8).

Cálculos de carbonato de cálcio podem ser formados a partir da ingestão de plantas com alto teor de ácido oxálico. Esses cálculos podem se formar tanto em pH alcalino quanto ácido (9).

O urólito de sílica é formado quando há grande eliminação de ácido silícico pelos rins. Esse tipo de cálculo é mais frequente em animais que se alimentam de plantas que crescem em solos arenosos ou que ingerem água que contém alto teor de sílica (28) e são de pouca importância nos animais criados em regime intensivo.

Em ruminantes, os tipos predominantes de cálculo são os compostos de estruvita, silicatos, carbonatos e oxalatos. A formação de urólitos compostos por carbonato de cálcio está associada ao consumo de forragens com elevado teor de cálcio e baixo teor de fósforo e magnésio. O mecanismo de formação de urólitos de oxalato de cálcio não está esclarecido, mas a intoxicação por plantas que contêm altos teores de oxalatos não é considerada como causa da enfermidade (26).

Sahinduran et al. (29) realizaram análise da composição química dos urólitos obtidos nos rins de bovinos posteriormente ao abate, e observaram que o elemento mais frequente foi de cálcio, com 42,45% de apatita, 20,15% de estruvita, 15,15% de carbonato de magnésio, 12,12% de carbonato de cálcio, e 10,13% de fosfato de cálcio (cistina).

Outro aspecto a ser considerado é a quantidade e qualidade da água consumida. A dureza da água depende de íons presentes, principalmente o cálcio e o magnésio, na forma de carbonato. Vários autores correlacionaram positivamente a dureza da água consumida com a incidência da urolitíase (29,30).

Sacco e Lopes (30) estudaram a ocorrência de urolitíase obstrutiva em bovinos Guzerá provenientes de duas fazendas de criação semi-intensiva no interior paulista brasileiro, uma

com a enfermidade confirmada, e outra sem a doença. Os bovinos do grupo urolitíase consumiam água com dureza total na concentração de 166mg CaCO₃/L, valor 13 vezes maior em relação aos animais sem a doença, além da maior concentração de fósforo na dieta e relação Ca:P inadequada. A concentração sérica de magnésio também foi maior neste grupo. Packett et al. (31) afirmaram que a hipermagnesemia é achado frequente no sangue de ovinos acometidos por urolitíase.

Sahinduran et al. (29) examinaram 500 rins (362 de fêmeas e 138 de machos) provenientes de abatedouros de bovinos na Turquia. Identificaram-se 20,4% (102/500) de animais da raça Holandesa com presença de cálculos nos rins, com idade de um a oito anos, sendo 73 machos e 29 fêmeas. Embora seja mais frequente a formação de cálculos pela quantidade excessiva de fósforo na dieta, neste trabalho os autores encontraram alto nível de magnésio na água ingerida, proporcionando dureza total da água superior ao recomendado para a espécie (29).

Sinais Clínicos

Os primeiros sinais clínicos manifestados pelos animais com urolitíase obstrutiva estão relacionados à dor (32). Os sinais característicos de obstrução uretral são desconforto abdominal, escoiceamento do abdome, manoteio, balançar da cauda, decúbito intermitente com inquietação, anorexia, dificuldade de andar, marcha rígida, podendo estar presente, também, a exposição do pênis (18,19). Geralmente o animal faz esforço para urinar, adotando postura de micção, com contração espasmódica do pênis, sendo visível a movimentação do prepúcio. Pode haver grunhidos e ranger de dentes. Esses esforços podem resultar na saída de poucas gotas de urina, normalmente de coloração avermelhada devido à presença de sangue e podem predispor ao prolapso retal. À palpação retal digital nota-se aumento de sensibilidade, no local da obstrução, e pulsação da uretra (2,4). Os animais que desenvolvem urolitíase podem apresentar polaquiúria, disúria, hematúria, piúria e hipertermia (5).

Nos casos de necrose da uretra e ruptura da bexiga há extravasamento de urina para o tecido conjuntivo da parede abdominal ventral e prepúcio ou cavidade abdominal causando irritação do tecido, necrose, reabsorção de urina e uremia. A ruptura da bexiga com liberação de grande volume de urina no abdome é evidenciada por diminuição da dor à princípio, e distensão do abdome, o qual torna-se abaulado ventralmente ocorrendo em seguida sinais de desidratação e uremia (2).

Achados laboratoriais

Para o diagnóstico, o exame clínico pode ser complementado por exames laboratoriais. Embora o hemograma e os exames de bioquímica sérica (ureia e principalmente creatinina) sejam primordiais no diagnóstico de problemas renais, o exame de urina é extremamente importante na detecção de nefropatias (33).

Nos achados da urinálise, ocorre hematúria provavelmente em decorrência das lesões hemorrágicas provocadas pela presença de cálculos na mucosa do trato urinário. Este achado foi descrito com frequência em casos de obstrução parcial da uretra (2,5). O aspecto turvo da urina é encontrado na maioria das vezes devido à elevada contagem celular urinária, representada pelo aumento do número de células epiteliais, eritrócitos, leucócitos, bactérias, muco, e principalmente pelos cristais (34).

Vários autores relatam a presença de pH ácido relacionada à alimentação com grande quantidade de grãos (5,34). Quanto à presença dos cristais, há influência do pH, da solubilidade e da concentração dos cristaloides. No caso da urolitíase, este achado pode ajudar na identificação da natureza mineral dos cálculos (34).

Para que haja insuficiência renal é necessário que aproximadamente 75% dos néfrons de ambos os rins sejam perdidos, provocando inadequada excreção de ureia e creatinina, proteinúria, glicosúria e aumento da celularidade do sedimento urinário. Pode haver também bactérias decorrentes de cistite ou pielonefrite. A urolitíase pode ter como consequência clínica a pielonefrite, cistite, uretrite e a hidronefrose (2).

A bioquímica sérica revela azotemia pós-renal, que se relaciona à estase urinária e consequente reabsorção destes compostos (9,18). Os níveis de creatinina plasmática refletem a taxa de filtração renal, de forma que os altos níveis indicam deficiência na funcionalidade renal (35). A ureia pode ter influência alimentar, visto que a concentração sérica e excreção se elevam com o aumento do teor de proteína da dieta. Em dietas com baixos níveis de proteína bruta a maioria da ureia é reciclada e muito pouco se perde na urina (36).

Além da azotemia, outras alterações bioquímicas são associadas ao quadro de urolitíase em animais monogástricos, como hiperfosfatemia, hiponatremia, hipercalemia e acidose metabólica, em ruminantes pode haver diminuição dos níveis de fósforo e potássio, e alcalose metabólica (37). No entanto, George et al. (37) estudaram 107 casos de urolitíase em caprinos e detectaram hipofosfatemia associado à azotemia. Hipocloremia e hipercalemia, e acidose metabólica foram pouco frequentes, enquanto quadros de alcalose metabólica foram mais comuns nos casos de obstrução uretral.

Donecker e Bellamy (38) compararam as alterações bioquímicas sanguíneas em bovinos com ruptura de uretra e bexiga devido à urolitíase. Constatou-se que animais com urolitíase apresentaram azotemia, hiponatremia e hipocloremia, mais acentuadas na ruptura vesical. Hiperfosfatemia foi evidenciada apenas nos casos de uroperitônio. O hemograma pode revelar desidratação com hemoconcentração e sinais de inflamação, como hiperfibrinogenemia e leucocitose com neutrofilia (19,39).

Exames complementares

Outros exames complementares, de imagem como radiografia, ultrassonografia e tomografia computadorizada (40), podem auxiliar no diagnóstico, confirmando a presença de urólitos nos rins, ureter, bexiga, e uretra. Desta forma pode-se intervir precocemente, pois a doença torna-se letal quando gera obstrução total da uretra (6). Cálculos de estruvita não são visíveis na radiografia, já os urólitos de carbonato de cálcio são radiopacos e são detectados (18). Técnicas de imagem com contraste também podem ser aplicadas, como a uretrocistografia, que permite a identificação de possível obstrução total da uretra, ruptura uretral, e até o diagnóstico de ruptura de bexiga, caso o contraste extravase para o subcutâneo, e para a cavidade abdominal, respectivamente (6).

O exame ultrassonográfico renal pode mostrar alterações de ecogenicidade do órgão, sugerindo outros problemas como nefrite intersticial, pielonefrite e hidronefrose (41,42). Pode-se visualizar bexiga repleta de urina, em casos de obstrução uretral, ou até líquido livre na cavidade abdominal em casos de ruptura vesical. Nem sempre se consegue identificar a presença de cálculos devido à ecogenicidade do material (3,40,42).

Diagnósticos diferenciais

Na obstrução uretral, as principais características são dor abdominal e anorexia, que deverão ser diferenciadas por auscultação e percussão detalhadas de outras enfermidades intestinais como obstrução intestinal, coccidiose, salmonelose e indigestão aguda. Quando há obstrução uretral, o animal apresenta, associado a estes sintomas, letargia, depressão, disúria, cristais nos pelos do prepúcio e exposição peniana (9).

A ruptura uretral provoca edema e aumento de volume local causado pelo extravasamento de urina, e a região permanece fria e há necrose tecidual. O diagnóstico

diferencial é realizado entre abscessos subcutâneos, abscessos umbilicais, hérnias umbilicais e ventrais, hematomas e lesão prepucial (9).

Quando há ruptura de bexiga o abdome apresenta-se distendido e deve ser diferenciado de timpanismo ruminal, indigestão vagal e ascite. Com a evolução do quadro clínico e do estado urêmico, o animal apresenta depressão severa, anorexia e desidratação. Nesta situação, devem ser realizados exames neurológicos, para excluir suspeita de raiva (9).

Achados de necropsia

Na necropsia de animais com urolitíase obstrutiva, os achados macroscópicos renais mais frequentes são pielonefrite e hidronefrose, sendo também encontrados nefrite difusa, pielonefrite supurativa e urólitos. Nos ureteres pode haver inflamação e hidroureter. Na bexiga geralmente se encontra cistite hemorrágica difusa e urólitos. Podem-se constatar alguns casos de cistite purulenta, presença de focos necróticos e ruptura vesical. Na uretra ocorrem com maior frequência, urólitos e uretrite hemorrágica difusa além de uretrite purulenta e necrotizante e, ainda, casos de ruptura uretral (5).

Loretti et al. (24) descreveram presença de urólitos obstruindo a uretra na porção distal da flexura sigmoide, ruptura da bexiga com extravasamento de urina para a cavidade abdominal e peritonite fibrinosa difusa em bovinos confinados e castrados.

Oliveira et al. (26) relataram um caso de ruptura uretral peniana em um touro Nelore. Havia necrose dos tecidos adjacentes à uretra e hemorragia. Os ureteres estavam dilatados. Nos rins havia múltiplas áreas brancas, não delimitadas da medula à região cortical. Na superfície de corte dos rins foi evidenciada dilatação multifocal dos cálices renais, alguns deles repletos por cálculos urinários de diversos diâmetros (26).

Tratamento

A urolitíase obstrutiva, em pequenos ruminantes, ainda é um problema de difícil tratamento, e, quando se consideram resultados em longo prazo, o tratamento cirúrgico torna-se imprescindível (43). O tratamento utilizado depende do estágio da doença, da natureza e extensão dos cálculos presentes, da função do animal e, frequentemente, das questões financeiras (3). Quando a intervenção cirúrgica torna-se necessária, caso haja interesse de se manter o animal por longos períodos, o prognóstico varia de reservado a mau (10).

O animal com urolitíase obstrutiva deve ser tratado como uma emergência. A primeira tentativa no tratamento da urolitíase pode ser realizada com o uso de relaxantes musculares, sendo que o objetivo primário do atendimento ao paciente obstruído é restabelecer o fluxo urinário. A hioscina, associada à dipirona pode ser utilizada como relaxante e analgésico, enquanto a xilazina deve ser evitada pela ação diurética. A acepromazina é o sedativo de escolha, pois tem melhor efeito antiespasmódico na uretra (19).

A amputação do processo vermiforme deve ser feita antes da sondagem, pois se consegue restaurar o fluxo de urina em cerca de 70% dos pacientes, quando a obstrução for próximo à glândula (44). A amputação do processo uretral associada a fármacos pode promover alívio temporário, em no máximo 36 horas (42). No entanto, deve-se monitorar o fluxo urinário do animal, pois é comum haver obstrução secundária na flexura sigmoide, e a taxa de recorrência chega a 80% (10,45,46). Além disso, deve-se corrigir o desequilíbrio hidroeletrólítico do animal após desobstrução. Recomenda-se associar o uso de antibióticos de amplo espectro de ação de forma profilática, e anti-inflamatórios não esteroides, importante para controle da dor e redução dos sinais de inflamação (47).

Dória et al. (10) relataram nove casos de obstrução uretral e urolitíase, em que apenas a terapia medicamentosa, mesmo quando associada à amputação do apêndice vermiforme, não foi suficiente para solucionar o problema. Assim, caso esse procedimento falhe, não

permitindo a micção normal, como ocorreu em todos os casos relatados, a cateterização da uretra e sua lavagem retrógrada podem deslocar alguns cálculos. Porém, a cateterização da uretra para a bexiga pode ser difícil em pequenos ruminantes devido às particularidades anatômicas, como a flexura sigmoide e, principalmente, o divertículo uretral na região do arco isquiático. Como o cateter move-se dorsalmente na uretra na região perineal e começa a arquear-se cranialmente sobre o púbis, invariavelmente, encontra o recesso uretral e não atinge a bexiga. Ignorar o recesso uretral pode levar a manipulação forçada do cateter para alcançar a bexiga, causando sua ruptura, com subsequente acúmulo de urina no tecido perineal, além de traumatizar o canal uretral (10,47).

Para a cateterização da uretra e sua lavagem por hidropulsão retrógrada, o animal deve ser contido em posição sentada. Com o pênis exposto pode-se realizar a lavagem retrógrada, utilizando-se solução composta de lidocaína (uma parte de lidocaína a 2% para três partes de solução salina isotônica). Se houver desobstrução da uretra, deve-se proceder a nova lavagem, com solução fraca de ácido acético. Todo este procedimento deve ser feito com os devidos cuidados de antissepsia (19).

Janke et al. (48) relataram o uso de uma solução acidificante (pH 4,5) para o tratamento de 25 casos de urolitíase em caprinos, chamada Walpole, cuja composição é de 1,16% de acetato de sódio, 1,09% de ácido acético e 97,75% de água destilada. Este produto tem sido usado para dissolução de cálculos de estruvita presentes no sistema urinário em várias espécies (19,48). Porém, os autores não conseguiram comprovar sua eficácia isolada nos animais estudados, visto que outros tratamentos foram utilizados, como administração de flunixin meglumine, dexametasona, cloreto de amônio e antibióticos.

Alguns casos têm indicação cirúrgica para manter a vida do animal, mas é muito provável a sua inutilização para a reprodução (3). A uretrotomia, com posterior desobstrução da uretra, a uretrotomia perineal, ou a cistotomia com a implantação de sonda temporária podem ser utilizadas para a manutenção do fluxo urinário. Para se escolher uma técnica cirúrgica em relação à outra, é necessário avaliar as taxas de sucesso observadas entre diferentes estudos, complicações intrínsecas de cada técnica, dificuldades na realização destas e custo associado com cada procedimento (42,43,46,49,50). Vários autores descreveram técnicas cirúrgicas para remoção dos cálculos, e retorno do fluxo urinário, no entanto, as alterações metabólicas acarretadas pela obstrução, e os riscos anestésicos contribuem para resultados insatisfatórios (51,52).

A uretrotomia perineal é uma das abordagens cirúrgicas ao bloqueio ou ruptura uretral. Em geral, este é um procedimento de salvamento que não confere resolução do problema em longo prazo. Existem relatos de uretrotomia perineal em ovinos e caprinos, porém, o insucesso cirúrgico, o curto período de sobrevivência (em razão das estenoses) e o baixo desempenho reprodutivo restringem o uso dessa técnica às situações de emergência (43,48). A cistotomia com hidropulsão uretral bidirecional apresenta sucesso em sete de cada oito casos (42), entretanto, o procedimento não é amplamente adotado devido ao tempo cirúrgico prolongado (duas a três horas) e ao risco potencial de ruptura uretral no local da obstrução. A cistotomia e cistostomia com aplicação de sonda (cateter de Foley) permitem maior tempo de sobrevivência e retorno à função reprodutiva normal (46,50,51). Esses procedimentos apresentam em torno de 80% de taxa de sucesso em pequenos ruminantes. Infelizmente, o custo da cistostomia e a necessidade de tempo prolongado de permanência do animal sob acompanhamento médico veterinário (duas a três semanas), podem restringir seu uso a animais de estimação e reprodutores (10,49).

Cirurgias por laparoscopia já são bem estabelecidas na rotina de bovinos e equinos, porém seu uso em pequenos ruminantes é limitado às biotécnicas de reprodução, como inseminação artificial e transferência de embrião (39). Franz et al. (45) avaliaram laparoscopia para implantação de cateter na bexiga pelo flanco direito em carneiro, e constataram que esta técnica deve ser considerada como uma alternativa à laparotomia. Hunter et al. (39)

descreveram a técnica de marsupialização da bexiga por laparoscopia em casos de obstrução uretral recorrente, após uretostomia perineal em caprino.

Assim como é feito em humanos, intervenções cirúrgicas com endoscópio podem alcançar o local de obstrução, e realizar laser litotripsia na tentativa de remoção de cálculos. A técnica já foi utilizada em bovinos (53), suínos e pequenos ruminantes (25). Em equinos a técnica necessita de mais estudos para comprovação de sua eficiência (53).

Outro importante método que pode ser adotado é o uso de acidificantes da urina. Em um estudo foram testados quatro tratamentos: um grupo controle, um suplementado com 6% de cálcio na dieta, outro com 1% de cloreto de amônio na dieta e outro com a suplementação de 6% de Ca e 1% de cloreto de amônio. Observou-se uma incidência de 13% de urolitíase no grupo controle, 18% no grupo suplementado apenas com Ca e nenhum caso nos tratamentos com cloreto de amônio e Ca. A sílica foi o principal constituinte nos urólitos encontrados, 95% no grupo controle e 94% no grupo suplementado com Ca (54). A suplementação com cloreto de amônio concomitante à proporção correta de Ca : P reduziu a incidência de cálculos de sílica (55).

Prevenção

Em vista da dificuldade de tratamento e das complicações da urolitíase, que leva principalmente à inutilização do macho para a reprodução e, conseqüentemente, à perda de grandes valores genéticos e econômicos, a doença deve ser prioritariamente prevenida (3,13).

Os melhores resultados são obtidos com a prevenção da doença diante da alta letalidade, antes que se inicie a formação do cálculo, visando à integridade produtiva do animal (3,47). Dentre os métodos de prevenção, a acidificação urinária é uma alternativa eficiente (55,56).

Para isso, deve-se conhecer a composição química dos urólitos e corrigir todos os possíveis fatores que podem estar relacionados com a sua formação (11). O principal fator que deve ser corrigido é a relação Ca : P da dieta, evitando assim o excesso de fósforo na urina. Os animais não devem sofrer restrições hídricas, principalmente quando em locais estranhos, logo após períodos de viagem. Suplementação alimentar com cloreto de sódio em torno de 2 a 5% da dieta total auxilia na prevenção da urolitíase, pois aumenta o consumo de água provocando diurese (2,57).

A prevenção dos cálculos de sílica depende de um consumo adequado de água, que causa diluição do ácido silícico. Se os animais consumirem quantidades de sal que aumentem o consumo de água acima de 20% do peso corporal por dia, a formação de cálculos de sílica será completamente suprimida. Em pastagens com alto teor de sílica e ácido oxálico, os machos devem ter acesso restrito a ela (28).

Animais confinados, que estiverem com deficiência de vitamina A, podem ser suplementados, o que evita a descamação excessiva do epitélio das vias urinárias (9). Porém, Lindley et al. (27) não observaram interferência da vitamina A na incidência de urolitíase em carneiros.

O retardo na castração deve ser considerado, pois favorece maior diâmetro da uretra, o que facilita a excreção de cálculos menores. Porém, sabe-se que na rotina de confinamento de cordeiros não se adota esse procedimento, visto que os animais são abatidos precocemente (17).

A acidificação da urina é um dos métodos mais eficientes e baratos na prevenção da urolitíase. Pode ser realizada com a administração de dieta aniônica (58) e o uso de substâncias que induzem a diminuição do pH urinário (56). O cloreto de amônio pode ser utilizado na prevenção de urólitos de estruvita e fosfato de cálcio, que são preferencialmente formados em pH alcalino (12,55,56). Ele pode ser adicionado na alimentação para tornar-se palatável em 0,5% a 1,0% da dieta total ou 2% no concentrado (57). Quando administrado individualmente pode-se utilizar a dose de 5 a 10g/animal/dia (9,19,44).

Ferreira (13) observaram a acidificação do pH urinário em ovinos tratados com 400mg/kg/PV de cloreto de amônio/dia. Houve diminuição do pH a partir do segundo dia da administração, e os valores se mantiveram menores que 6,0 durante os 21 dias de experimento, de forma satisfatória. Mavangira et al. (56) não conseguiram acidificar a urina de caprinos utilizando 200mg/kg/PV de cloreto de amônio. Com dose de 400mg/kg/PV, o pH da urina ficou abaixo de 6,5, porém 24 horas após, o pH aumentou, mesmo com uma segunda administração. Já com 500mg/kg/PV o pH urinário abaixou de 8,0 para 5,5, em 12 horas após a segunda administração. Em estudo recente, Ferreira (3) observou a acidificação urinária logo na primeira aferição, sete dias após o início do tratamento, e o pH se manteve menor que 6,1, utilizando dose de 400mg/kg/PV/dia. durante todo o período experimental.

O cloreto de amônio induz acidose e diurese transitória por ser absorvido pelo trato gastrointestinal e ser convertido no fígado em ureia e ácido clorídrico (HCl), pela ornitina. No lúmen intestinal, os íons de hidrogênio (H^+) e o cloreto (Cl^-) podem ser absorvidos ou excretados, necessitando de íons bicarbonato (HCO_3^-) para neutralizar esses íons. O Cl^- age com um doador de H^+ , provocando acidose metabólica. O H^+ é excretado diretamente pelos túbulos renais para compensar a acidemia, produzindo urina ácida, ou se combina com o HCO_3^- para formar ácido carbônico, que se dissocia em H_2O e CO_2 . O CO_2 então é expirado, restando o Cl^- e a ureia, que provocam diurese osmótica, com o cloreto sendo excretado como um sal com o sódio (Na) e volume equivalente de água (58,59).

Ferreira et al. (60) utilizaram a dose de 400mg/kg/animal/dia de cloreto de amônio e avaliaram a ação desse produto sobre o equilíbrio ácido-básico e eletrolítico de ovinos confinados. A acidificação urinária foi mantida enquanto houve a administração junto à dieta total. Os valores de Na^+ e K^+ permaneceram dentro da normalidade para a espécie. O cloreto de amônio provocou acidose metabólica hiperclorêmica compensada, comprovada pelos valores reduzidos de HCO_3^- , EB e SID, pelos valores elevados de Cl^- e pelo pH sanguíneo normal. Concluiu-se que o cloreto de amônio, apesar de provocar diminuição da reserva alcalina no organismo, não interferiu com o desenvolvimento dos animais, podendo ser empregado como agente preventivo da urolitíase obstrutiva em ovinos.

A utilização do cloreto de amônio na prevenção do cálculo de sílica é controversa. Radostits et al. (9) afirmaram que não há influência deste composto na prevenção de urolitíase por sílica, no entanto, Stewart et al. (55) obtiveram bons resultados em experimento controlado, com ovinos alimentados com dieta básica de 50% de feno e 50% de aveia, contendo 3,3% de óxido de sílica.

A vitamina C (ácido ascórbico) é citada pela literatura como tendo resultados satisfatórios quando administrados de 3 a 4mg/kg/dia (19,44), embora tenha sido comprovado que o pH urinário em ovinos não permaneceu constantemente ácido (13).

O ácido ascórbico é facilmente absorvido no jejuno e íleo na presença de sódio, e atinge níveis séricos relativamente elevados. Além de ser substância de pH baixo, quando administrado em altas doses é excretado pelos rins, promovendo oxidação e transporte de H^+ , o que acidifica a urina. Entretanto, a vitamina C parece ter menor absorção nos ruminantes devido à ação bacteriana do rúmen (61).

A conservação e administração do ácido ascórbico podem apresentar alguns problemas, pois por ser facilmente degradado em estado líquido e com a exposição à luz, exige proteção do frasco e aplicação imediatamente após a diluição do medicamento (60). Como seu fornecimento, para ter efeito acidificante exige aplicação diária, seu uso não é indicado por outros pesquisadores (18).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aumento da incidência de casos de urolitíase obstrutiva em ovinos deve-se, principalmente, ao crescimento dos rebanhos comerciais e confinamentos para abate, visto

que se observa crescente demanda da carne ovina pelo mercado consumidor brasileiro. Para a terminação do cordeiro e abate precoce, os produtores utilizam dietas ricas em grãos a fim de obter maior conversão alimentar, e em posteriormente, melhor rendimento de carcaça. Esta alimentação quando desbalanceada pode predispor ao desenvolvimento da doença. Os machos destinados à reprodução, de alto valor genético, e que participam de exposições e feiras agropecuárias também recebem alimentação rica em concentrado, e portanto também são suscetíveis à urolitíase obstrutiva.

Diante da dificuldade da reversão dos sinais clínicos e do tratamento, a prevenção torna-se a melhor opção para combater a enfermidade. Os métodos mais eficazes para impedir a formação dos urólitos são obtidos: pelo uso de dietas balanceadas, pela castração tardia dos machos, pelo fornecimento de água limpa e de acesso fácil, e pela administração de acidificantes urinários. O cloreto de amônio adicionado à dieta total dos ovinos é eficaz para a manutenção do pH ácido da urina, e conseqüentemente para a prevenção da urolitíase obstrutiva nos rebanhos.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Comunicação social. PPM 2011: rebanho bovino cresce 1,6% e chega a 212,8 milhões de cabeças [Internet]. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [Cited 2012 Dec 10]. Available from: <http://saladeimprensa.ibge.gov.br/noticias?view=noticia&id=1&busca=1&idnoticia=2241>.
2. Riet-Correa F, Simões SVD, Vasconcelos JS. Urolitíase em caprinos e ovinos. *Pesq Vet Bras.* 2008;28:319-22.
3. Ferreira DOL. Modelo experimental de urolitíase em ovinos - estudo clínico, laboratorial e hemogasométrico [tese]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2013.
4. Antonelli AC, Barrêto Júnior RA, Mori CS, Sucupira MCA, Marcello ACS, Ortolani EL. Efeito de diferentes fontes energéticas na predisposição para urolitíase em cabritos. *Ci Anim Bras.* 2012;13:487-93.
5. Guimarães JA, Mendoça CL, Guaraná ELS, Dantas AC, Costa NA, Câmara ACL, et al. Estudo retrospectivo de 66 casos de urolitíase obstrutiva em ovinos. *Pesq Vet Bras.* 2012;32: 824-30.
6. Palmer JL, Dykes NL, Love K, Fubini SL. Contrast radiography of the lower urinary tract in the management of obstructive urolithiasis in small ruminants and swine. *Vet Radiol Ultrasound.* 1998;39:175-80.
7. Aquino Neto HM, Facury Filho EJ, Carvalho AU, Souza FA, Jordão LR. Urolitíase obstrutiva em ovinos: revisão de literatura. *Vet Foco.* 2007;4:191-202.
8. Packett LV, Hauschild JP. Phosphorus, calcium and magnesium: relationship in ovine urolithiasis. *J Nutr.* 1964;84:185-90.
9. Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. Clínica veterinária – um tratado de doenças em bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos. 9a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2007. p.1737.

10. Dória RGS, Canola PA, Dias DPM, Pereira RN, Valadão CAA. Técnicas cirúrgicas para urolitíase obstrutiva em pequenos ruminantes: relato de casos. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2007;59:1425-32.
11. Sun W-D, Zhang K-C, Wang J-Y, Wang X-L. The chemical composition and ultrastructure of uroliths in Boer goats. *Vet J.* 2010;186:70-5.
12. Crookshank HR. Effect of ammonium salts on the production of ovine urinary calculi. *J Anim Sci.* 1970;30:1002-4.
13. Ferreira DOL. Avaliação da acidificação urinária em ovinos com a utilização de três tratamentos [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2009.
14. Robinson MR, Norris RD, Sur RL, Preminger GM. Urolithiasis: Not Just a 2-Legged Animal Disease. *J Urol.* 2008;179:46-52.
15. Angus KW. Nephropathy in young lambs. *Vet Rec.* 1990;126:525-8.
16. Eveleth DF, Millen TW. High serum magnesium associated with urinary calculi in sheep. *Vet Med.* 1939;34:106-7.
17. Parker BN. Urolithiasis in calves and lambs. *Vet Rec.* 1981;108:545-6.
18. Wolf CB. Managing Tube Cystotomies in Goats. In: Proceedings of The North American Veterinary Conference; 2006; Orlando, Florida. Orlando: The North American Veterinary Conference; 2006. p.324-5.
19. Navarre CB. Urolithiasis in Goats In: Proceedings of The North American Veterinary Conference; 2007; Orlando, Florida. Orlando: The North American Veterinary Conference; 2007. p.134-5.
20. Emerick RJ, Embry LB. Calcium and Phosphorus levels related to the development of phosphate urinary calculi in sheep. *J Anim Sci.* 1963;22:510-3.
21. Bushman DH, Emerick RJ, Embry LB. Incidence of Urinary Calculi in Sheep as Affected by Various Dietary Phosphates. *J Anim Sci.* 1965;24:671-5.
22. Freeman SR, Poorea MH, Young GA, Anderson KL. Influence of calcium (0.6 or 1.2%) and phosphorus (0.3 or 0.6%) content and ratio on the formation of urolithogenic compounds in the urine of Boer-cross goats fed high-concentrate diets. *Small Rumin Res.* 2010;93:94-102.
23. Louvandini H, Vitti DMSS. Perda endógena de fósforo em ovinos com diferentes níveis do elemento na dieta. *Pesq Agropec Bras.* 1994;29:145-9.
24. Loretto AP, Oliveira LO, Cruz CEF, Driemeier D. Clinical and pathological study of an outbreak of obstructive urolithiasis in feedlot cattle in southern Brazil. *Pesq Vet Bras.* 2003;23:61-4.

25. Halland S, Phelps M, House JK. New methods to treat and prevent obstructive urolithiasis in small ruminants and pot-bellied pigs. In: Proceedings of the 18^o American College of Veterinary Medicine Forum; 2000; Lafayette, Colorado. Lafayette: American College of Veterinary Medicine Forum; 2000. p.268-70.
26. Oliveira RS, Macedo JTA, Lents MP, Silva RMM, Ferreira EA, Pinheiro EEG, et al. Urolitíase obstrutiva em touro Nelore no Recôncavo da Bahia. *Acta Sci Vet.* 2013;41 Suppl 1:1-4.
27. Lindley CE, Taysom ED, Ham WE, Schneider BH. Urinary Calculi in Sheep. *J Anim Sci.* 1953;12:704-14.
28. Bailey CB. Silica Metabolism and Silica Urolithiasis in Ruminants: a review. *Can J Anim Sci.* 1981;61:219-35.
29. Sahinduran S, Buyukoglu T, Gulay MS, Tasci F. Increased Water Hardness and Magnesium Levels May Increase Occurrence of Urolithiasis in Cows from the Burdur Region (Turkey). *Vet Res Commun.* 2007;31:665-71.
30. Sacco SR, Lopes RS. Urolitíase: estudo comparativo em bovinos Guzerá oriundos de propriedades com e sem o problema. *Pesq Vet Bras.* 2011;31:206-12.
31. Packett LV, Lineberger RO, Jackson HD. Mineral studies in ovine phosphatic urolithiasis. *J Anim Sci.* 1968;27:1716-21.
32. Oehme FW. Diagnosis and treatment of ruminant urolithiasis. *J Am Vet Med Assoc.* 1965;147:1331-9.
33. Araújo PB, Pereira DS, Teixeira MN, Coelho MCOC, Alencar SP. Urinálise como instrumento auxiliar no diagnóstico de enfermidades em pequenos ruminantes. *Med Vet, Recife.* 2009;3:30-8.
34. Garcia-Navarro CEK. *Manual de Urinálise Veterinária.* São Paulo: Varela; 2005.p.95.
35. Kozloski GV, Fiorentini G, Härter CJ, Sanchez LMB. Uso da creatinina como indicador da excreção urinária em ovinos. *Cienc Rural.* 2005;35:98-102.
36. Braun JP, Trumel C, Bézille P. Clinical biochemistry in sheep: A selected review. *Small Rumin Res.* 2010;92:10-8.
37. George JW, Hird DW, George LW. Serum biochemical abnormalities in goats with uroliths: 107 cases (1992–2003). *J Am Vet Med Assoc.* 2007;230:101-6.
38. Donecker JM, Bellamy JEC. Blood Chemical Abnormalities in cattle with ruptured bladders and ruptured urethras. *Can Vet J.* 1982;23:355-7.
39. Hunter BG, Huber MJ, Riddick TL. Laparoscopic-assisted urinary bladder marsupialization in a goat that developed recurrent urethral obstruction following perineal urethrostomy. *J Am Vet Med Assoc.* 2012;241:778-81.

40. Scott PR, Sargison ND. Ultrasonography as an adjunct to clinical examination in sheep. *Small Rumin Res.* 2010;92:108-19.
41. Scott PR. Clinical, ultrasonographic and pathological description of bladder distension with consequent hydroureters, severe hydronephrosis and perirenal fluid accumulation in two rams putatively ascribed to pelvic nerve dysfunction. *Small Rumin Res.* 2012;107:45-8.
42. Ferreira DOL, Santarosa BP, Belotta AF, Mamprim MJ, Silva AA, Dias A, et al. Alterações ultrassonográficas renais e vesicais de ovinos confinados e suplementados com cloreto de amônio. *Pesq Vet Bras.* 2014;34 Supl 1:99-106.
43. Van Metre D, Fecteau G, House JK, Smith BP, George LW, Angelos SM, et al. Obstructive urolithiasis in ruminants: surgical management and prevention. *Compend Contin Educ Pract Vet.* 1996;19:275-89.
44. Belknap EB, Pugh DG. *Enfermidades do Sistema Urinário.* In: Pugh DG. *Clínica de Ovinos e Caprinos.* 1a Ed. São Paulo: Roca; 2005. p.287-310.
45. Franz S, Dadak AM, Schöffmann G, Coppens P, Khol JL, Baumgartner W, et al. Laparoscopic-assisted implantation of a urinary catheter in male sheep. *J Am Vet Med Assoc.* 2008;232:1857-62.
46. Pearce SG, Dearo AC, Howard BE, Brisson BA. Management of obstructive urolithiasis and concurrent urethral rupture in a goat. *Aust Vet J.* 2003;81:268-70.
47. Ewoldt JM, Jones ML, Miesner MD. Surgery of Obstructive Urolithiasis in Ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2008;24:455-65.
48. Janke JJ, Osterstock JB, Washburn KE, Bissett WT, Roussel Jr AJ, Hooper RN. Use of Walpole's solution for treatment of goats with urolithiasis: 25 cases (2001–2006). *J Am Vet Med Assoc.* 2009;234:249-53.
49. Rakestraw PC, Fubini SL, Gilbert RO, Ward JO. Tube Cystostomy for Treatment of Obstructive Urolithiasis in Small Ruminants. *Vet Surg.* 1995;24:498-505.
50. Fazili MR, Malik HU, Bhattacharyya HK, Buchoo BA, Moulvi BA, Makhdoomi DM. Minimally invasive surgical tube cystotomy for treating obstructive urolithiasis in small ruminants with an intact urinary bladder. *Vet Rec.* 2010;166:528-32.
51. Streeter RN, Washburn KE, Mccauley CT. Percutaneous tube cystostomy and vesicular irrigation for treatment of obstructive urolithiasis in a goat. *J Am Vet Med Assoc.* 2002;221:546-9.
52. Van Metre DC, Fubini SL. Ovine and Caprine Urolithiasis. Another Piece of the Puzzle. *Vet Surg.* 2006;35:413-6.
53. Streeter RN, Washburn KE, Higbee RG, Bartels KE. Laser lithotripsy of a urethral calculus via ischial urethrotomy in a steer. *J Am Vet Med Assoc.* 2001;219:640-3.

54. Stewart SR, Emerick RJ, Pritchard RH. High dietary calcium to phosphorus ratio and alkali-forming potential as factors promoting silica urolithiasis in sheep. *J Anim Sci.* 1990;68:498-503.
55. Stewart SR, Emerick RJ, Pritchard RH. Effects of dietary ammonium chloride and variations in calcium to phosphorus ratio on silica urolithiasis in sheep. *J Anim Sci.* 1991;69:2225-9.
56. Mavangira V, Cornish JM, Angelos JA. Effect of ammonium chloride supplementation on urine pH and urinary fractional excretion of electrolytes in goats. *J Am Vet Med Assoc.* 2010;237:1299-304.
57. Stratton-Phelps M, House JK. Effect of a commercial anion dietary supplement on acid-base balance, urine volume, and urinary ion excretion in male goats fed oat or grass hay diets. *Am J Vet Res.* 2004;65:1391-7.
58. Jones ML, Streeter RN, Goad CL. Use of dietary cation anion difference for control of urolithiasis risk factors in goats. *Am J Vet Res.* 2009;70:149-55.
59. Taton GF, Hamar DW, Lewis LD. Evaluation of ammonium chloride as a urinary acidifier in the cat. *J Am Vet Med Assoc.* 1984;184:433-6.
60. Ferreira DOL, Santarosa BP, Sacco SR, Dias A, Amorim RM, Chiacchio SB, et al. Efeito da suplementação de cloreto de amônio sobre os equilíbrios eletrolítico e ácido-básico e o pH urinário de ovinos confinados. *Pesq Vet Bras.* 2014;34:797-804.
61. Martinello F, Silva EL. Interferência do ácido ascórbico nas determinações de parâmetros bioquímicos séricos: estudos *in vivo* e *in vitro*. *J Bras Patol Med Lab.* 2003;39:323-34.

Recebido em: 11/04/2014

Aceito em: 10/04/2015

PRESSÃO ARTERIAL EM CÃES: UMA REVISÃO

Mariana Tebaldi¹
Luiz Henrique Araújo Machado²
Maria Lucia Gomes Lourenço²

RESUMO

A avaliação da pressão arterial sanguínea é uma ferramenta indispensável na prática clínica veterinária e na monitoração de pacientes anestesiados ou sob cuidados intensivos, devido sua utilidade nos diagnósticos, tratamento e acompanhamento de diversas doenças. Além do fator patológico, a pressão arterial sanguínea também sofre influência de diferentes variáveis, tais como idade, raça, sexo, temperamento (ansiedade e estresse principalmente durante o atendimento - “Síndrome do jaleco branco), estado de doença, atividade física e, em menor intensidade, dieta dos animais. Uma das principais indicações para a avaliação da pressão arterial é a observação de alterações clínicas devidas à hipertensão em animais, caracterizada por lesões no sistema nervoso e cardiovascular, rins e olhos. Não menos importante, a avaliação da pressão torna-se também imprescindível nos estados hipotensivos, que representam um risco iminente de morte. As técnicas empregadas na medição da pressão arterial correspondem às formas invasivas (diretas) ou não invasivas (indiretas), cuja correlação vem sendo alvo de estudos e aprimoramento dentro da clínica veterinária de pequenos animais. Assim, o objetivo desta revisão é reconhecer a importância da mensuração da pressão arterial dentro da rotina da clínica veterinária, estudando a influência das variáveis associadas ou não à elevação da pressão arterial, comparando os diferentes métodos empregados para sua obtenção.

Palavras-chave: pressão sistêmica, canina, hipertensão, diastólica, sistólica.

BLOOD PRESSURE IN DOGS: A REVIEW

ABSTRACT

The evaluation of blood pressure is an essential tool for veterinarian clinical practice and for monitoring anesthetized patients or patients in intensive care, because of its usefulness in diagnostics, treatment and monitoring of several diseases. Apart from the pathological factor, the blood pressure also suffers the influence of different variables, such as age, breed, gender, temperament (anxiety and stress especially during the treatment, “white coat syndrome”), disease state, physical activity and, with lower intensity, animal’s diet. One of the main indications of the evaluation of blood pressure is the observation of clinical changes due to hypertension in animals, which lesions characterize one in the nervous and cardiovascular systems, kidneys and eyes. Not least important, the evaluation of blood pressure is also essential in hypotensive states, which represent an imminent risk of death. The techniques used in measuring blood pressure correspond to invasive forms (direct) or non-invasive (indirect), whose correlation has been the subject of study and improvement within the small animal clinic. Thus, the purpose of this review is emphasize the importance of measuring blood pressure within the veterinary clinic routine, studying the influence of variables

¹ Residente do Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP, Botucatu

² Docente do Departamento de Clínica Veterinária, Área: Clínica de Pequenos Animais, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP, Botucatu

associated or not with elevated blood pressure, comparing the different methods used to obtain the blood pressure.

Keywords: systemic pressure, canine, hypertension, diastolic, systolic.

PRESIÓN ARTERIAL EN PERROS: UNA REVISIÓN

RESUMEN

La evaluación de la presión arterial es una herramienta indispensable en la clínica veterinaria y en la supervisión de pacientes anestesiados o en terapia intensiva, debido a su utilidad en el diagnóstico, en el tratamiento y en la vigilancia de diversas enfermedades. Además de los factores patológicos, la presión arterial también sufre la influencia de distintas variables, como edad, raza, sexo, temperamento (ansiedad y estrés, especialmente durante la asistencia – “síndrome de la chaqueta blanca”), estado de la enfermedad, actividad física, y en menor medida, dietas de los animales. Una de las principales indicaciones de la evaluación de la presión arterial es la observación de los cambios clínicos resultantes de la hipertensión arterial en animales, caracterizadas por lesiones en el sistema nervioso y cardiovascular, los riñones y los ojos. Por último, pero no menos importante, la evaluación de la presión también llega a ser esencial en los estados hipotensos, que representan un peligro inminente de muerte. Las técnicas utilizadas en la medición de la presión arterial corresponden a las formas invasivas (directas) o no invasivas (indirectas), cuya relación ha sido objeto de estudios y mejora en la clínica de pequeños animales. Así, el objetivo de esta revisión es destacar la importancia de medir la presión arterial en la clínica veterinaria de rutina, estudiando la influencia de variables asociadas o no con la presión arterial elevada, comparando los diferentes métodos utilizados para su obtención.

Palabras clave: presión sistémica, canina, hipertensión, diastólica, sistólica.

INTRODUÇÃO

O reconhecimento da existência da hipertensão sistêmica em cães nos últimos 15 anos tem demonstrado a importância da medição da pressão arterial de maneira sistemática e padronizada (1).

A correlação entre as técnicas invasivas e não invasivas tem sido descrita em cães anestesiados e conscientes (2,3,4). As técnicas não invasivas utilizando o método oscilométrico tornam a medição da pressão praticável em cães conscientes. Os medidores de pressão oscilométricos de última geração apresentam sensibilidade superior aos sistemas mais antigos, apresentando diversas vantagens em relação a outros métodos não invasivos (5).

Além das condições patológicas (doenças renais, insuficiência cardíaca, feocromocitoma, diabetes mellitus, hipotireoidismo, hiperadrenocorticismo), fatores fisiológicos influenciam os valores da pressão arterial (6,7,8).

A pressão arterial é influenciada pela idade, raça, sexo, temperamento, estado de doença, atividade física e, em menor intensidade, dieta. A idade e raça exercem maior influência na pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM) (8).

A ansiedade provocada pela visita ao veterinário (caracterizada pela “Síndrome do jaleco branco”), presença de estranhos no ambiente, tricotomia, colocação e insuflação do manguito, além de outros estímulos de estresse, podem causar a liberação de catecolaminas, levando a uma falsa elevação da pressão sanguínea (9).

Dentro desta constatação, o objetivo desta revisão é reconhecer a importância da mensuração da pressão arterial dentro da rotina da clínica veterinária, bem como a influência de diferentes fatores significativos que afetam os valores tanto da PAS, quanto PAD e PAM.

O MONITORAMENTO DA PRESSÃO ARTERIAL

A avaliação da pressão sanguínea arterial é uma ferramenta importante e indispensável na prática clínica veterinária, devido sua utilidade no diagnóstico, tratamento e acompanhamento de diversas doenças, bem como a monitorização de pacientes anestesiados ou sob cuidados intensivos (6).

A monitorização de rotina da pressão arterial permite uma avaliação do status circulatório individual de cada paciente, contudo, segundo Brown et al. (1), a avaliação indiscriminada da pressão sanguínea em animais saudáveis pode incorrer no risco de um diagnóstico errôneo de hipertensão, muitas vezes induzido pelo próprio estresse. A medição periódica da pressão realizada nos primeiros anos de vida auxilia na determinação do perfil individual característico de cada animal, e ao estabelecimento do padrão de normalidade ou referência específico (1)

Uma das principais indicações para a avaliação da pressão arterial num paciente é a observação de alterações clínicas consistentes com lesão hipertensiva ocular (retinopatia hipertensiva), renal (azotemia, proteinúria, microalbuminúria, dano glomerular progressivo), cardiovascular (hipertrofia ventricular esquerda, sopro sistólico, epistaxis) e neurológica (convulsões, estupor) (9,10). Os órgãos mais afetados pela hipertensão são os envolvidos na regulação do fluxo sanguíneo (coração) e os que contêm extensas redes arteriolas ou capilares (olhos, cérebro, rins) (11,12).

A hipertensão arterial sistêmica se caracteriza pelo aumento constante da PA levando a seqüelas clínicas. Esta pode ter causas idiopáticas, rara na clínica de pequenos animais, e em 80% dos casos secundária a outras doenças, sendo no cão mais comumente associada a quadros clínicos como: doença renal crônica, hiperadrenocorticismo, diabetes mellitus e cardiopatias; e em gatos associada a doença renal crônica e cardiopatias, bem como hipertireoidismo (7,13,14).

As doenças associadas com o aparecimento da hipertensão são mais freqüentes em animais geriátricos, sendo, portanto pertinente um acompanhamento da pressão em animais com idade igual ou superior a 10 anos (1).

A administração de agentes farmacológicos associados ao risco de desenvolvimento de hipertensão como os glicocorticóides, fenilpropanolamina, aminoglicosídeos, anfotericina, ciclosporinas, corresponde à outra indicação para a aferição (1,15). O acompanhamento clínico da terapia com fármacos com efeitos hemodinâmicos (bloqueadores de canais de cálcio ou beta bloqueadores) mediante a aferição da pressão é igualmente importante para se evitar os estados hipotensivos (6).

A avaliação da pressão torna-se também imprescindível nos estados hipotensivos, que representam um risco iminente de morte. Valores de pressão arterial iguais ou inferiores a 90/60 mmHg em animais em choque prolongado elevam o risco de falência orgânica múltipla. A hipotensão prolongada não detectada pode induzir a lesão hipóxica permanente em órgãos como os rins (1,5).

Nos casos em que a pressão arterial média (PAM) é inferior a 50 mmHg, ocorre uma resposta isquêmica cerebral, sendo a pressão arterial um fator determinante para a avaliação do prognóstico, visto que um animal em choque com a PAM menor que 45 mmHg, apresenta risco iminente de morte com prognóstico ruim (16),

A pressão arterial não deve ser a única forma de avaliar a condição hemodinâmica do paciente tanto para fins diagnósticos quanto terapêuticos, visto que a correlação de medições

diretas e indiretas aparentemente depende do estado da pressão arterial (ou seja, hipotensão, normotensão ou hipertensão) (17).

Dentro da constatação da importância da mensuração da pressão arterial, diferentes fatores significativos afetam os parâmetros tanto da pressão arterial sistólica (PAS), quanto diastólica (PAD) e média (PAM) (14).

A pressão arterial sofre influência da idade, raça, sexo, temperamento, estado de doença, atividade física e, em menor intensidade a dieta. Fatores como a idade e a raça, segundo Bodey et al. (8), exercem maior influência nas PAS, PAD e PAM. A pressão sanguínea tende a aumentar com a idade em cães e gatos, assim como em humanos (8,18); entretanto num estudo epidemiológico da pressão sanguínea em cães conscientes realizado por Bodey et al. (8), utilizando amostragem de 1903 cães e 2000 medições de pressão sanguínea arterial, constatou-se uma queda de pressão em cães de idade avançada (11 cães com mais de 16 anos).

Em relação às raças, a avaliação da influência exercida sobre os valores pressóricos é complicada pela grande variação entre elas. Cada padrão racial deve ter seus valores comparados ao seu quadro pressórico padrão, de acordo com a variação normal apropriada, para confirmação de diagnóstico fidedigno. Exemplificando este quadro observa-se que na raça Sighthound, principalmente Deerhounds, as pressões arteriais médias são elevadas (aproximadamente 10-20 mmHg maior que a média das demais raças) e consideradas normais, sem efeito deletério ao organismo. Em contraposição, as raças gigantes apresentam valores menores de pressão arterial (1,14).

Quanto ao sexo, fêmeas possuem valores inferiores de pressão arterial com cerca de 10 mm Hg a menos quando comparadas aos machos; já animais castrados possuem valores intermediários (1).

A correlação entre obesidade e hipertensão é proposta, tanto em cães como nos humanos, levando ao aumento da pressão sanguínea (18,19). Interações com doenças que levam a obesidade e elevação da pressão (como hipotireoidismo) e também com a idade (cães mais velhos tendem a ter sobrepeso) são também descritas (14,20). Segundo Pellegrino et al. (12), em estudo com cães da raça Golden Retriever, há alterações significativas no peso corpóreo, principalmente dos três aos seis meses de idade, influenciando nos valores de pressão arterial, e estes valores são variáveis dentro de uma mesma raça canina.

Com menor importância e sem efeitos ainda explicados, animais alimentados com dietas caseiras apresentaram pressão sanguínea menor, porém esta diferença é pouco significativa, sendo mais percebida nos valores sistólicos da pressão arterial (14).

A pressão sanguínea também sofre interferência do temperamento do animal, cuja ansiedade e estresse principalmente durante o atendimento (“Síndrome do jaleco branco”), promove uma elevação (21). O contrário ocorre com outra variante da pressão, que é a prática de exercícios físicos regulares cujo padrão pressórico é menor quando comparado a animais com vida sedentária (14).

As técnicas empregadas na medição da pressão arterial correspondem à forma invasiva ou também determinada direta, ou pelas formas não invasivas ou indiretas. A forma invasiva é a técnica mais precisa e considerada por grande parte dos autores como o “padrão ouro” (15), pois proporciona uma avaliação mais fidedigna da pressão arterial. Requer a colocação de um cateter numa artéria periférica e apesar de tecnicamente mais difícil e mais dispendiosa, é a requerida em determinadas situações clínicas, incluindo cirurgia, traumatologia e na medicina de cuidados intensivos (3). Tem como vantagem a monitorização continuada da PA e a facilidade para se colher amostras sanguíneas para realização de hemogasimetria (5).

Nos cães o vaso sanguíneo mais utilizado é a artéria femoral, ou a artéria podal dorsal, artéria auricular externa e, em animais anestesiados, a artéria sublingual (5,15,22). A técnica consiste na colocação de um cateter venoso conectado a um transdutor de pressão por um tubo

rígido e a obtenção dos valores da pressão sistólica, diastólica e média, amplificados e exibidos num monitor fisiológico (5).

Embora a técnica invasiva descrita seja capaz de propiciar medições mais fidedignas e resultados mais acurados, ela não é isenta de erros. Valores inadequados devido ao lúmen do cateter, comprimento do sistema, presença de bolhas de ar ou lavagem incorreta e coagulação do sangue, além de medo e dor, são limitações associadas à técnica (6). O método indireto também apresenta potencial para complicações como hemorragias, tromboembolismo caso o cateter fique desalojado, infecções secundárias devido artefatos, entre outros (3).

Os métodos indiretos para se medir a pressão não são invasivos, utilizam medidores externos sendo mais aplicados na clínica, pois exigem menos esforço de contenção e técnica mais simplificada. Dentre estes métodos destacam-se o ultrassônico por Doppler (Figura 1), o oscilométrico (Figura 2) e o fotopletismográfico. O princípio utilizado baseia-se na utilização de um manguito ou cuff insuflável conectado a um manômetro, posicionado ao redor de um membro do animal, interrompendo a circulação sanguínea. Quando o manguito é desinsuflado gradualmente ocorre a reentrada de sangue na artéria e a pressão exercida para o preenchimento é então registrada (23).

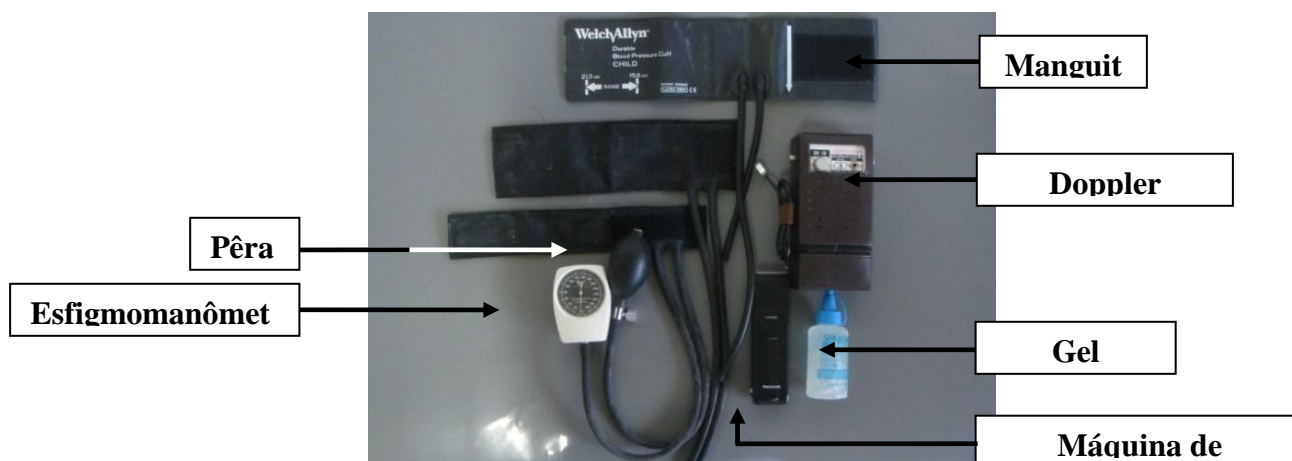


Figura 1. Aparelho Doppler e instrumentos necessários para aferir a pressão arterial sistêmica pelo método ultrassônico. Fonte : Arquivo pessoal.

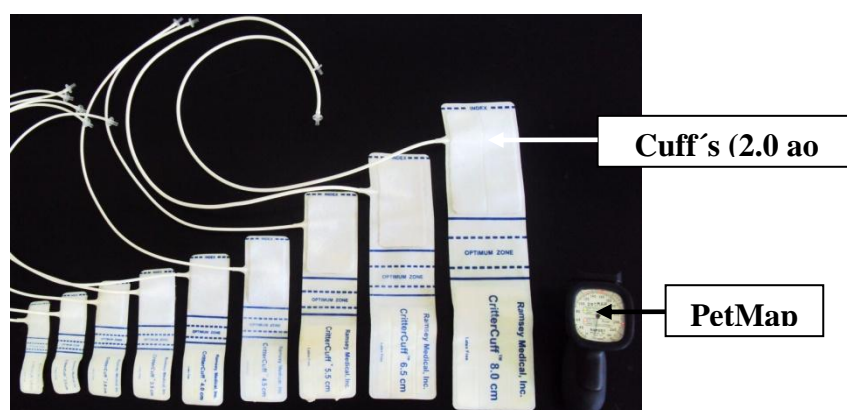


Figura 2. PetMap® e cuffs necessários para medição da pressão arterial sistêmica pelo método oscilométrico. Fonte: Arquivo pessoal.

O método Doppler informa apenas a pressão arterial sistólica (PAS) e têm se mostrado um estimador muito pobre da pressão arterial diastólica, além do caráter não automático do aparelho, e a ausência de resposta imediata às alterações bruscas de pressão (24,25). Já monitor de pressão oscilométrico por sua vez detecta as pressões sistólica, diastólica e média

(PAS, PAD, e PAM, respectivamente), entretanto suas medidas são intermitentes, requer boa condição pressórica, no qual mudanças na qualidade do pulso afetam sua acurácia (24, 25,26) (Figura 3). Conforme estudo de Rodrigues et al. (27) em animais sob rotina anestesiológica, o monitor PetMap® apresentou resultados mais precisos quando posicionado no membro torácico e principalmente em estado de normotensão.

Embora não atendam os critérios da Associação para Avanço da Instrumentação Médica (AAMI) para exatidão e precisão, subestimando os reais valores de PA, os aparelhos oscilométricos possuem uma forte correlação das medidas indiretas, obtidas com uma média de cinco consecutivas estimativas, com a direta (26), e podem ter uma acurácia mais próxima do método invasivo quando são selecionados manguito de tamanhos ideais, correspondendo 40% da circunferência do membro, em cães, e 30% aproximadamente, em gatos, (4), bem como a escolha dos locais de mensuração adequados (2,3). A mensuração da pressão pode ser realizada na base da cauda e no membro pélvico, bem como no membro torácico, porém as duas primeiras são menos precisas quando comparadas (28) (Figura 4).

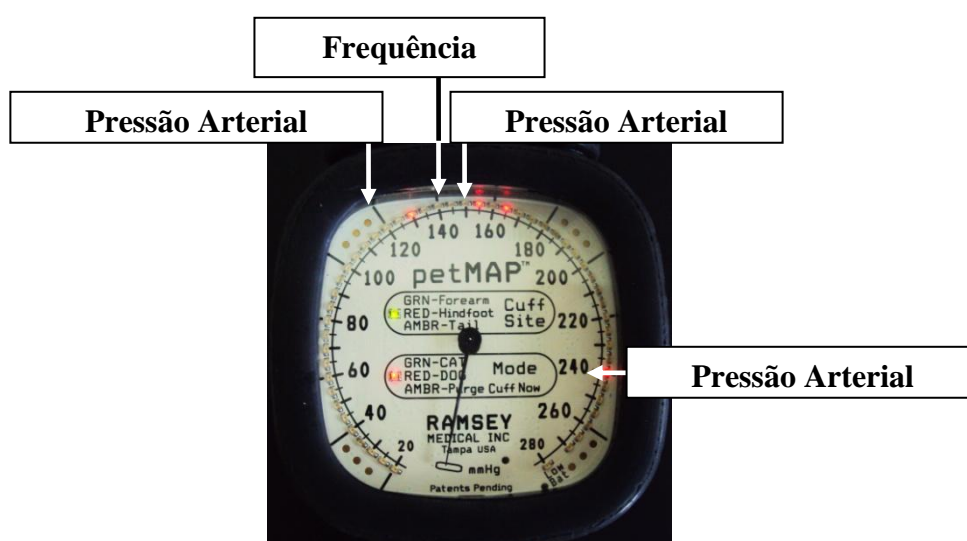


Figura 3. Painel do medidor de pressão oscilométrico PetMap®. Fonte : Arquivo pessoal.



Figura 4. Mensuração da pressão arterial sistêmica em membro torácico de cão com auxílio do medidor de pressão oscilométrico PetMap®. Fonte : Arquivo pessoal.

Tanto o método Doppler quanto o oscilométrico, são os dois únicos métodos recomendados para a medição da pressão arterial indireta em animais, segundo a Veterinary Blood Pressure Society (5).

A comparação de três diferentes métodos de medição de pressão utilizados na área da medicina veterinária (Doppler, oscilométrico e invasiva), considerando-se diferentes critérios

segundo Egner et al. (5), concluiu que o método oscilométrico apresenta: capacidade de reconhecer e interromper a medição caso ocorram artefatos, cálculo da média de todas as ondas de pulso num período de 10 a 15 minutos, não requer sedação para a realização, boa tolerância do paciente, processo de medição simplificado, não requer preparação do local no paciente, utilização rotineira em pacientes conscientes e nos casos de monitorização de doença e/ou terapia, menor tempo para realização da medição. Contudo este método assim como o Doppler não é isento de irregularidades.

Alguns autores consideram a técnica razoavelmente precisa em cães de raças médias e grandes, mas inadequada em cães de raças pequenas (<10 kg) e gatos, subestimando os valores da pressão arterial (21,29). Além disso, suas medidas são inaccuradas em casos de hipotensão grave (24,25,26). De acordo com Shih et al.(30), num estudo com cães anestesiados, utilizando o monitor oscilométrico, não houve precisão confiável, comparado a pressão arterial invasiva durante estado de hipotensão associada a hemorragia aguda.

Já em estudo de Cabral et al. (31), conclui-se que valores confiáveis de pressão arterial sistólica podem ser obtidos tanto por meio do método Doppler vascular quanto do oscilométrico, para animais de pequeno, médio e grande porte, e que os valores de pressão arterial diastólica, obtidos pelos dois métodos, não se correlacionam devido à grande variação de seus valores, de forma especialmente marcante nos animais de pequeno e médio porte.

Os valores da pressão arterial em mmHg de cães normais com o método oscilométrico (Quadro 1) e Doppler (Quadro 2) são descritos por alguns autores.

Quadro 1. Valores da pressão arterial de cães normais pelo método oscilométrico. Fonte: Brown et al.(1).

Método Oscilométrico Autores	Nº de animais	Pressão sistólica	Pressão média	Pressão diastólica
Bodey e Michell (14)	1267	131 ± 20	97 ± 16	74±15
Coulter et al (32)	51	144 ± 27	110 ±21	91±20
Kallet et al (33)	14	137 ± 15	102 ± 12	82±14
Stepien et al (34)	28	150 ± 20	108 ± 15	71±18
Meurs et al (35)	22	136 ± 16	101 ± 11	81±9

Quadro 2. Valores da pressão arterial de cães normais pelo método Doppler. Fonte : Brown et al.(1)

Método Doppler (Autores)	Nº de animais	Pressão sistólica
Chalifoux et al (36)	12	145 ± 23
Stepien et al (34)	28	151 ± 27
Remillard et al (37)	5	150 ± 16

Com base nos problemas associados ao emprego de monitores oscilométricos desenvolvidos para uso em pacientes humanos, que freqüentemente fornecem valores de pressão com margem de erro clinicamente inaceitável (> 20 mm Hg), ou mesmo não possuem a capacidade de fornecer leituras de pressão arterial em animais de pequeno porte, um novo monitor oscilométrico (PetMap®) especificamente desenvolvido para uso clínico veterinário foi lançado em 2005 (38).

Por tratar-se de um método oscilométrico de última geração possui sensibilidade superior aos sistemas mais antigos, apresentando como vantagens em relação ao método Doppler pelo pequeno tamanho, silencioso, permitindo que o animal permaneça menos estressado, melhorando a precisão da medição (Figura 5). Promove uma menor margem de erro devido à inexperiência do operador, uma vez que as leituras da pressão sistólica e diastólica são automatizadas e simultâneas, não exigindo a interpretação dos sons (38).

Um estudo comparativo cujo escopo foi à determinação da acuidade de dois métodos indiretos - oscilométrico e Doppler - em 20 cães saudáveis conscientes, pela medição simultânea com método direto, concluiu uma correlação entre a pressão mensurada na artéria coccígea (cauda) com o método oscilométrico e na artéria metatársica pelo método Doppler. Observou-se também neste estudo, uma maior correlação entre os valores da pressão mensurados pelos métodos diretos com o indireto, após a média de cinco mensurações consecutivas (26).

Segundo Sawyer et al. (39) a comparação entre a mensuração da pressão pelo método oscilométrico indireto e direto em cães anestesiados com isoflurano, demonstrou que a pressão sistólica e média em estados de hipotensão foram essencialmente semelhantes entre os dois métodos, contudo os valores para pressão normal ou elevada foi subestimada.

O estudo da pressão arterial sistólica, média, diastólica e da frequência cardíaca pelo método indireto oscilométrico (PetMap®), realizado em 150 cães investigou a influência dos fatores como presença do proprietário, estado de saúde, diagnóstico de doença renal, raça, idade, sexo, decúbito, contenção, fluidoterapia, condição corpórea, temperamento, atividade física, dieta e atitude associados ou não à elevação da pressão arterial. Dos 150 cães, 34% encontravam-se sob a categoria de risco mínimo para o desenvolvimento de lesões hipertensivas, 14,6% com hipertensão branda, 22,6% com hipertensão moderada e 28,66%, com hipertensão grave. Houve influência, dos fatores analisados, na elevação da pressão arterial de acordo com a categoria de risco (40).

Independentemente do método utilizado deve-se lembrar de que não são isentos de erros e que nem todos os métodos são adequados a todos os pacientes. A medição da pressão deve ser realizada com aparelhos previamente validados para a espécie de acordo com os critérios de validação de aparelhos indiretos de medição de pressão arterial em humanos pela Associação para Avanço da Instrumentação Médica (AAMI) (1) em questão e em animais conscientes.



Figura 5. Mensuração da pressão arterial sistêmica em membro torácico de cão ao colo do proprietário, minimizando o estresse, com auxílio do medidor de pressão oscilométrico PetMap®. Fonte : Arquivo pessoal.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A monitoração da pressão arterial em cães faz parte da avaliação clínica sendo de grande valia para detecção do estado circulatório normal e dos estados hiper ou hipotensivos decorrentes das afecções clínicas em cães. A metodologia empregada deve ser validada para que não se incorra em erros e institua-se o tratamento inadequado ao paciente. O diagnóstico da hipertensão deve ser feito de maneira criteriosa seguindo-se as diretrizes e padrões estabelecidos uma vez que diversos fatores influenciam na determinação da pressão arterial. O

conhecimento de tais fatores por parte do clínico minimiza a ocorrência de erros tão comuns na determinação do estado hemodinâmico do paciente.

REFERÊNCIAS

1. Brown S, Atkins C, Bagley R, Carr A, Cowgill L, Davidson M, et al. Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. *J Vet Intern Med.* 2007; 21:542-58.
2. Mishina M, Watanabe T, Fujii K, Maeda H, Wakao Y, Takahashi M. A clinical evaluation of blood pressure through non-invasive measurement using the oscillometric procedure in conscious dogs. *J Vet Med Sci.* 1997;59:989-93.
3. Gains MJ, Krystyna KM, Jacobs RM, Dyson D, Foster RA. Comparison of direct and indirect blood pressure measurements in anesthetized dogs. *Can J Vet Res.* 1995; 59: 238-40.
4. Binns S, Sisson D, Buoscio DA, Scheffer DJ. Doppler ultrasonographic, oscillometric sphygmomanometric, and photoplethysographic techniques for noninvasive blood pressure measurement in anesthetized cats. *J Vet Intern Med.* 1995; 9:405-14.
5. Egner B, Carr A, Brown S. Essential facts of blood pressure in dogs and cats. 3a ed. Babenhausen: Be Vet Verlag; 2003.
6. Carvalho BVLA. Hipertensão arterial felina [Dissertação]. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa; 2009.
7. Jaffé E. Hipertensão arterial em cães e gatos [monografia]. Rio de Janeiro: Universidade Castelo Branco; 2006 [cited 2011 Jun 4]. Available from: <http://www.qualittas.com.br/documentos/Hipertensao%20Arterial%20em%20Caes%20e%20Gatos%20-%20Ellen%20Jaffe.PDF>.
8. Bodey AR, Michell AR, Bovee KC, Buranakurl C, Garg T. Comparison of direct and indirect (oscillometric) measurements of arterial blood pressure in conscious dogs. *Res Vet Sci.* 1996;61:17-21.
9. Brown SA, Henik RA. Diagnosis and treatment of systemic hypertension. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1998;28(6):1481-1494.
10. Reezigt BJ, Djursjukhus BS. Integration of blood pressure measurement in a small animal referral practice. In: Proceedings of the 17th ECVIM-CA Congress; 2007; Budapest. Budapest; 2007. p.67-9.
11. Galvão ALB, Borges JC, Vieira MC, Ferreira GS, Léga E, Pinto ML. Hipertensão arterial na doença renal crônica em pequenos animais – revisão de literatura. *Nucl Anim.* 2010; 2:9-20.
12. Pellegrino A, Petrus LC, Yamaki FL, Santos ALF, Larsson MHMA. Valores de pressão arterial de cães da raça Golden Retriever clinicamente saudáveis. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 2010;47:307-14.
13. Yamato RJ. Utilização do controle arterial na prática clínica: palestra de Ronaldo Jun Yamato. In: Anais do 10º CONPAVEPA; out 2010, São Paulo. São Paulo; 2010.

14. Bodey AR, Michell AR. Epidemiological study of blood pressure in domestic dogs. *J Small Anim Pract.* 1998;37:116-25.
15. Fox P, Sisson DD, Moise NS. Systemic hypertension: recognition and treatment. In: *Textbook of canine and feline cardiology – principles and clinical practice.* Philadelphia: Saunders; 1999. p.795-813.
16. Rosa KT. Efeitos cardiovasculares no paciente chocado: palestra do Dr. Kaleiuzu Teodoro Rosa. In: *3º Curso Internacional de Emergências em Animais de Companhia; set 2010, Botucatu. Botucatu: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; 2010.*
17. Bosiack AP, Mann FA, Dodam JR, Wagner-Mann CC, Branson KR. Comparison of ultrasonic Doppler flow monitor, oscillometric, and direct arterial blood pressure measurements in ill dogs. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2010;20:207-15.
18. Dukes J. Hypertension: a review of the mechanisms, manifestations and management. *J Small Anim Pract.* 1992;33:119-29.
19. Cunningham JG. Controle neural e hormonal da pressão sanguínea e do volume sanguíneo. In: *Tratado de fisiologia veterinária. 3a ed.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p.208-17.
20. Syme HM, Barber PJ, Markwell PJ, Elliott J. Prevalence of systolic hypertension in cats with chronic renal failure at initial evaluation. *J Am Vet Med Assoc.* 2002;220:1799-1804.
21. Acierno MJ, Labato MA. Hypertension in dogs and cats. *Compend Contin Educ Prac Vet.* 2004;26:336-45.
22. Crowe DT. Blood pressure monitoring in emergency and critical care methods and goal directed therapy applications. In: *Proceedings of the 17th ECVIM-CA Congress; 2007; Budapest. Budapest; 2007. p.13-15,70-71.*
23. Brown AS, Henik RA. Hipertensão Sistêmica. In: *Tilley LP, Goodwin JK. Manual de Cardiologia para Cães e Gatos. 3rd ed.* São Paulo: Editora Rocca; 2002. p.313-9.
24. Durham HE. Arterial Blood Pressure Measurement. *Vet Tech.* 2005; 26:324-39.
25. Rabelo RC, Melo MMA. A importância da avaliação pressórica em pequenos animais. In: *Seminário de Clínica do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Escola de Veterinária da UFMG; 2002; Belo Horizonte. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2002.*
26. Haberman CE, Kang CW, Morgan JD, Brown SA. Evaluation of oscillometric and Doppler ultrasonic methods of indirect blood pressure estimation in conscious dogs. *Can J Vet Res.* 2006;70:211-7. PMID:PMC1477936
27. Rodrigues JC, Teixeira Neto FJ, Campagnol D. Avaliação da acurácia de um novo monitor oscilométrico desenvolvido para mensuração da pressão arterial em pacientes veterinários. In: *Anais VIII CONPAVET - Congresso Paulista de Medicina Veterinária; 2010 Out 6-8; São Paulo. São Paulo: VIII CONPAVET; 2010.*

28. Ortega TM, Feldman EC, Nelson RW, Willits N, Cowgill LD. Systemic arterial blood pressure and urine protein/creatinine ratio in dogs with hyperadrenocorticism. *J Am Vet Med Assoc.* 1996;209:1724-9.
29. Henik RA, Dolson MK, Wenholtz LJ. How to obtain a blood pressure measurement. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2005;20:144-50.
30. Shih A, Robertson S, Vigani A, da Cunha A, Pablo L, Bandt C. Evaluation of an indirect oscillometric blood pressure monitor in normotensive and hypotensive anesthetized dogs. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2010;20:313-8.
31. Cabral RR, Ciasca BD, Oliveira VMC, Vaz-Curado AP, Larsson MHMA. Valores da pressão arterial em cães pelos métodos oscilométrico e Doppler vascular. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2010; 62(1): 64-71.
32. Coulter DB, Keith JC. Blood pressures obtained by indirect measurement in conscious dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1984;184:1375-8.
33. Kallet AJ, Cowgill LD, Kass PH. Comparison of blood pressure measurements obtained in dogs by use of indirect oscillometry in a veterinary clinic versus at home. *J Am Vet Med Assoc.* 1997;210:651-4.
34. Stepien RL, Rapoport GS. Clinical comparison of three methods to measure blood pressure in nonsedated dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1999;215:1623-8.
35. Meurs KM, Miller MW, Slater MR, Glaze K. Arterial blood pressure measurement in a population of healthy geriatric dogs. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2000;36:497-500.
36. Chalifoux A, Dallaire D, Blais N, Lariviere, Pelletier N. Evaluation of the arterial blood pressure of dogs by two noninvasive methods. *Can J Comp Med.* 1985;49:419-23.
37. Ramillard RL, Ross JN, Eddy JB. Variance of indirect blood pressure measurements and prevalence of hypertension in clinically normal dog. *Am J Vet Res.* 1991;52:561-5.
38. Ransey Medical [Internet]. Electronic blood pressure measurement in the palm of your hand. 2008 [cited 2011 Jun 4]. Available from: <http://www.cardiocommand.com/petmapweb/awr400001-hpetmapmanual.pdf>.
39. Sawyer DC, Guikema AH, Siegel EM. Evaluation of a new oscillometric blood pressure monitor in isoflurane-anesthetized dogs. *Vet Anaesth Analg.* 2004;31:27-39.
40. Tebaldi M, Lourenço MLG, Machado LHA, Sudano MJ, Carvalho LR. Estudo da pressão arterial pelo método indireto oscilométrico (petmap®) em cães domésticos não anestesiados. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2012;64:1456-64.

Recebido em: 18/07/2014

Aceito em: 22/04/2015

PNEUMONIA POR *RHODOCOCCLUS EQUI* EM POTRA QUARTO DE MILHA: DIAGNÓSTICO RADIOGRÁFICO E ULTRASSONOGRÁFICO

*Alexandra Frey Belotta¹
Letícia Rocha Inamassu¹
Bianca Paola Santarosa²
Simone Biagio Chiacchio²
Priscila Emiko Kobayashi²
Noeme Souza Rocha²
Rafaela Mastrangelo Riseti³
Márcio Garcia Ribeiro³
Vania Maria de Vasconcelos Machado¹
Luiz Carlos Vulcano¹

RESUMO

Rhodococcus equi constitui a causa mais comum de pneumonia infecciosa severa em potros com 1 a 4 meses de idade. O diagnóstico por imagem associado a outros exames complementares exerce um importante papel no diagnóstico da rodococose. A radiografia é considerada a principal técnica de imagem para avaliação do tórax, embora a ultrassonografia também seja um método viável. Apesar de suas limitações, ambos se complementam. O presente relato de caso descreve as imagens radiográficas e ultrassonográficas de uma potra Quarto de Milha acometida pela enfermidade, bem como a importância de cada método para o diagnóstico.

Palavras-chave: potros, pneumonia, *Rhodococcus equi*, radiografia, ultrassonografia.

RHODOCOCCLUS EQUI PNEUMONIA IN A QUARTER FOAL: RADIOGRAPHIC AND SONOGRAPHIC DIAGNOSIS

ABSTRACT

Rhodococcus equi is the most common cause of severe infectious pneumonia in foals between 1 and 4 months of age. Imaging, in combination with other complementary exams, plays an important role in diagnosis of rhodococcosis. Radiography is considered the main imaging technique for evaluation of the thorax, although ultrasonography is also a viable method. Despite their limitations, they complement each other. The present case report describes radiographic and ultrasonographic images in a three month old Quarter foal affected by the disease, as well as defines the importance of the methods in the diagnosis.

Keywords: foal, pneumonia, *Rhodococcus equi*, radiography, sonography.

¹ Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária - FMVZ, UNESP, Botucatu-SP.

² Departamento de Clínica Veterinária - FMVZ, UNESP, Botucatu-SP.

³ Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública - FMVZ, UNESP, Botucatu-SP.

*Contato principal de correspondência: a_fbelotta@yahoo.com.br

NEUMONIA POR *RHODOCOCCUS EQUI* EN POTRA CUARTO DE MILLA: DIAGNÓSTICO MEDIANTE RADIOGRAFÍA Y ECOGRAFÍA

RESUMEN

Rhodococcus equi es la causa más común de neumonía infecciosa grave en potros de 1 a 4 meses. El diagnóstico por imagen, asociado con otros exámenes, desempeña un papel importante en el diagnóstico de la enfermedad. La radiografía se considera la técnica de imagen principal para la evaluación del tórax, aunque la ecografía es también un método viable. A pesar de sus limitaciones, ambos se complementan. Este caso describe las características radiográficas y ecográficas en una potra Cuarto de Milla afectada por la enfermedad y la importancia de cada método para el diagnóstico.

Palabras clave: potros, neumonía, *Rhodococcus equi*, radiografía, ecografía.

INTRODUÇÃO

Rhodococcus equi é considerado, no Brasil, um dos mais importantes patógenos bacterianos de potros de um a quatro meses (1), causando frequentemente broncopneumonia crônica supurativa, com extensa abscedação (2), além de linfadenite supurativa (3).

Os métodos de imagem constituem uma importante ferramenta para o diagnóstico de alterações causadas por *Rhodococcus equi* (*R. equi*). Embora a radiografia seja considerada a principal técnica de imagem para a avaliação torácica, estudos realizados por Ramirez *et al.* (4) sugerem que a ultrassonografia seja uma modalidade acessível e bastante viável na identificação de potros com lesões pulmonares por *R. equi*. Os resultados do exame ultrassonográfico podem ser prontamente avaliados e mais sensíveis em relação aos do exame radiográfico no que diz respeito à detecção de lesões nos estágios iniciais de desenvolvimento da enfermidade (5). O ultrassom apresenta também grande importância no monitoramento e acompanhamento da evolução clínica dos potros, uma vez que parecem clinicamente melhores muito antes que os abscessos tenham se resolvido. Nesses casos, evita-se que o tratamento seja descontinuado precocemente e que ocorram recidivas (6). McCracken e Slovis (7) verificaram que exames ultrassonográficos torácicos frequentes, associados ao tratamento de potros com rodococose subclínica, levaram à redução do número de animais acometidos.

RELATO DE CASO

Potra da raça Quarto de Milha, 40 dias de idade, foi encaminhada ao Hospital Veterinário da FMVZ, UNESP, Botucatu, SP, apresentando secreção nasal e dispneia há 30 dias, além de diarreia desde a admissão na triagem. Ao exame físico, o animal apresentava hipertermia, tosse produtiva, respiração abdominal, dispnéia mista, taquipnéia, estridor traqueal, aumento dos ruídos traqueobrônquico e broncobronquiolar e crepitação grossa pulmonar. Os exames laboratoriais revelaram leucocitose por neutrofilia, anemia e azotemia. Foi solicitada radiografia torácica (figura 1A) que constatou significativa opacificação de campos pulmonares com padrão alveolar, mais evidente em região peri-hilar. Ademais, foram observadas múltiplas áreas circunscritas radiopacas cavitárias, com certa linha de fluido, compatíveis com abscessos. Para melhor caracterização das lesões, exame ultrassonográfico torácico foi realizado (figura 1B a F), o qual permitiu a localização e análise da extensão das áreas sugestivas de abscessos, delimitação de áreas de consolidação e hepatização pulmonar, além da detecção de irregularidade e espessamento da superfície pleural e artefatos em “cauda de cometa”. Este último efeito, de acordo com Reef (8), ocorre quando existem pequenas áreas de acúmulo de fluido nos alvéolos periféricos.

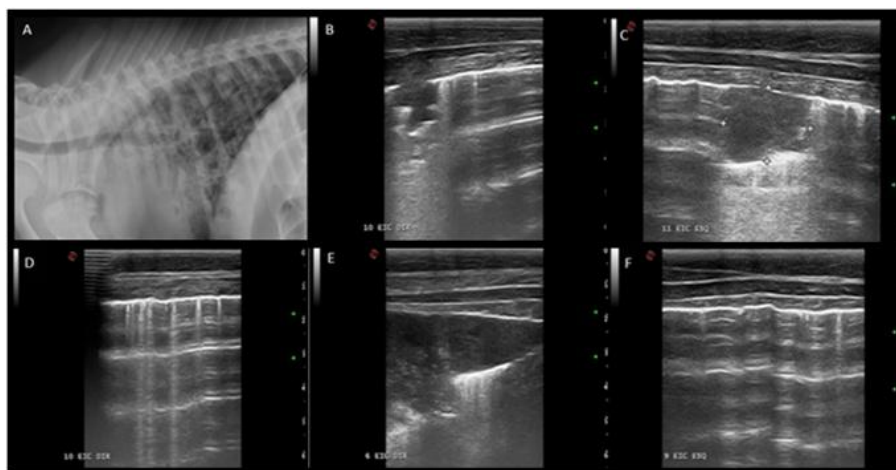


Figura 1. A) Ao exame radiográfico, opacificação de campos pulmonares caudais com padrão alveolar e múltiplas áreas circunscritas cavitárias entremeadas ao parênquima. (B)-(F): Ultrassonografia torácica utilizando-se transdutor linear de 7 a 10 MHz: B) Estrutura hipocogênica de contornos irregulares, mal definidos, formando artefato de reverberação, compatível com área de consolidação. C) Área circunscrita hipocogênica, de contornos bem delimitados, formando reforço posterior, compatível com abscesso pulmonar. D) Múltiplos artefatos em cauda de cometa. E) Extensa área de hepatização pulmonar em porção cranioventral dos pulmões. F) Espessamento e irregularidade da superfície pleural. Setor de Diagnóstico por Imagem, Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da FMVZ, UNESP, Botucatu-SP.

A associação das imagens, exames laboratoriais subsidiários, histórico e avaliação clínica possibilitaram o diagnóstico presuntivo de pneumonia por *R. equi*. Após uma semana, o animal foi a óbito e encaminhado para a necropsia, sendo confirmada broncopneumonia piogranulomatosa (figura 2). Fragmento do pulmão foi semeado no meio de ágar acrescido de sangue ovino (5%) desfibrinado e ágar MacConkey, em aerobiose, a 37°C. Após 48 horas de incubação foi observada, no meio de ágar base acrescido de 5-8% de sangue ovino desfibrinado, a presença de colônias lisas, mucóides, brilhosas, irregulares, coalescentes, não hemolíticas e de coloração salmão. As colônias foram submetidas à coloração de Gram que revelou cocobacilos Gram-positivos, pleomórficos. Com base nas características morfo-tintoriais, de cultivo, bioquímicas e Camp teste positivo com *Staphylococcus aureus*, o micro-organismo foi identificado como *Rhodococcus equi* (9).



Figura 2. A) e B) Pulmão apresentando piogranulomas e áreas de broncopneumonia. C) Ao corte, aspecto dos nódulos piogranulomatosos com centros necróticos, multifocais a coalescentes, associados a áreas difusas de hepatização vermelha e cinzenta. Setor de Patologia Veterinária, Departamento de Clínica Veterinária da FMVZ, UNESP, Botucatu-SP.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Embora a rodococose seja frequentemente diagnosticada em potros e as técnicas de imagem sejam recomendadas como procedimentos auxiliares no diagnóstico, na prática, poucos estudos têm utilizado a radiografia e a ultrassonografia na abordagem diagnóstica da rodococose em animais. O uso de métodos de imagem pode auxiliar no diagnóstico precoce da doença, fundamental para a instituição do tratamento, visando aumentar as taxas de cura. Ainda, a avaliação da extensão das lesões observadas na radiografia e/ou ultrassonografia permite subsidiar o estabelecimento do prognóstico dos casos (7,8,10). No presente estudo, os abscessos pulmonares e áreas sugestivas de consolidação foram diagnosticados tanto por radiografia como pela ultrassonografia, reafirmando o valor dos métodos de diagnóstico por imagem no plano diagnóstico da rodococose em potros. Leclare *et al.* (10) verificaram que potros com pneumonia por *R. equi* possuíam maior tendência a apresentar radiografias com padrão alveolar e áreas de consolidação e padrão nodular quando comparados aos potros acometidos por outras bactérias. Ramirez *et al.* (4) também observaram múltiplos abscessos de diferentes dimensões, localizados periféricamente, utilizando a ultrassonografia em 16 equinos, dentre 17 que apresentavam áreas circunscritas cavitárias radiograficamente. No presente relato, as lesões localizaram-se predominantemente em terço médio, do 7^o ao 11^o espaço intercostal em hemitórax esquerdo. Em contraste, nos potros do estudo realizado por Ramirez *et al.* (4), as lesões predominaram na região caudodorsal dos campos pulmonares.

Outras imagens observadas no presente relato, compatíveis com o diagnóstico por imagem da rodococose descrita na literatura, foram de hepatização pulmonar em região cranioventral dos lobos pulmonares e linfonomegalia peri-hilar. A irregularidade e o espessamento da superfície pleural, assim como os artefatos em cauda de cometa, não têm sido comumente descritos na literatura em potros com rodococose, devido ao fato de se constituírem em imagens comumente encontradas em outras enfermidades, como a

pleuropneumonia bacteriana, não sendo consideradas características específicas da rodococose.

CONCLUSÃO

O presente relato reforça a importância do uso combinado da radiografia e ultrassonografia no diagnóstico de potros acometidos por *R. equi*, auxiliando no diagnóstico precoce e no estabelecimento do prognóstico dos casos. A radiografia permite uma visão geral do tórax e a detecção de lesões mais profundas no parênquima, enquanto a ultrassonografia é mais eficiente em diagnosticar lesões pulmonares devido às alterações parenquimatosas superficiais, que resultem em janela acústica. Entretanto, a ultrassonografia é mais sensível para avaliação da severidade da pneumonia, detecção de lesões menores que possam passar despercebidas às radiografias, graduação dos abscessos e monitoração do tratamento, além de a maioria das afecções pulmonares envolverem a superfície dos lobos pulmonares, permitindo alta relação com as radiografias torácicas.

REFERÊNCIAS

1. Ribeiro MG, Paes AC, Listoni FJP. Minimal inhibitory concentration of azithromycin in *Rhodococcusequi* strains isolated from foals. Arq Bras Med Vet Zootec. 2006;58(6):1244-46.
2. Giguère S. *Rhodococcusequi* pneumonia. In: Proceedings of the 47th AAEP Annual Convention; 2001; San Diego, California. San Diego, California; 2001. p.456-67.
3. Martins CB, Bonesso MA, Lima MM, Ferraz LC, Lacerda Neto JC, Machado RG. Ensaio imunoenzimático indireto (ELISA) para detecção de anticorpos anti-*Rhodococcusequi* em potros. Cienc Rural. 2005;35(3):618-24.
4. Ramirez S, Lester GD, Roberts GR. Diagnostic contribution of thoracic ultrasonography in 17 foals with *Rhodococcusequi* pneumonia. Vet Radiol Ultrasound. 2004;45(2):172-6.
5. Cohen ND. Control and prevention of *Rhodococcusequi* foal pneumonia. In: Proceedings of the 56th AAEP Annual Convention; 2010; Baltimore, Maryland. Baltimore, Maryland; 2010. p.129-31.
6. Slovis NM, McCracken JL, George M. How to use thoracic ultrasound to screen foals for *Rhodococcusequi* at affected farms. In: Proceedings of the 51th AAEP Annual Convention; 2005; Seattle, Washington. Seattle, Washington; 2005. p.274-8.
7. McCracken JL, Slovis NM. Use of thoracic ultrasound for the prevention of *Rhododoccusequi* pneumonia on endemic farms. In: Proceedings of the 55th AAEP Annual Convention; 2009; Las Vegas, Nevada. Las Vegas, Nevada; 2009. p.38-44.
8. Reef VB. Thoracic Ultrasonography: Noncardiac Imaging. In: Equine Diagnostic Ultrasound. 1a ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 1998. p.187-214.
9. Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, Fitzpatrick ES, Fanning S, Hartigan PJ. Pathogenic bacteria. In: Veterinary Microbiology and Microbial Disease. 2a ed. Oxford: Willey-Blackwell; 2011. p.213-6.

10. Leclere M, Magdesian KG, Kass PH, Pusterla N, Rhodes DM. Comparison of the clinical, microbiological, radiological and haematological features of foals with pneumonia caused by *Rhodococcus equi* and other bacteria. Vet J. 2011;187(1):109-12.

Recebido em: 10/06/2013

Aceito em: 06/02/2015

GASTROPATIA PILÓRICA HIPERTRÓFICA CRÔNICA SECUNDÁRIA À GASTRITE LINFOPLASMOCITÁRIA EM CÃO – RELATO DE CASO

Paulo Vinícius Tertuliano Marinho¹
Bruna Piva Maria²
Josiane Morais Pazzini³
Fabio Alves Teixeira⁴
Cristiane de Castro Vilela dos Reis⁴
Carolina Camargo Zani¹
Andrigo Barboza De Nardi⁵
Mirela Costa Tinucci⁵
Aulus Cavalieri Carciofi⁵

RESUMO

A gastropatia hipertrófica pilórica crônica é o termo que se refere à hipertrofia pilórica sem especificar se a camada mucosa e/ou muscular estão envolvidas. O presente trabalho relata um caso de gastropatia hipertrófica crônica secundária à gastrite linfoplasmocitária em um cão. O diagnóstico foi confirmado através de celiotomia exploratória e análise histopatológica e o tratamento instituído através de piloroplastia, bem como terapia imunossupressora foram fundamentais para a melhora clínica significativa do paciente.

Palavras-chave: estenose pilórica, imunossupressão, piloroplastia, suporte nutricional.

CHRONIC HYPERTROPHIC PYLORIC GASTROPATHY SECONDARY TO LYMPHOPLASMACYTIC GASTRITIS IN A DOG - CASE REPORT

ABSTRACT

The gastropathy chronic hypertrophic pyloric is a term that refers to hypertrophic pyloric without specifying the mucous layer and / or muscle are involved. This paper reports a case of hypertrophic gastropathy secondary to chronic lymphoplasmacytic gastritis in a dog. The diagnosis was confirmed by exploratory laparotomy and histopathological analysis and the treatment by pyloroplasty, as well as immunosuppressive therapy have been fundamental to the clinical improvement of the patient.

Keywords: pyloric stenosis, immunosuppression, pyloroplasty, nutritional support.

¹ Mestrando do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal – Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina – PR. Contato principal para correspondência.

² Médica Veterinária Autônoma

³ Mestranda do Programa de Pós Graduação em Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP – Jaboticabal, SP

⁴ Residente de Nutrição Clínica de Pequenos Animais da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP – Jaboticabal, SP

⁵ Professor(a) Doutor(a) do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP – Jaboticabal, SP

GASTROPATÍA PILÓRICA HIPERTRÓFICA CRÓNICA SECUNDARIA A GASTRITIS LINFOPLASMOCITÁRIA EN UN PERRO - REPORTE DE CASO

RESUMEN

La gastropatía hipertrófica del píloro crónica es un término que se refiere a hipertrofia pilórica sin especificar la capa mucosa y / o músculos que esten involucrados. Se presenta el caso de gastropatía hipertrófica secundaria a gastritis crónica linfoplasmacítica en un perro. El diagnóstico fue confirmado por el análisis exploratorio de laparotomía y histopatológico y el tratamiento por piloroplastia, así como la terapia inmunosupresora han sido fundamental para la mejoría clínica del paciente.

Palabras clave: estenosis pilórica, inmunosupresión, piloroplastia, apoyo nutricional.

A gastropatia hipertrófica pilórica crônica (GHPC) é o termo que se refere à hipertrofia pilórica sem especificar se a camada mucosa e/ou muscular estão envolvidas. A estenose pilórica refere-se à hipertrofia muscular benigna do piloro e a hipertrofia crônica da mucosa antral refere-se à hipertrofia benigna da mucosa pilórica causando obstrução da saída gástrica (1). A hipertrofia provoca a estenose da região pilórica, diminuindo o tamanho de seu lúmen (2).

Embora algumas pesquisas experimentais tenham sugerido que a gastrina promove o desenvolvimento de estenose pilórica, a etiologia da hipertrofia muscular ainda é incerta (3). Alguns estudos indicam que a gastrite crônica pode levar à hipertrofia generalizada ou focal da mucosa podendo, de acordo com a localização, gerar obstrução pilórica, sendo caracterizada como hipertrofia pilórica crônica. Mecanismos autoimunes podem estar envolvidos no desenvolvimento desta afecção (4).

O presente estudo objetiva relatar um caso de gastropatia hipertrófica crônica secundária à gastrite linfoplasmocitária em um cão, bem como o sucesso e a importância da associação entre a terapia cirúrgica e médica como parte fundamental do resultado final.

Um cão da raça Teckel, 12 anos de idade, com 12 kg, escore de condição corporal 6/9, foi atendido com queixa de hiporexia, apatia e êmese após alimentação com conteúdo alimentar não digerido e líquido esverdeado há seis dias. Ao exame físico observou-se dor à palpação abdominal em região mesogástrica e desidratação leve. Não foram observadas alterações hematológicas nem bioquímicas. Ao exame radiográfico e ultrassonográfico, observou-se espessamento da parede do estômago e terapia inicial para gastrite foi instituída: omeprazol (0,8 mg/kg SID VO até novas recomendações), sucralfato (30 mg/kg TID VO/5 dias), ondansetrona (0,5 mg/kg BID VO, até novas recomendações) e ração super premium com 30% proteína bruta (PB), 18% extrato etéreo (EE), 4,3 kcal de energia metabolizável (EM)/grama (necessidade energética de manutenção: $\text{kg}^{0,75} \times 110$). Nos retornos seguintes não se observou melhora clínica, com diminuição do apetite. Foi instituída fluidoterapia para correção da volemia e prescrita dieta caseira líquida com 41,7% PB, 24,4% EE e 2,3 kcal EM/grama.

Foram realizadas radiografias contrastadas com sulfato de bário, e observou-se aumento no tempo de esvaziamento gástrico. Ao exame ultrassonográfico observou-se espessamento da parede gástrica. A ausência de resposta ao tratamento e os achados de imagem impulsionaram a realização de biópsia gástrica. Após 13 dias do primeiro atendimento, o paciente foi submetido ao procedimento cirúrgico para realização da biópsia gástrica, contudo, no transoperatório, observou-se hipertrofia focal apenas na região do piloro. Diante do achado, procedeu-se com a correção da hipertrofia pilórica pela técnica de Piloroplastia em Y-U (Figura 1) e biópsia da mesma região.

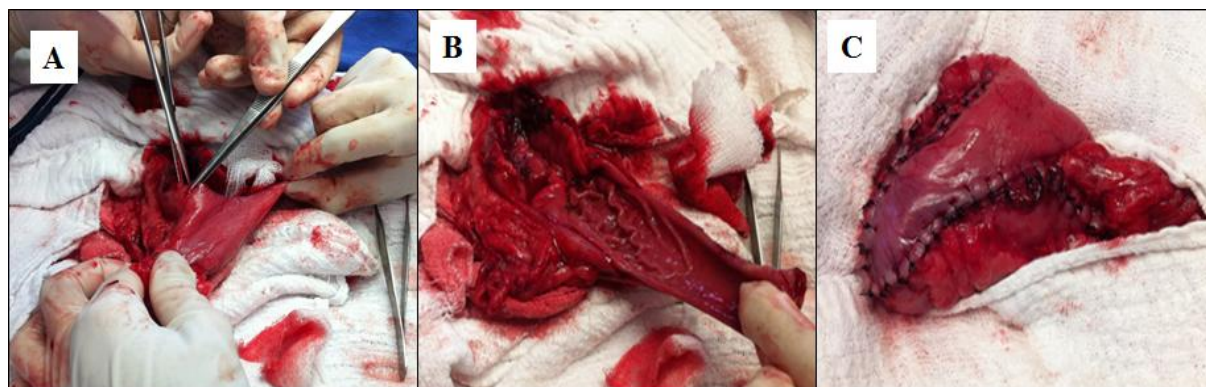


Figura 1. Imagem fotográfica do transoperatório de um cão com estenose pilórica secundária à gastrite linfoplasmocitária. **A.** Piloroplastia em Y-U. Início da incisão em formato de Y no piloro e antro pilórico com tesoura de Metzenbaum. **B.** Piloroplastia em Y-U. Retalho antral incisado e pronto para ser suturado. **C.** Piloroplastia Y-U. Retalho antral suturado no duodeno e antro pilórico em formato de U.

No pós-operatório, foi prescrito cefazolina (30 mg/kg BID EV / 10 dias), metronidazol (25 mg/kg BID EV / 7 dias), ranitidina (2,2 mg/kg BID SC / 10 dias), cloridrato de tramadol (3 mg/kg TID EV / 5 dias) e dipirona (25 mg/kg TID EV / 7 dias). O paciente foi submetido a jejum alimentar e hídrico e à alimentação parenteral (necessidade energética em repouso: $\text{kg}^{0,75} \times 70$) por três dias desde o pós-operatório imediato. Posteriormente, enquanto animal apresentou apetite, foi prescrita a dieta caseira líquida. Animal por cinco dias apresentou anorexia e foi instituído suporte nutricional enteral via sonda nasoesofágica.

O fragmento de estômago coletado foi encaminhado para avaliação histopatológica no qual foram observados fragmentos de mucosa de corpo e fundo com raros focos de lesão intraepitelial, com intensa congestão e hemorragia de vasos em lâmina própria. Presença de moderado infiltrado linfoplasmocitário em lâmina própria. Camada muscular apresentando numerosos neutrófilos, com intensa fibrose e foco de supuração e necrose. A pesquisa de bactérias do gênero *Helicobacter* foi positiva. O diagnóstico histopatológico foi gastrite linfoplasmocitária moderada, com fibrose e focos de supuração em camada muscular (Figura 2). Diante deste resultado, foi instituída terapia com prednisona (2 mg/kg, BID com redução gradativa da dose até um total de 21 dias).

O paciente apresentou melhora gradativa significativa e, no último retorno (135 dias após a cirurgia), o proprietário relatou animal em bom estado geral com evolução favorável do caso.

Segundo Aspelund e Langer (5), o melhor tratamento para a estenose pilórica, mesmo que secundária a gastrite é o cirúrgico, o qual diminui a obstrução pilórica, que é a causa do aumento no tempo de esvaziamento gástrico. A Piloroplastia Y-U para correção de hipertrofia de piloro é descrita como a técnica cirúrgica de maior acessibilidade para ressecção da mucosa pilórica em animais acometidos pela hipertrofia do piloro, sendo capaz de preservar a mobilidade gástrica, promovendo menor ruptura tecidual, além de aumentar o diâmetro luminal do trato de escoamento (6). Segundo Hedlund e Fossum (1), a piloroplastia em Y-U, como qualquer outra técnica, apresenta algumas complicações possíveis, nomeadamente, necrose da extremidade pontiaguda do flap de tecido gástrico. No período transoperatório observou-se alteração da coloração da extremidade do flap, que não culminou com qualquer consequência pós-operatória. Omentopexia foi realizada com o intuito de favorecer a cicatrização, bem como fornecer suporte trófico para a extremidade do flap. É sabido que a utilização da omentopexia é tida como sucesso em diversos procedimentos cirúrgicos. As propriedades terapêuticas do omento se devem a sua capacidade de induzir reparação a partir da revascularização tecidual e atuar como barreira física, protegendo as estruturas (7).

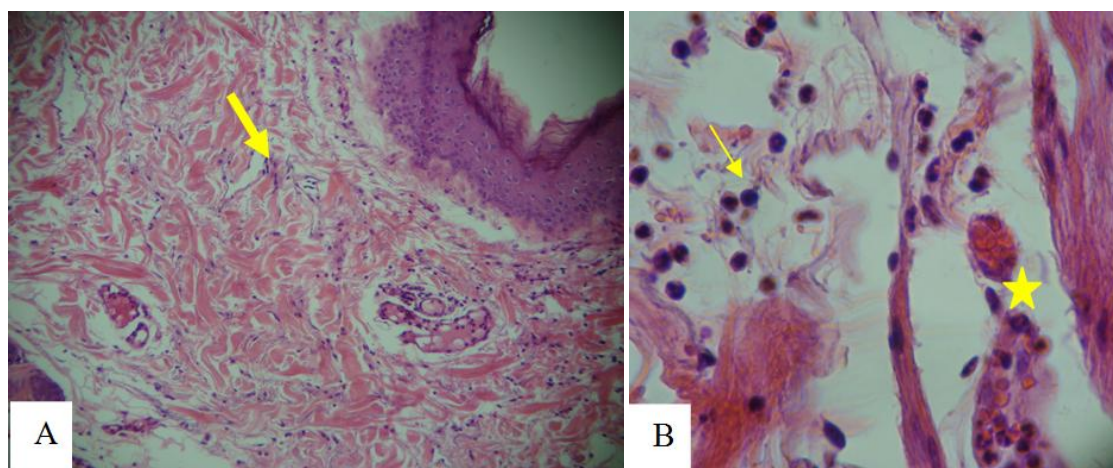


Figura 2. Gastrite linfoplasmocitária moderada, com fibrose e focos de supuração em camada muscular. **A.** Fragmento de mucosa de corpo e fundo com focos de lesão intraepitelial, com presença de infiltrado moderado linfoplasmocitário em lâmina própria, cama muscular com inúmeros neutrófilos (seta). Aumento de 40X. **B.** Focos com lesão intraepitelial com a presença de eosinófilos (seta) e intensa congestão e hemorragia de vasos em lâmina própria (símbolo). Aumento de 100X.

O suporte nutricional foi instituído desde o início do caso, pois se sabe que animais em balanço energético negativo apresentam maiores taxas de óbito, além de diversos fatores que pioram o prognóstico como imunossupressão, dificuldade de cicatrização de feridas e metabolismo prejudicado de fármacos (8). No pós-cirúrgico imediato o animal recebeu nutrição parenteral seguindo o recomendado por Brunetto et al. (9). Diversos trabalhos enfatizam a importância do uso precoce do suporte nutricional enteral de modo a prevenir depressão do sistema imune, decréscimo nos níveis de albumina sérica, catabolismo muscular, translocação bacteriana, sepse, falência múltipla de órgãos e óbito (8). Para tanto, antes da cirurgia e assim que foi descartada a possibilidade de êmese e deiscência da sutura gástrica, iniciou-se a alimentação via sonda nasoesofágica e dieta caseira de alta energia. Com animal apresentando normorexia, foi prescrito alimento comercial de alta digestibilidade e energia uma vez que, com a finalização da terapia imunossupressora, não houve nenhum sinal de recorrência do quadro.

O sistema imune intestinal é constantemente exposto a inúmeros antígenos componentes da microbiota endógena, organismos patogênicos e derivados da alimentação. Sendo assim, o mesmo realiza importante modulação de acordo com a natureza do estímulo antigênico bloqueando patógenos, porém mantendo preservada a tolerância para substâncias inofensivas. Se este delicado equilíbrio for quebrado um estado inflamatório crônico pode se instalar (10).

Alguns autores sugerem que doenças inflamatórias do trato gastrointestinal possuam uma base imunomediada que pode ser reforçada pela indução da remissão após administração de medicamentos imunomoduladores. O aumento de células IgE positivas em cães doentes comparados a cães saudáveis é um outro aspecto que também sugere o envolvimento de reações de hipersensibilidade na patogênese da doença inflamatória intestinal (DII) canina (11), assim como o aumento da concentração de eosinófilos e mastócitos em cães com gastroenterite eosinofílica (12). A quebra da barreira mucosa, independentemente da causa primária (bactérias, agentes químicos) também pode levar a exposição de antígenos, tornando o processo crônico (13) e é reforçado pela redução da apoptose de linfócitos, como demonstrado em cães com DII comparados aos controles (14).

O protocolo medicamentoso instituído no referido caso vai de encontro com a literatura (15) em virtude de o tratamento instituído ter sido baseado em terapia imunossupressora. Segundo Jergens (16), o uso de prednisona associada ao metronidazol possui alta eficácia, e são altamente relevantes para o tratamento da afecção. Apesar da hipertrofia do piloro secundária à gastrite linfoplasmocitária não ser completamente esclarecida pela literatura, a associação de terapia cirúrgica de piloroplastia Y-U com terapia médica a base de antibióticos e agentes imunossupressores foi eficaz no referido caso.

REFERÊNCIAS

1. Hedlund CS, Fossum TW. Cirurgia do sistema digestório. In: Fossum TW. Cirurgia de Pequenos Animais. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008. p.433-6.
2. Willard MD. Afecções do estômago. In: Ettinger SJ, Feldman EC. Tratado de medicina interna veterinária: moléstias do cão e do gato. 4a ed. São Paulo: Manole; 2005. p.1583-617.
3. Gandolfi W. Distúrbios do Estômago. In: Nelson R, Couto CG. Medicina Interna de Pequenos Animais. 3a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2006. p.408-10.
4. Sturges CP. Doença do trato alimentar. In: Dunn JK. Tratado de medicina interna de pequenos animais. 1a ed. São Paulo: Roca; 2001. p.367-43.
5. Aspelund G, Langer JC. Current management of hypertrophic pyloric stenosis. *Semin Pediatr Surg.* 2007;16:27-33.
6. Valls PG, Vernet JR, Cuantrecasas JA, Domènech JS, Fernández VS, Amella MM. Gastropatía hipertrófica de piloro – Resolución quirúrgica de tres casos clínicos mediante La técnica de piloroplastia Y-U. *Clin Asoc Vet Esp Espec Pequenõs Anim.* 1989; 9(4):48-55.
7. Ruffini E. Surgical applications of the greater omentum: a critical review of the literature. *Panminerva Med.* 1992;34:135-40.
8. Carciofi AC, Fraga VO, Brunetto MA. Ingestão calórica e alta hospitalar em cães e gatos. *Rev Educ Contin CRMV-SP.* 2003;6:16-27.
9. Brunetto MA, Gomes MOS, Teshima E, Oliveira LD, Carciofi AC. Nutrição parenteral: princípios básicos de administração. *Acta Sci Vet.* 2007;35:236-8.
10. German AJ, Hall EJ, Day MJ. Chronic intestinal inflammatory and intestinal disease in dogs. *J Vet Intern Med.* 2003;17:8-20.
11. Locher C, Tipold A, Welle M, Busato A, Zurbriggen A, Griot-Wenk ME. Quantitative assessment of mast cells and expression of IgE protein and mRNA for IgE and interleukin 4 in the gastrointestinal tract of healthy dogs and dogs with inflammatory bowel disease. *Am J Vet Res.* 2001;62:211-6.
12. Kleinschmidt S, Meneses F, Nolte I, Hewicker-Trautwein M. Characterization of mast cell numbers and subtypes in biopsies from the gastrointestinal tract of dogs with lymphocyticplasmacytic or eosinophilic gastroenterocolitis. *Vet Immunol Immunopathol.* 2007;120:80-92.

13. Greger DL, Gropp F, Morel C, Sauter S, Blum JW. Nuclear receptor and target gene mRNA abundance in duodenum and colon of dogs with chronic enteropathies. *Domest Anim Endocrinol.* 2006;31:327-39.
14. Dandrieux JR, Bornand VF, Doherr MG, Kano R, Zurbriggen A, Burgener IA. Evaluation of lymphocyte apoptosis in dogs with inflammatory bowel disease. *Am J Vet Res.* 2008;69:1279-85.
15. Garcia-Sancho M, Rodriguez-Franco F, Sainz A. Evaluation of clinical, macroscopic, and histopathologic response to treatment in nohypoproteinemic dogs with lymphocytic-plasmacytic enteritis. *J Vet Intern Med.* 2007;21:11-7.
16. Jergens AE, Willard MD. Disease of the large intestine. In: Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* Philadelphia: W.B. Saunders; 2010. p.1238-56.

Recebido em: 18/07/2013

Aceito em: 10/04/2015

UM CASO DE HERMAFRODITISMO VERDADEIRO EM UM CÃO

Bianca da Silva Salmon Pompeu¹
William Volino¹
Letícia Marcelino Lopes²

RESUMO

Hermafroditismo é uma anomalia congênita ou hereditária do aparelho reprodutor que leva a características sexuais ambíguas no mesmo indivíduo. Trata-se de uma alteração incomum em cães, podendo apresentar graus variados de ambiguidade dos órgãos genitais determinando assim a infertilidade. O estudo relata o caso de um cão sem raça definida que aos seis meses de idade apresentava anormalidades morfológicas de genitália externa, com a presença de um diminuto pênis no canal vaginal. Aos dois anos de idade e após ter havido o primeiro evento semelhante ao cio, comprovou-se por exame ultrassonográfico a presença de osso peniano. O canino foi encaminhado para a realização de pan-histerectomia eletiva como tratamento instituído e o material enviado para exame histopatológico. Com base nos achados macroscópicos e microscópicos, conclui-se tratar de um animal hermafrodita verdadeiro, exibindo gônadas ovotestis bilaterais.

Palavras-chave: cão, anormalidade morfológica, hermafroditismo.

A CASE OF TRUE HERMAPHRODITISM IN A DOG

ABSTRACT

Hermaphroditism is a hereditary or congenital anomaly of the reproductive tract that leads to ambiguous sexual characteristics in the same individual. This is an unusual change in dogs, and may have varying degrees of genital ambiguity thus determining infertility. The study reports the case of a mongrel dog that at six months of age showed morphological abnormalities of the external genitalia, the presence of a tiny penis into the vaginal canal. At two years of age and having been the first event similar to estrous cycle, it was proved by the ultrasonographic examination the presence of penis bone. The canine was sent to conduct pan-elective hysterectomy as treatment instituted and the material sent for histopathology. Based on the macroscopic and microscopic findings, it was conclude that the animal was true hermaphrodite, showing bilateral ovotestis gonads.

Keywords: dog, morphological abnormality, hermaphroditism.

UN CASO DE HERMAFRODITISMO VERDADERO EN UN PERRO

RESUMEN

Hermafroditismo es una anomalía hereditaria o congénita del tracto reproductivo que conduce a las características sexuales ambiguas en el mismo individuo. Este es un cambio inusual en los caninos, y puede haber diversos grados de ambigüedad genital lo que determina así la infertilidad. El estudio reporta el caso de un perro mestizo que a los seis meses de edad

¹ Professor Auxiliar do curso de Medicina Veterinária, Departamento de Histologia e Embriologia – Universidade Estácio de Sá – RJ/Campus: Vargem Pequena. Contato principal para correspondência.

² Graduanda do Curso de Medicina Veterinária - Universidade Estácio de Sá - Rio de Janeiro/RJ.

mostró anormalidades morfológicas de los genitales externos y presencia de un pequeño pene en el canal vaginal. A los dos años de edad después de haber sido la aparición del primer ciclo estral, se comprobó la presencia de hueso del pene en ecografía. El canino fue enviado a realizar como tratamiento instituido una ovariectomía y el material enviado para histopatología. Con base en los hallazgos macroscópicos y microscópicos, se concluye que es un animal hermafrodita verdadero, donde mostró gónadas ovotestis bilaterales.

Palabras clave: perro, anormalidad morfológica, hermafroditismo.

INTRODUÇÃO

Intersexualidade é um termo utilizado para designar alterações da diferenciação sexual que resultam na presença de características sexuais de ambos os sexos (1). Esta má formação congênita do desenvolvimento sexual pode ser classificada como hermafroditismo verdadeiro, pseudo-hermafroditismo e outras formas de reversão sexual (2-5). O hermafrodita possui gônadas de ambos os sexos, podendo ser unilateral (quando uma das gônadas é ovotestis e a outra é um ovário ou um testículo), bilateral (ambas as gônadas são ovotestis) e lateral (uma gônada é ovário e outra gônada testículo) (6,7,4). No estágio inicial do desenvolvimento sexual tanto o macho quanto a fêmea apresentam o mesmo tipo de gônada indiferenciada ou bipotencial (8,9). Sua determinação sexual normal é realizada por uma sequência cronológica de eventos: a determinação do sexo cromossômico na fertilização, o desenvolvimento do sexo gonadal e determinação do sexo fenotípico (1,9). De acordo com a constituição genética do embrião o sexo gonadal será definido. Nos embriões XY ocorre formação de testículo, enquanto no sexo cromossômico XX haverá a formação de ovários. Estes eventos são controlados por genes de determinação sexual constituintes do genótipo (2,8,9). A determinação do sexo fenotípico dos machos ocorre sob influência de dois hormônios: o anti-mulleriano, produzido nas células de Sertoli do testículo embrionário, que promove a regressão dos ductos paramesonéfricos (ductos de Muller) e a testosterona, secretada pelas células de Leydig, que promove a diferenciação dos ductos mesonéfricos (ductos de Wolff) em epidídimos e ductos deferentes (1,7,9). A testosterona é convertida em diidrotestosterona e estimula o desenvolvimento da próstata, uretra, pênis, prepúcio e escroto. Já nas fêmeas, haverá persistência dos ductos paramesonéfricos formando útero, tuba uterina e vagina, bem como a regressão dos ductos mesonéfricos. Sua genitália externa será constituída de clitóris, vulva e pequenos e grandes lábios (1,7,9). Tendo em vista poucas descrições e publicações de hermafroditismo em animais, o presente trabalho tem como objetivo relatar o caso de um cão hermafrodita verdadeiro, os exames utilizados para o diagnóstico e o procedimento terapêutico adotado.

RELATO DO CASO

Uma cadela, sem raça definida, de seis meses de idade, foi atendida em uma clínica veterinária no Rio de Janeiro com a queixa principal de anormalidade morfológica da genitália externa. Após exame clínico, constatou-se a presença de um clitóris aumentado de aproximadamente 3,5 cm de comprimento, suspeitando-se tratar de um diminuto pênis no canal vaginal. Realizou-se então um exame ultrassonográfico abdominal evidenciando corpo uterino dorsoventral à parede da bexiga urinária e somente visualizou-se o ovário esquerdo, sem alterações sonográficas. A pan-histerectomia eletiva foi o tratamento indicado, entretanto somente instituída por volta de dois anos de idade após ocorrer o primeiro evento semelhante ao estro. Posteriormente a conduta de anestesia geral e anti-sepsia, o animal foi submetido ao procedimento cirúrgico, extraíndo-se os órgãos genitais internos. Todo tecido retirado foi

conservado em formalina 10% para posterior análise histopatológica. As amostras foram colocadas em parafina, seccionadas a 3µm e coradas com hematoxilina e eosina.

RESULTADO E DISCUSSÃO

No exame clínico, constatou-se a presença de vulva com morfologia e localização normais e uma estrutura semelhante a um pênis rudimentar na porção ventral do canal vaginal. Pelo exame ultrassonográfico, evidenciou-se a presença de um osso peniano com tecido erétil ao seu redor medindo cerca de 3,5 cm assemelhando-se a um pênis verdadeiro como mencionado por Prestes et al. (10). Localizou-se também corpo uterino medindo 0,8 cm de diâmetro contendo discreto líquido luminal, possivelmente compatível com ciclo estral. A gônada esquerda apresentava 1,1 X 0,7 cm com aspecto sonográfico e posição anatômica compatíveis com ovário esquerdo. A gônada direita não foi visualizada ao exame. Não foi possível dosar valores de testosterona no canino, não sendo esta uma ferramenta utilizada para compor o diagnóstico. Martin et al. (4) descrevem que dosagens hormonais de testosterona antes ou após a estimulação com hCG (gonadotrofina coriônica humana) podem mostrar valores elevados sugerindo a presença de tecido testicular; entretanto, a obtenção de níveis basais também não descartará a presença ou ausência do mesmo.

Durante o procedimento cirúrgico notou-se a presença de gônadas bilaterais situadas próximas ao pólo caudal dos rins, em posição anatômica típica de ovário, porém a imagem macroscópica assemelhava-se a testículo e epidídimo. Os cornos uterinos também foram visualizados sem alterações macroscópicas (Figura 1). O laudo histopatológico revelou que o animal apresentava útero com aspecto histológico normal (Figura 2) e as gônadas constituíam-se principalmente por túbulos seminíferos degenerados e presença de células intersticiais, com a sua superfície externa, região cortical, exibindo folículos ovarianos (Figura 3). Próximo a cada gônada, suspenso por um tecido conjuntivo denso visualizava-se oviduto, ducto deferente e epidídimo sem a presença de espermatozoides (Figura 4). Estes achados histopatológicos corroboram com os achados de literatura que definem a presença de tecido testicular e ovariano em um animal hermafrodita, com características anatômicas ambíguas independente do sexo cromossômico (4,10,11).

O aparecimento de estruturas derivadas dos ductos paramesonéfricos em presença de testículos constata que, o mecanismo de ação do hormônio anti-mulleriano não foi bem sucedido, havendo então a persistência dos ductos paramesonéfricos e sua diferenciação (9). A deficiência na produção quantitativa do hormônio anti-mulleriano, a liberação do hormônio antes ou depois do tempo crítico para impedir o desenvolvimento testicular, falha em receptores celulares e ainda a possibilidade da existência de uma substância não conhecida que intervenha na inibição do desenvolvimento testicular, são algumas das possibilidades da falha na regressão completa dos ductos de Muller (4,10,11). Volino et al. (9) refere-se ainda a uma função deficiente dos hormônios androgênicos contribuindo para a virilização parcial da genitália externa, devido à produção insuficiente ou ainda uma refratariedade tecidual aos efeitos androgênicos. Os resultados sugerem um caso de hermafroditismo verdadeiro bilateral, devido à presença de gônadas ovotestis.



Figura 1. Imagem macroscópica de órgãos retirados durante o procedimento cirúrgico de pan-histerectomia.

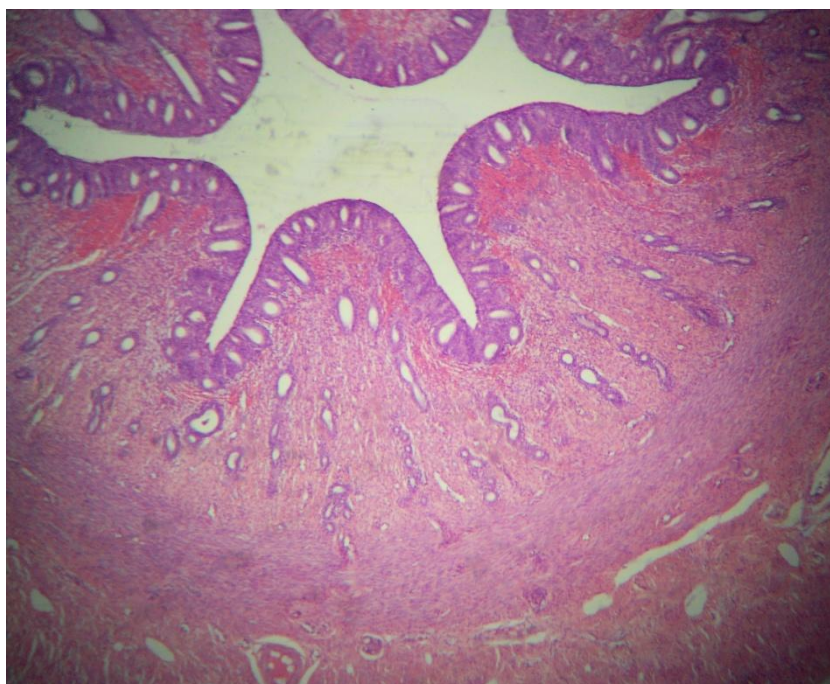


Figura 2. Imagem microscópica de útero evidenciando endométrio e miométrio sem alterações histológicas visíveis. Aumento de 40x.

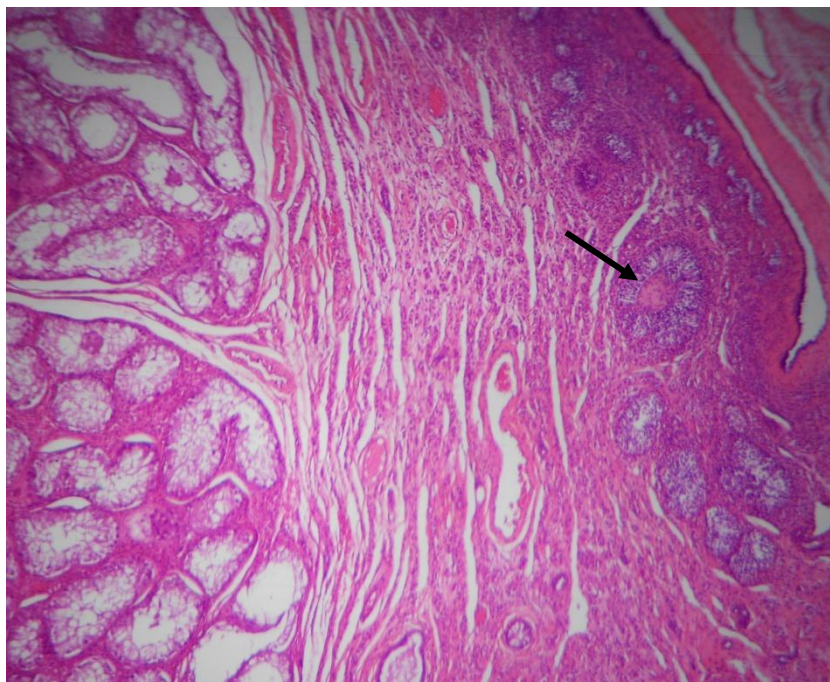


Figura 3. Imagem microscópica de gônada exibindo cortical com folículos ovarianos (seta) e internamente túbulos seminíferos degenerados. Aumento de 40x.

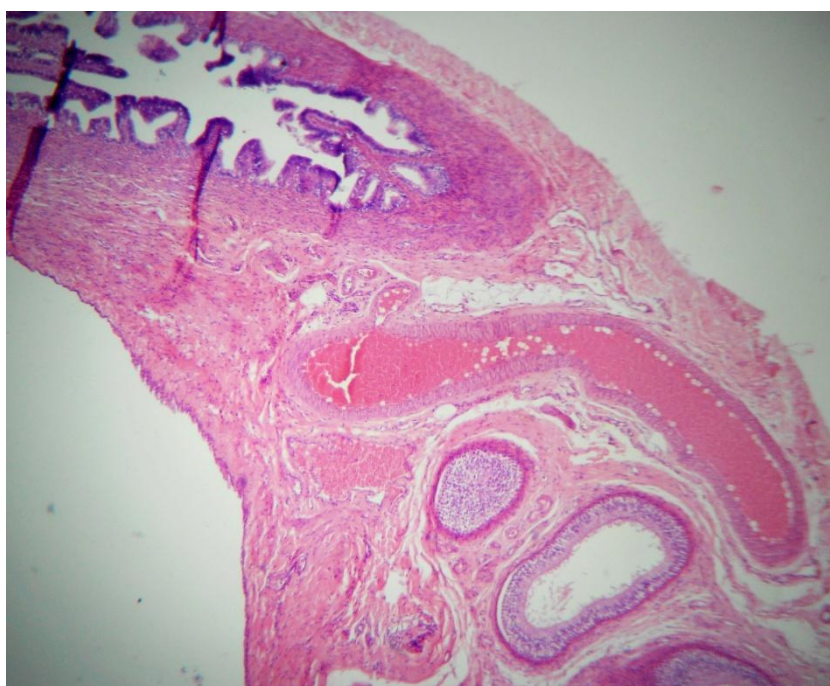


Figura 4. Imagem microscópica de oviduto e epidídimo ambos suspensos pelo mesmo tecido conectivo ricamente vascularizado. Aumento 40x.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que este é um caso de hermafroditismo verdadeiro, no entanto as causas não são bem esclarecidas e mais estudos devem ser realizados para uma melhor caracterização da anomalia.

REFERÊNCIAS

1. Perkins NR, Threlfall WR. Anormalidades Intersexuais. In: Birchard SJ, Sherding RG. Manual Saunders: Clínica de Pequenos Animais. 1a ed. São Paulo: Roca; 1998. p.1054-6.
2. Cherobini E, Beck C, Bolson J, Cardona R, Krauspenhar C, Silveira GP. Hermafroditismo em um canino pit Bull, 4 meses de idade. Acta Sci Vet. 2007;35:342-3.
3. Suria CRS, Sacco SR. Hermafroditismo em cão - Relato de caso. Vet Zootec. 2012;19:92-4.
4. Martin L, Quero AAM, Ferre DM, Albarracín L, Hynes V, Larripa IB, et al. Un caso de hermafroditismo verdadero 78, XX en una perra Weimaraner. Arch Med Vet. 2011;43:299-302.
5. Abdo HD, Neves MF, Sacco SR. Hermafroditismo em cão: Relato de caso. Rev Cient Eletron Med Vet. 2008;10.
6. Leipold HW, Troyer D. Distúrbios cromossômicos e genéticos. In: Ettinger SJ, Feldman EC. Tratado de Medicina Interna Veterinária. Moléstias do cão e do gato. 4a ed. São Paulo: Malone; 1997. p.315-9.
7. Delfini A, Toniollo GH, Canola JC, Alessi AC, Lui JF, Martins Filho LP, et al. Pseudo-hermafroditismo masculino em cão da raça American Pit-bull Terrier – Relato de caso. Cienc Anim Bras. 2007;8:333-8.
8. Mickelsen WD, Memon MA. Distúrbios hereditários e congênitos dos sistemas reprodutores do macho e da fêmea. In: Ettinger SJ, Feldman EC. Tratado de Medicina Interna Veterinária. Moléstias do cão e do gato. 4a ed. São Paulo: Malone; 1997. p.2326-31.
9. Volino W, Coredeiro AV, Villar TD, Goldschmid B, Moreira MAM, Armada JLA. Ocorrência de pseudo-hermafroditismo masculino em cão (Canis familiaris) da raça Labrador Retriever. Rev Univ Rural. 2005;25:187-8.
10. Prestes NC, Leal SS, Jorge P, Derussi AAP, Motta LSLS, Oba E. Pseudo-hermafroditismo masculino canino: relato de três casos. Vet Zootec. 2005;12:14-9.
11. Lyle SK. Disorders of sexual development in the dog and cat. Theriogenology. 2007;8: 338-43.

Recebido em: 10/06/2013**Aceito em: 15/04/2015**

AVALIAÇÃO TÉCNICA DE MATERIAL PUBLICITÁRIO DE PRODUTOS VETERINÁRIOS COMO ATIVIDADE DIDÁTICA COMPLEMENTAR A ALUNOS DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Marcella Zampoli Troncarelli¹

RESUMO

O conhecimento das diferentes esferas de atuação profissional, a promoção do caráter empreendedor e a ampliação da visão de mercado são de fundamental importância no ensino de graduação em Medicina Veterinária. Proporcionar aos alunos atividades práticas interativas que contribuam com este aprendizado permite a formação de profissionais diferenciados, melhor capacitados e com visão crítica, que poderão atuar de maneira mais eficiente no mercado de trabalho. Durante a disciplina de Tópicos em Atuação Profissional, ministrada a alunos do quinto ano de graduação da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Paulista, campus de Bauru-SP, realizou-se uma exposição teórica inicial sobre as diferentes possibilidades de atuação do médico veterinário na indústria de medicamentos e imunobiológicos. Em seguida, procedeu-se uma atividade interativa onde os alunos puderam avaliar tecnicamente diversos materiais publicitários de produtos veterinários, segundo quesitos pré-estabelecidos. Os resultados das referidas avaliações são apresentados no presente trabalho. Segundo relatos dos alunos, a atividade realizada contribuiu para a ampliação da visão empresarial da profissão, além de permitir o entendimento sobre o processo de elaboração de materiais publicitários na área médica veterinária. Relatou-se ainda que foi possível assumir uma visão crítica com relação a eventuais pontos positivos e negativos relacionados à forma de apresentação técnica dos produtos pelas empresas.

Palavras-chave: Medicina Veterinária, *marketing*, produtos veterinários, alunos, docência.

TECHNICAL EVALUATION OF VETERINARY PRODUCTS' MARKETING MATERIALS AS AN ADDITIONAL TEACHING ACTIVITY FOR GRADUATION STUDENTS IN A VETERINARY MEDICINE FACULTY

ABSTRACT

The knowledge of different areas for professional activities, the promotion of entrepreneurship and the extension of market vision are extremely important for educational purposes in Veterinary Medicine graduation courses. When some interactive practical activities for students' learning are proposed, it is possible to contribute with the formation of better trained/differentiated professionals and to improve their critical points of view. By this way, these future professionals may play an efficient role at the labor market. In this context, during the "Topics in Professional Performance" discipline, that is given to the fifth degree graduation students at Faculty of Veterinary Medicine of Universidade Paulista, site in Bauru-SP Brazil, a special additional activity was developed. Initially, a theoretical exposition about the different professional possibilities at the industry of veterinary products was presented. After that, an interactive activity was proposed, and the students were able to evaluate technically some vet products marketing materials, according to some pre-established criteria. The results of these evaluations are shown in the present study. According to the students' reports, this specific activity contributed to amplify their business view of veterinary

¹ Pós-doutorando em Medicina Veterinária Preventiva pela FMVZ UNESP Botucatu-SP. Docente do curso de Medicina Veterinária da UNIP Bauru-SP

medicine, and allowed to better understand on how a vet marketing material is elaborated. Students also reported that it was possible to assume a critical view about eventual positive and negative points related to the different forms of technical presentation of vet products by companies.

Keywords: Veterinary Medicine, *marketing*, vet products, students, teaching.

EVALUACION TECNICA DE MATERIALES DE PUBLICIDAD DE PRODUCTOS VETERINARIOS COMO ACTIVIDAD ADICIONAL DE ENSEÑANZA A ESTUDIANTES DEL CURSO DE GRADUACION EN MEDICINA VETERINARIA

RESUMEN

El conocimiento de las distintas áreas de actuación profesional, la promoción del carácter emprendedor y la ampliación de la visión de mercado son de fundamental importancia en la enseñanza de Medicina Veterinaria. Proporcionar a los alumnos actividades prácticas interactivas que contribuyan con este aprendizaje permite la formación de profesionales diferenciados, mejor capacitados y con visión crítica, que podrán actuar de manera más eficiente en el mercado de trabajo. Durante la disciplina de Tópicos en Actuación Profesional, ministrada a alumnos del quinto año de graduación de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Paulista, campus de Bauru-SP, Brasil, se realizó una exposición teórica con respecto a las distintas posibilidades de actuación del médico veterinario en la industria de medicamentos e inmunobiológicos. En seguida, se procedió una actividad interactiva donde los alumnos pudieran evaluar técnicamente diversos materiales de publicidad de productos veterinarios, según criterios pre-determinados. Los resultados de las referidas evaluaciones son reportados en el presente trabajo. Según los relatos de los alumnos, la actividad realizada contribuyó para la ampliación de la visión empresarial de la profesión, y adicionalmente permitió el entendimiento sobre cómo un folleto de publicidad del área médica veterinaria es elaborado. Aún se relató que fue posible asumir una visión crítica con relación a eventuales puntos positivos y negativos relacionados a la forma de presentación técnica de los productos por las empresas.

Palabras clave: Medicina Veterinaria, *marketing*, productos veterinarios, alumnos, enseñanza.

O ensino em Medicina Veterinária deve acompanhar os novos desafios e tendências da profissão. Para tanto, os docentes devem realizar efetivamente seu papel como facilitadores do aprendizado e propor atividades complementares e interativas que promovam a interdependência positiva entre os alunos, bem como a construção do conhecimento (1).

Além das questões técnicas clássicas que envolvem o ensino em Medicina Veterinária, existe a necessidade de ampliar a visão dos alunos com relação ao caráter empreendedor/empresarial da profissão, como também aos aspectos voltados ao mercado de trabalho, seus distintos setores econômicos e novos nichos e oportunidades profissionais (2).

Uma das importantes áreas de atuação do médico veterinário que tem apresentado franco crescimento no país é representada pela indústria de medicamentos e imunobiológicos. Estas indústrias, de origem nacional ou multinacional, são geralmente voltadas à fabricação de produtos para animais de companhia (pets) e/ou para animais de produção. Estas produzem medicamentos antimicrobianos, anti-inflamatórios, antiparasitários, nutracêuticos, vacinas, entre outros, que devem ser continuamente melhorados e divulgados científica e comercialmente. Sendo assim, a demanda profissional neste setor tem sido cada vez maior,

considerando o crescimento contínuo do mercado pet e a expansão da produção agropecuária no Brasil (3).

O médico veterinário poderá atuar em diferentes setores na indústria, como: assistência técnica, produção/desenvolvimento de novos produtos, controle de qualidade, logística, registro de produtos e marketing. Especificamente na área de marketing, o profissional deve realizar, entre outras atividades, a elaboração de materiais publicitários voltados a diferentes públicos-alvo, promovendo assim a comercialização e a utilização correta dos produtos. Para tanto, o médico veterinário realiza exaustivo trabalho de elaboração dos textos técnicos, revisão, orientação estratégica de apresentação das informações, escolha das ilustrações, tipo de material a ser utilizado, além da verificação da conformidade com a legislação pertinente e com padrões éticos, entre outras características necessárias à adequada promoção dos produtos (4,5).

Considerando a importância de se abordar esta temática com o objetivo de ampliar a visão profissional dos alunos do quinto ano de graduação da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Paulista, campus de Bauru-SP, foi realizada uma atividade interativa complementar à disciplina de “Tópicos em Atuação Profissional”. Inicialmente, realizou-se uma exposição teórica inicial sobre as diferentes possibilidades de atuação do médico veterinário na indústria de medicamentos e imunobiológicos. Em seguida, procedeu-se uma atividade de interdependência positiva, onde os alunos puderam se reunir em duplas e avaliar tecnicamente diferentes materiais publicitários de produtos veterinários, segundo quesitos pré-estabelecidos (Quadro 1). Cada dupla ficou responsável por avaliar apenas um material publicitário. No total foram distribuídos 21 unidades de materiais publicitários distintos entre si, sendo 12 de empresas nacionais e nove de multinacionais.

Dentre os materiais distribuídos aos alunos, encontravam-se 12 folders, um manual técnico, quatro catálogos de produtos e quatro folhetos únicos, voltados à divulgação de medicamentos e imunobiológicos indicados para animais de companhia e de produção. Na ficha de avaliação técnica entregue aos alunos, além dos dados constantes no Quadro 1, foi solicitado registrar o nome comercial do produto e da empresa. No entanto, por questões éticas, estes dados não serão divulgados.

Com relação à qualidade do material, os alunos classificaram 12 com impressão em papel especial liso, oito em papel cartão com verniz e um em papel especial com relevo. Não havia nenhum material impresso em papel comum ou reciclado.

De acordo com a percepção dos alunos, os folhetos publicitários veterinários são em geral produzidos com material de boa qualidade e apresentam de maneira adequada as informações técnicas inerentes aos produtos. Por outro lado, foi possível identificar, em mais da metade dos materiais avaliados, a ausência de informações importantes, como precauções e contraindicações dos produtos; orientação para consultar sempre o médico veterinário; referências bibliográficas dos estudos apresentados; número de registro dos produtos junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e nome do responsável técnico da empresa. Vale ressaltar que muitos alunos alegaram não se sentir suficientemente informados sobre os produtos, com base somente nos materiais publicitários avaliados.

Segundo relatos dos alunos, a atividade realizada contribuiu para a ampliação da visão empresarial da profissão, além de permitir o entendimento sobre o processo de elaboração de um folheto publicitário da área médica veterinária. Relatou-se ainda que foi possível assumir uma visão crítica com relação a eventuais pontos positivos e negativos relacionados à forma de apresentação técnica dos produtos pelas diferentes empresas.

Entendemos, portanto, que a presente atividade didática atingiu os objetivos e poderá ser utilizada como modelo para outras instituições de ensino nacionais.

Quadro 1. Avaliação técnica de 21 unidades distintas de material publicitário relacionado a produtos veterinários, segundo a percepção de alunos do quinto ano de graduação em Medicina Veterinária, com base em requisitos pré-estabelecidos. Bauru-SP, 2015.

Requisitos para avaliação	Número absoluto de materiais	%
As informações são apresentadas em uma sequência lógica e didática	21	100%
Presença de imagens de animais ou de figuras que remetam a animais	20	95%
Linguagem acessível	19	90%
Tamanho da fonte permite fácil visualização	19	90%
Apresenta dados completos da empresa (endereço, telefone, e-mail)	18	85%
Apresentação da fórmula do produto ou pelo menos do princípio ativo	18	85%
Presença de figuras ou esquemas com fins didáticos	18	85%
Apresentação de informações de bula (dosagem/ vias de administração/espécies animais ao qual se destina)	17	80%
A apresentação publicitária do produto, bem como as informações técnicas contidas, o estimularia a comprá-lo?	14	66%
Se você não conhecesse o produto, se sentiria suficientemente informado sobre ele?	11	52%
Presença de gráficos	09	42%
Apresentação de referências bibliográficas	09	42%
Apresenta QR code ou outro recurso que permita o acesso a informações adicionais do produto via internet	09	42%
Apresenta precauções ou contraindicações do produto	09	42%
Apresenta informações sobre consultar sempre o médico veterinário	08	38%
Faz menção à empresa, sua missão, visão e valores	06	28%
Presença de tabelas	04	19%
Apresenta o número de registro do produto junto ao MAPA	0	0%
Apresenta o nome do responsável técnico da empresa	0	0%

REFERÊNCIAS

1. Troncarelli MZ, Faria AA. A aprendizagem colaborativa para a interdependência positiva no processo ensino-aprendizagem em cursos universitários. *Educação*. 2014;39(2):427-44.
2. Almosny N. Empreendedorismo no ensino da Medicina Veterinária. *J CRMV-RJ [Internet]*. 2011 [cited 2015 Feb 16];23(237):8. Available from: <http://amverj.blogspot.com.br/2011/06/empreendedorismo-no-ensino-da-medicina.html>.
3. Elizeire MB. Expansão do mercado pet e a importância do marketing na medicina veterinária [monografia]. Porto Alegre: Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2013.
4. Veterinary Hospital Managers Association. Critical competencies: a guide for veterinary practice management professionals. Alachua, FL: VHMA; 2015 [cited 2015 Feb 16]. Available from: <http://www.vhma.org/associations/1346/files/VHMACriticalCompetenciesRpt.pdf>.
5. Conselho Nacional de Autorregulamentação Publicitária. Código Brasileiro de Autorregulamentação Publicitária [Internet]. São Paulo: CONAR; 2015 [cited 2015 Feb 16]. Available from: <http://www.conar.org.br/codigo/codigo.php>.

Recebido em: 16/02/2015

Aceito em: 24/04/2015

COMPARAÇÃO DE TRÊS TESTES DE TUBERCULINA USADOS PARA O DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSE EM BÚFALOS DE ÁGUA NA ILHA DE MARAJÓ

Alexandre do Rosário Casseb¹
Andréa Góes Negrão¹
Livia Medeiros Neves Casseb²
Sandro Patroca Silva¹
Érika Dayane Leal Rodrigues³
Wilton Figueiredo Lima⁴
Hélio Langoni⁵

RESUMO

O Estado do Pará corresponde a 26 % da região Amazônia brasileira e estima-se que o rebanho de búfalos represente em torno de 45% da população de búfalos do Brasil, principalmente, localizados na ilha de Marajó. Este trabalho teve como objetivo comparar três diferentes tipos de testes tuberculínicos utilizados para o diagnóstico da tuberculose em búfalos de água (*Bubalus bubalis*) e os resultados comparados com animais com e sem tuberculose. Os resultados deste trabalho permitiram fazer as seguintes conclusões: o teste cervical simples em búfalos não é recomendável devido à baixa especificidade, produzindo uma grande margem de erros (sacrifício de animais falsos positivos); a prova intradérmica dupla tem baixa especificidade e com o inconveniente de aplicar duas vezes tuberculina, sendo assim há necessidade de três visitas a fazenda, elevando o custo e manejo; o teste cervical comparativo é o melhor método, pois possui alta especificidade e sensibilidade, pois as reações à tuberculina em búfalos se caracterizam por elevado número de reações inespecíficas devido ao seu hábito aquático.

Palavras-chave: tuberculose, *Bubalus bubalis*, teste de tuberculina.

COMPARISON OF THREE TUBERCULIN SKIN TESTS USED TO DIAGNOSE TUBERCULOSIS IN WATER BUFFALOES IN MARAJÓ ISLAND

ABSTRACT

The state of Pará corresponds to 26% of the Brazilian Amazon Region and contains a herd of buffaloes that represent around 45% of the buffalo population in Brazil. This herd is located especially in the Marajó Island. The aim of this study was to compare three different types of tuberculin skin tests used for the diagnosis of tuberculosis in buffaloes (*Bubalus bubalis*) and compare the results with infected and uninfected animals by tuberculosis. The results of this study allows to the following conclusions: The single cervical test in buffaloes is not recommended due to the low specificity, producing a large margin of error (sacrifice of false positive animals); the double intradermal tuberculin test has a low specificity and the inconvenience of applying twice tuberculin, therefore is necessary three visits in the farm, raising the costs. The comparative cervical testis is the best method, because it has high

¹ Professor(a) da Universidade Federal Rural da Amazônia. Contato principal para correspondência.

² Doutorando em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural da Amazônia.

³ Residente em Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal Rural da Amazônia.

⁴ Graduanda em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural da Amazônia.

⁵ Professor(a) Titular do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, FMVZ-UNESP, Botucatu – SP.

specificity and sensitivity, and the reactions of tuberculin in buffaloes are characterized by a high number of nonspecific reactions, due mainly to the buffalo aquatic habit.

Keywords: tuberculosis, *Bubalus bubalis*, tuberculin skin test.

COMPARACIÓN DE TRES PRUEBAS DE TUBERCULINA UTILIZADAS PARA DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS EN BÚFALOS DE AGUA DE LA ISLA DE MARAJÓ

RESUMEN

El estado de Pará corresponde con el 26% en la región Amazonica brasileña y se estima que la manada de búfalos representa al rededor del 45% de la población de búfalos de Brasil, principalmente ubicados en la isla de Marajó. Este estudio tuvo como objetivo comparar tres tipos distintos de pruebas de tuberculina utilizadas para el diagnóstico de la tuberculosis en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) y los resultados en comparación con los animales con y sin tuberculosis. Los resultados de este estudio proporcionan las siguientes conclusiones: la prueba cervical en los búfalos no se recomienda debido a la baja especificidad, la producción de un gran margen de error (sacrificio de los animales falsos positivos), la prueba intradérmica doble tiene una baja especificidad y la inconveniencia de aplicar dos veces la tuberculina, lo que no necesita de tres visitas al campo, elevando el costo y la gestión, la prueba cervical comparativa es el mejor método, ya que tiene una alta especificidad y sensibilidad, como las reacciones a la tuberculina en los búfalos se caracterizan por un alto número de reacciones inespecíficas debido a su hábito acuático.

Palabras clave: tuberculosis, *Bubalus bubalis*, pruebas de tuberculina.

INTRODUÇÃO

O Estado do Pará corresponde a 26 % da região Amazônica brasileira e estima-se que o rebanho de búfalos represente em torno de 45% da população de búfalos do Brasil, principalmente, localizados na ilha de Marajó (1). A tuberculose em búfalos é uma enfermidade infectocontagiosa de caráter crônico, caracterizada pela formação de granulomas específicos, denominados tubérculos e seu principal agente etiológico é o *Mycobacterium bovis* (2).

As tuberculinas são extratos de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* ou *Mycobacterium avium*, que são utilizados em testes cutâneos para o diagnóstico de tuberculose, empregando-se vários tipos, porém, hoje o mais utilizado é o derivado proteico puro de tuberculina (PPD) (3).

São utilizados vários métodos de reação de provas intradérmicas para o diagnóstico da tuberculose usando extratos de *Mycobacterium* spp. em cultivo como o PPD, sendo hoje os métodos mais utilizados o teste cervical simples (TCS) e o teste cervical comparativo (TCC) (4). Entretanto Corrêa & Corrêa (5) relatam a importância do uso da prova intradérmica dupla (PID) em bovinos, destacando que a mesma quando bem empregada é mais específica que as demais provas.

Entre os animais que sofrem de tuberculose, o búfalo é bastante comum, principalmente no gado leiteiro (6), sendo os testes tuberculínicos muito utilizados em bovinos. Em bubalinos, pouco estudo tem estado disponível sobre o assunto (7). Por isso, este trabalho teve como objetivo comparar a eficiência de três diferentes tipos de testes tuberculínicos utilizando o TCS, TCC e a PID comparando os resultados com animais com e sem tuberculose.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados 24 búfalos de água (*Bubalus bubalis*), fêmeas, com idade superior a 24 meses e pertencentes a uma fazenda localizada no município de Salvaterra, na Ilha de Marajó, Estado do Pará, Brasil (00°45'10"S 48°31'01"). O TCS e TCC foram realizados como recomendado por Brasil (4) e a PID foi realizada conforme recomendado por Corrêa & Corrêa (5).

No local da criação, após o abate e necropsia de todos os 24 animais estudados, foram examinados seis pares de linfonodos entre os de cabeça (mandibulares, parotídeos e retrofaríngeos), torácicos (mediastínicos e bronquiais), mesentéricos e da carcaça (pré-escapulares, ilíacos, isquiáticos, sacral e inguinal superficial), além de órgãos como pulmão, fígado, baço, rim, úbere e órgãos genitais.

Para confirmação dos resultados da necropsia, foram coletados materiais para a realização do exame direto por impressão ou esfregaço corado pelo método de Ziehl-Neelsen (5). Após serem triturados em gral estéril, eram feitos esfregaços em duas lâminas que a seguir eram fixadas ao fogo e coradas pelo método de Ziehl-Neelsen, para observação em microscópio no aumento de 1000 vezes e constatação da existência de bacilos álcool-ácido resistentes.

Para os materiais que foram negativos para bacilos álcool-ácido resistentes no exame direto o triturado era suspenso em partes iguais em ácido sulfúrico a 8% e, após mistura, colocado em estufa a 37° C durante 20 minutos, e em seguida neutralizando com hidróxido de sódio a 8%. Foi então colocado em tubos estéreis e submetidos a 3000xg por 30 minutos. O sobrenadante foi descartado e o sedimento, suspenso em líquido residual. Foram preparadas duas lâminas e coradas pelo método de Ziehl-Neelsen e examinadas a microscopia em aumento de 1000 vezes.

Os resultados dos testes de tuberculina positivos e negativos foram comparados aos achados *post mortem* e exame microscópico pela distribuição de probabilidade condicional, usando o teste *screening* para estabelecer a sensibilidade, especificidade, falso-positivos, falso-negativos, valor preditivo do teste positivo, valor preditivo do teste negativo e acurácia. Os testes de tuberculina que resultaram inconclusivos foram retirados deste cálculo. Os parâmetros foram calculados usando o programa BioEstat 5.3 (8).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A necropsia de 18 animais apresentou lesões compatíveis (granulomas) com o quadro de tuberculose e todos mostraram exame microscópico positivo (presença de bacilos álcool-ácido resistentes) sendo considerados animais com tuberculose. Apenas seis animais não apresentaram lesões, que foram considerados como animais sem tuberculose. As tabelas 1 e 2 demonstram os resultados dos diferentes testes realizados em animais com tuberculose e sem tuberculose, respectivamente.

Os resultados do teste de *screening* estão na tabela 3 e demonstram que nos búfalos estudados o TCS apresenta alta sensibilidade, porém, baixa especificidade, produzindo grande quantidade de animais falso-positivos, fato que está de acordo com os resultados obtidos por Kanameda et al. (9), fator preocupante para o teste, pois a eliminação de animais sadios causa grave problema na economia da propriedade, assim como, a credibilidade do teste utilizado, portanto o TCS não deve ser utilizado em criações bubalinas com os parâmetros de corte, hoje utilizados no Brasil, que são de 4 mm. Roxo et al. (7), Mota et al. (10) e Lopes et al. (11), também, referem a necessidade de mudança no critério de interpretação para esse teste, que é amplamente utilizado em bovinos, mas que não produzem bons resultados em búfalos.

Tabela 1. Resultado de três diferentes testes de tuberculina em búfalos com tuberculose

Resultado	TCS		TCC		PID	
	N	%	N	%	N	%
Positivo	18	100	14	77.78	13	72.22
Negativo	00	00	00	00	05	27.78
Inconclusivo	00	00	04	22.22	00	00

Legendas: N= número de animais, %- percentual, TCS- teste cervical simples, TCC- teste cervical comparativo, PID-prova intradérmica dupla

Tabela 2. Resultado de três diferentes testes de tuberculina em búfalos sem tuberculose

Resultado	TCS		TCC		PID	
	N	%	N	%	N	%
Positivo	04	66.66	00	00	2	33.33
Negativo	01	16.66	02	33.33	3	50.00
Inconclusivo	01	16.66	04	66.66	1	16.66

Legendas: N= número de animais, %- percentual, TCS- teste cervical simples, TCC-teste cervical comparativo, PID-prova intradérmica dupla

Tabela 3. Resultados do Teste de *Screening* para três diferentes testes de tuberculina em búfalos

Parâmetros	TCS	TCC	PID
Sensibilidade	100.00%	100.00%	72.22%
Especificidade	20.00%	100.00%	60.00%
Falso-Positivos	80.00%	0.00%	40.00%
Falso-Negativos	0.00%	0.00%	27.78%
VPTP	81.82%	100.00%	86.67%
VPTN	100.00%	100.00%	37.50%
Acurácia	82.61%	100.00%	69.57%

Legendas: TCS- teste cervical simples, TCC-teste cervical comparativo, PID-prova intradérmica dupla, VPTP-valor preditivo do teste positivo, VPTN-valor preditivo do teste negativo.

Para Langenegger et al. (12), as reações cruzadas ocasionadas pela sensibilização do organismo por várias micobactérias e em distintas situações se tornam um problema que dificulta a interpretação do diagnóstico alérgico da tuberculose, tanto no homem como nos animais. Essa questão, provavelmente, se deve ao hábito aquático dos búfalos, pois esses animais têm maior contato com micro-organismos saprófitos de estrutura semelhante ao *Mycobacterium bovis*, sendo então mais propensos a reações falso positivas que os bovinos (13,14). Segundo Monaghan et al. (15), uma das mais potentes fontes de micobactérias saprófitas é a água estagnada e isto deve merecer atenção quando ocorrem reagentes inespecíficos. A especificidade também pode ser afetada pela tuberculina, o tipo de teste utilizado e pelos critérios de interpretação (16).

Por outro lado, o TCC mostrou alta sensibilidade e especificidade, quando se considerou apenas animais positivos e negativos, porém, 50% dos animais inconclusivos apresentaram quadro de tuberculose e 50% não apresentaram a doença. Portanto, os animais inconclusivos nesse teste devem permanecer isolados do rebanho para realização de outros métodos diagnósticos ou abatidos.

O TCC pode ser utilizado para diferenciar os animais infectados pelo *Mycobacterium bovis* daqueles expostos a outras micobactérias ou gêneros afins (17). Segundo Von Reyn et al.(18), o TCC pode, também, ser utilizado em pacientes humanos que sofrem de infecção

pulmonar por *Mycobacterium avium* ou *Mycobacterium tuberculosis* sendo esta técnica bastante específica (97%) em discriminar infecções causadas por esses agentes em infecções pulmonares do homem.

É interessante notar que alta sensibilidade e especificidade do TCC neste trabalho corroboram com o critério de interpretação do teste para bovinos e búfalos utilizados no Brasil (4), portanto, não há recomendação da mudança desses parâmetros como recomendado por alguns autores (7,11), pois o aumento do critério de interpretação do TCC poderá produzir maior número de animais falsos negativos, comprometendo o controle da enfermidade.

No presente estudo, alguns animais apresentaram grandes reações que dificultaram a leitura realizada pelo cutímetro (Figura 1), fato esse já observado por Roxo et al.(7), Awad e Mahamoud (19) e Shukla e Singh (20) e que chamaram atenção para as reações a tuberculina serem maiores em búfalos que em bovinos.



Figura 1. Reação tuberculínica em búfalo após 72 horas de inoculação de PPD aviário e bovino (reação maior) no Teste Cervical Comparativo.

Por outro lado, muitos animais apresentaram pequenas reações que foram positivas (>4mm) e em muitos animais negativos no TCC foi detectada reação à tuberculina aviária superior à tuberculina bovina, demonstrando o grande número de reações inespecíficas nessa espécie, provavelmente por micobactérias saprofitas que são mais comuns nessa espécie em relação aos bovinos (9).

A PID utilizada nesse trabalho teve sensibilidade de aproximadamente 72% e especificidade de 60%, portanto, um teste em que, apesar da baixa especificidade, mostrou melhores resultados que o TCS em detectar os animais falsos positivos, mas apresentou resultados falsos negativos de aproximadamente 28%, podendo deixar muitos animais com tuberculose no rebanho. Outro fator importante é que para realizar a PID são necessárias três visitas à propriedade encarecendo e tornando esse teste mais laborioso. Por esses fatores, não recomendamos a utilização do referido teste em búfalos.

CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho permitem fazer as seguintes conclusões: o TCS em búfalos não é recomendável devido à baixa especificidade, produzindo uma grande margem de erros (sacrifício de animais falsos positivos); a PID tem baixa especificidade e com o inconveniente de aplicar duas vezes tuberculina, sendo assim há necessidade de três visitas a fazenda, elevando o custo e manejo; TCC é o melhor método, pois possui alta especificidade e sensibilidade, pois as reações à tuberculina em búfalos se caracterizam por elevado número de reações inespecíficas devidas, principalmente, ao seu hábito aquático.

REFERÊNCIAS

1. Barbosa NGS. Bubalinocultura no Estado do Pará. Rev Bras Reprod Anim [Internet]. 2005 [cited 2013 Set 21];29:34-8. Available from: <<http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/download/RE0193438.pdf>>.
2. Oliveira IAS, Melo HPC, Câmara A, Dias RVC, Soto-Blanco B. Prevalência de tuberculose no rebanho bovino de Mossoró, Rio Grande do Norte. Braz J Vet Res Anim Sci. 2007;44:395-400.
3. Pollock JM, McNair J, Bassett H, Cassidy E, Costello H, Aggerbeck I, et al. Specific Delayed-Type Hypersensitivity Responses to ESAT-6 Identify Tuberculosis-Infected Cattle. J Clin Microbiol. 2003;41:1856-60. Doi: 10.1128/JCM.41.5.1856-1860.2003.
4. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal-PNCEBT. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; 2006. p.60-4.
5. Corrêa WM, Corrêa CNM. Tuberculose. In: Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos. 2a ed. Rio de Janeiro: Medsi; 1992. p.317-45.
6. Láu HD. Doenças em búfalos no Brasil: diagnóstico, epidemiologia e controle. Belém: Embrapa-CPATU; 1999.
7. Roxo E, Vasconcellos AS, Pinheiro SR, Baruselli PS, Macruz R, Leite CQL. Evaluation of tuberculin skin reaction in buffaloes (*Bubalus bubalis*). Arq Inst Biol São Paulo. 1998;65:81-92.
8. Ayres M, Ayres JRM, Ayres DL, Santos AS. BioEstat 5.0 - Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas. Belém: sociedade civil mairauá; 2007.
9. Kanameda MM, Ekgat S, Wongkasemjit C, Sirivan T. An evaluation of tuberculin skin tests used to diagnose tuberculosis in swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*). Prev Vet Med. 1999;39:129-35.
10. Mota PMPC, Lobato FCF, Assis RA, Lage AP, Parreiras PM, Leite RC. Ocorrência de tuberculose em rebanhos bubalinos (*Bubalus bubalis* var. *bubalis*-Linneus, 1758) no Município de Parintins, Amazonas. Arq Bras Med Vet Zootec. 2002;54: 441-3.
11. Lopes LB, Cunha AP, Mota RA, Leite RC. Comparação de duas técnicas de tuberculinização em búfalos. Cienc Anim Bras. 2006;7:187-91.

12. Langenegger JC, Langenegger H, Mota PMPC, Leite RC. Reações inespecíficas no diagnóstico alérgico da tuberculose bovina. *Pesq Vet Bras.* 1981;1:145-9.
13. Pinto MRM, Wanasinghe DD, Ravindran KV. Studies in tuberculin sensitivity of livestock in Ceylon. II. Patterns of sensitivity in the buffalo (*Bubalus bubalis*). *Ceylon Vet J.* 1973;21:10-5.
14. Hein WR, Tomasovic AA. An abattoir survey of tuberculosis in feral buffaloes. *Aust Vet J.* 1981;57:543-7.
15. Monaghan ML, Doherty ML, Collins JD, Quinn PJ. The tuberculin test. *Vet Microbiol.* 1994;40:111-24.
16. O'reilly LM, Daborn CJ. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. *Tubercle Lung Dis.* 1995;76:1-46.
17. Haagsma J. Bovine tuberculosis. In: *OIE Manual (Amendment2)*. Paris: OIE; 1995. p.11.
18. Von Reyn CF, Williams DE, Horsburgh CR, Jaeger AS, Marsh BJ, Haslov K, et al. Dual skin testing with *Mycobacterium avium* sensitin and purified protein derivative to discriminate pulmonary disease due to *M. avium* complex from pulmonary disease due to *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis.* 1998;177:730-6.
19. Awad FI, Mahamoud AH. The single intradermal comparative tuberculin test in the egyptian buffalo. *Vet Rec.* 1957;16:133.
20. Shukla RR, Singh G. Studies on tuberculosis among Indian buffaloes. *Indian Vet J.* 1972;49:119-23.

Recebido em: 28/01/2014

Aceito em: 22/10/2014

INFECÇÕES POR PARASITOS GASTRINTESTINAIS EM CÃES DOMICILIADOS E SUAS IMPLICAÇÕES NA TRANSMISSÃO ZONÓTICA

Claudia Mello Ribeiro¹
Débora Elenice Lima¹
Satie Katagiri²

RESUMO

Considerando a importância das parasitoses em cães para a saúde pública, este estudo teve como objetivo determinar a prevalência de parasitos intestinais em cães domiciliados e avaliar os fatores de risco envolvidos na epidemiologia e transmissão zoonótica destas parasitoses. Amostras de fezes de 123 cães foram analisadas pelos métodos de Willis-Mollay e sedimentação espontânea, a fim de determinar a frequência de parasitos intestinais. Um questionário foi usado para obter informações sobre as características dos animais, bem como acesso à rua, coabitação com outros animais, visita ao veterinário e uso de antiparasitários. Foram detectados ancilostomídeos (34,9%), *Trichuris vulpis* (13,8%), *Cystoisospora* spp. (4%), *Toxocara canis* (3,2%), *Sarcocystis* spp. (3,2%) e *Strongyloides stercoralis* (0,8%). A frequência de *Ancylostoma* spp. e *T. vulpis* foi mais elevada em animais na faixa etária entre 24 e 48 meses ($P < 0,05$). O parasitismo por *Ancylostoma* spp. foi associado com a coabitação com outros cães ($P < 0,05$). Cães que foram consultados por veterinários e tratados com antiparasitários apresentaram menor frequência de parasitismo ($P < 0,05$). Conclui-se que os cães domiciliados albergam parasitos com potencial de transmissão zoonótica e que os médicos veterinários têm um papel fundamental no controle e profilaxia das zoonoses parasitárias.

Palavras-chave: cães, diagnóstico coproparasitológico, parasitos intestinais, zoonose, anti-helmíntico.

GASTRINTESTINAL PARASITES INFECTIONS IN DOMICILED DOGS AND IMPLICATIONS IN ZOONOTIC TRANSMISSION

ABSTRACT

Considering the importance of parasites in dogs to public health, this study aimed to determine the prevalence of intestinal parasites in dogs domiciled and evaluate the risk factors involved in its epidemiology and zoonotic transmission. Stool samples from 123 dogs were analyzed by the Willis-Mollay and spontaneous sedimentation methods, in order to determine the prevalence of intestinal parasites. A questionnaire was used to obtain information about the animals and street access, coexistence with other animals, veterinary assistance and antihelmintic drugs usage. Hookworm were detected (34.9%), *Trichuris vulpis* (13.8%), *Cystoisospora* spp. (4.0%), *Toxocara canis* (3.2%), *Sarcocystis* spp. (3.2%) and *Strongyloides stercoralis* (0.8%). The frequency of *Ancylostoma* spp. and *T. vulpis* was higher in animals aged between 24 and 48 months ($P < 0.05$). Parasitism by *Ancylostoma* spp. was associated with cohabitation with others dogs ($P < 0.05$). Dogs that have been in veterinary care and under antiparasitic treatment showed lower frequency of parasitism ($P < 0.05$). We conclude that

¹ União do Ensino do Sudoeste do Paraná, Contato principal para correspondência.

² Universidade Federal do Sergipe

domiciled dogs can harbor potencial zoonotic parasites transmission and that veterinarians have an important role in the parasitic zoonoses control and profilaxy.

Keywords: dogs, coproparasitological diagnosis, intestinal parasites, zoonosis, anti-helminthic.

INFECCIONES PARASITÁRIAS GASTRINTESTINALES EN PERROS DOMICILIADOS Y SUS IMPLICACIONES EN LA TRANSMISIÓN ZONÓTICA

RESUMEN

Considerada la importancia de las parasitosis para la salud pública, el objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de parásitos intestinales en perros domiciliados y evaluar los factores de riesgo envueltos en la epidemiología y la transmisión zoonótica de estas parasitosis. Fueron examinadas 123 muestras de heces de perros por métodos de Willis-Mollay y sedimentación espontánea, para determinar la frecuencia de parasitosis intestinales. Un cuestionario fue utilizado para obtener informaciones sobre las características de los animales, acceso a la calle, relación con otros animales, visita veterinaria y la utilización de antiparasitarios. Fueron detectados ancilostomideos (34,9%), *Trichuris vulpis* (13,8%), *Cystoisospora* spp. (4%), *Toxocara canis* (3,2%), *Sarcocystis* spp. (3,2%) e *Strongyloides stercoralis* (0,8%). La elevada frecuencia de *Ancylostoma* spp. e *T. vulpis* fue en animales entre 24 y 48 meses ($P < 0,05$). El parasitismo por *Ancylostoma* spp. fue asociado con las relaciones entre otros perros ($P < 0,05$). Los perros que fueron atendidos por veterinarios y recibieron antiparasitarios, presentaron menor frecuencia de parasitismo ($P < 0,05$). Se puede concluir que los perros domiciliados albergan parásitos con potencial zoonótico y que los veterinarios tienen un papel fundamental en el control y profilaxis de las zoonosis parasitarias.

Palabras clave: perros, diagnóstico coproparasitológico, parásitos intestinales, zoonosis, antihelmíntico.

INTRODUÇÃO

Os cães são os animais de estimação que mais convivem com o ser humano, e sua companhia pode trazer benefícios à saúde, visto que as pessoas que convivem com estes animais apresentam diminuição de problemas relacionados à pressão arterial, níveis de colesterol e uso de medicamentos, em comparação com pessoas que não possuem animais de estimação (1). Entretanto, o contato entre os cães e o ser humano impõe a necessidade de maiores cuidados com a saúde desses animais, uma vez que podem representar uma importante fonte de agentes responsáveis por zoonoses, pois os cães podem ser portadores assintomáticos de diversas espécies de helmintos e protozoários intestinais que, ao serem eliminados pelas fezes, contaminam o ambiente e posteriormente o ser humano, principalmente as crianças (2). A maioria dos estudos sobre parásitos com potencial zoonótico isolados de cães relata a prevalência dos helmintos *Ancylostoma* spp., *Toxocara canis*, *Trichuris vulpis* e *Dipylidium caninum*, e os protozoários *Giardia duodenalis* e *Cryptosporidium* spp. (3,4). *Ancylostoma braziliense* e *Ancylostoma caninum* são importantes agentes das síndromes larva migrans cutânea (LMC) e enterite eosinofílica, enquanto *T. canis* e *T. vulpis* são agentes etiológicos da larva migrans visceral (LMV) (5,6). Tanto a LMC como a LMV ocorrem devido à existência de solos contaminados por ovos ou larvas de parásitos intestinais de cães. O Brasil é um país tropical e, por isso possui condições ideais de temperatura (15 a 30°C) e umidade para desenvolvimento dos ovos e manutenção das larvas no solo, favorecendo a transmissão da síndrome *Larva Migrans* (7).

As zoonoses parasitárias têm sido verificadas em todo o mundo e vários autores têm enfatizado que, para o controle dessas parasitoses, é necessário dispor de métodos de diagnóstico sensíveis, de um sistema apropriado de investigação e acompanhamento, e de educação sanitária cuja responsabilidade é principalmente dos médicos veterinários (8,9).

O presente trabalho teve como objetivo determinar a prevalência das parasitoses intestinais de cães domiciliados e identificar os fatores que interferem na epidemiologia e transmissão zoonótica dessas infecções.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no município de Dois Vizinhos, Paraná, Brasil (25° 45' 0" S, 53° 3' 25" W), que possui uma população de 36.198 habitantes. O clima da região é subtropical (Cfa) com chuvas bem distribuídas durante o ano e verões quentes. A média das temperaturas dos meses mais quentes é superior a 30°C, e a dos meses mais frios é inferior a 18°C, com umidade relativa do ar de 65% e densidade pluviométrica de 2.100mm por ano (10,11).

Foi calculado o número necessário de amostras de animais para estimar a prevalência de parasitos intestinais de cães domiciliados. O número de amostras de animais calculados com 5% de significância foi de 57 cães (12); porém, 123 cães domiciliados (83 machos e 40 fêmeas) foram utilizados no estudo. Oitenta e sete casas da área urbana de Dois Vizinhos foram visitadas para coleta de fezes dos animais, no período de março a junho de 2011.

Todos os procedimentos adotados no presente estudo foram avaliados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da União de Ensino do Sudoeste do Paraná (UNISEP) e os participantes que aceitaram a pesquisa assinaram, após a explicação dos procedimentos, um termo de consentimento livre esclarecido.

Um questionário foi usado para obter informações sobre as características dos animais como sexo, idade e raça, bem como acesso à rua, coabitação com outros animais, visita ao veterinário e uso de antiparasitários. Em cada casa, foram coletadas amostras de fezes, imediatamente após eliminação espontânea, de todos os cães pertencentes ao proprietário. Após a coleta, as amostras de fezes foram mantidas sob refrigeração (4°C) e analisadas em 24 horas. Primeiramente foi realizada uma análise macroscópica das fezes para verificar consistência, presença de sangue ou muco e também de possíveis formas parasitárias (proglotes ou nematódeos adultos). Em seguida, cada amostra foi submetida à análise microscópica para pesquisa de ovos, cistos e oocistos de parasitos pelos métodos de Willis-Mollay e sedimentação espontânea (13). Os resultados dos exames parasitológicos foram entregues para os proprietários em uma segunda visita.

A associação entre as infecções parasitárias e os fatores epidemiológicos foram verificados pelo teste de χ^2 de Pearson ou Exato de Fischer, utilizando-se o software EpiInfo 7 (14), considerando significativos os valores de $P < 0,05$.

RESULTADOS

Técnicas coproparasitológicas foram usadas para determinar a frequência de parasitos intestinais de 123 cães domiciliados no Estado do Paraná. Parasitos intestinais foram encontrados em 60,1% dos cães estudados. Dentre os parasitos isolados, 34,9% (43/123) foram identificados como *Ancylostoma* spp., 13,8% (17/123) como *T. vulpis*, 4% (5/123) como *Cystoisospora* spp., 3,2% (4/123) como *T. canis*, 3,2% (4/123) como *Sarcocystis* spp. e 0,8% (1/123) como *Strongyloides stercoralis*. Cães albergando um único gênero de parasito foram mais comuns (94,3%) do que animais parasitados por mais de um gênero de parasito (5,7%). A associação mais comum foi entre *Ancylostoma* spp. e *T. vulpis*, ambos parasitos hematófagos.

No que se refere ao gênero dos animais, não foi observada diferença estatisticamente significativa na frequência de parasitismo entre machos e fêmeas (Tabela 1). Com relação à idade, apenas a frequência de *Ancylostoma* spp. e *T. vulpis* foi significativamente mais elevada em animais na faixa etária entre 24 e 48 meses ($P < 0,05$). Embora para alguns parasitos os dados absolutos sugiram uma frequência aparentemente mais elevada de parasitos intestinais em cães sem raça definida, a análise estatística dos dados revelou que essa diferença não foi significativa.

A frequência de parasitismo em cães domiciliados com acesso ou sem acesso à rua também não diferiu estatisticamente. Em relação à coabitação com cães e gatos, as análises revelaram que a coabitação com gatos não influenciou na frequência de parasitismo, mas a coabitação com cães foi relacionada à infecção por *Ancylostoma* spp. ($P < 0,05$). Cães que foram consultados por veterinários apresentaram menor frequência de infecções por *T. canis* ($P < 0,05$). Além disso, cães que receberam tratamento antiparasitário periodicamente apresentaram menor frequência de infecções por *Ancylostoma* spp., *T. canis* e *T. vulpis* ($P < 0,05$).

Tabela 1. Frequência de infecções por helmintos gastrintestinais em cães domiciliados de acordo com o sexo, idade, raça, acesso à rua, coabitação com cães e gatos, visita ao veterinário e uso de antiparasitários.

	<i>Ancylostoma</i> spp.		<i>Toxocara canis</i>		<i>Trichuris vulpis</i>	
	Negativo N (%)	Positivo N (%)	Negativo N (%)	Positivo N (%)	Negativo N (%)	Positivo N (%)
Fêmea	24 (60,0)	16 (32,7)	39 (97,5)	1 (2,5)	34 (85,0)	6 (15,0)
Macho	56 (67,5)	27 (32,5)	79 (95,2)	4 (4,8)	72 (86,7)	11 (13,3)
Faixa etária						
0 a 24 meses	31 (68,9)	14 (31,1) ^b	41 (91,1)	4 (8,9)	40 (88,9)	5 (11,1) ^b
24 a 48 meses	25 (54,3)	21 (45,7) ^a	45 (97,8)	1 (2,2)	35 (76,1)	11 (23,9) ^a
48 a 72 meses	12 (60,0)	8 (40,0) ^b	20 (100,0)	0 (0,0)	19 (95,0)	1 (5,0) ^b
≥ 72 meses	12 (100,0)	0 (0,0) ^b	12 (100,0)	0 (0,0)	12 (100,0)	0 (0,0) ^b
Com raça definida	12 (57,1)	9 (42,9)	20 (95,2)	1 (4,8)	18 (85,7)	3 (14,3)
Sem raça definida	68 (66,7)	34 (33,3)	98 (96,1)	4 (3,9)	88 (86,3)	14 (13,7)
Sem acesso à rua	45 (60,8)	29 (39,2)	73 (98,6)	1 (1,4)	63 (85,1)	11 (14,9)
Com acesso à rua	35 (72,9)	13 (27,1)	45 (93,8)	3 (6,3)	43 (89,6)	5 (10,4)
Não coabita com cães	60 (78,9)	16 (21,1) ^b	72 (94,7)	4 (5,3)	66 (86,8)	10 (13,2)
Coabita com cães	20 (42,6)	27 (57,4) ^a	46 (97,9)	1 (2,1)	40 (81,5)	7 (14,9)
Não coabita com gatos	74 (67,3)	36 (32,1)	105 (95,5)	5 (4,5)	94 (85,5)	16 (14,5)
Coabita com gatos	6 (46,2)	75 (53,8)	13 (100,0)	0 (0,0)	12 (92,3)	1 (7,7)
Visita ao veterinário						
Há menos de 1 ano	26 (70,3)	11 (29,7)	35 (94,6)	2 (5,4) ^b	32 (86,5)	5 (13,5)
Há mais de 1 ano	47 (63,5)	27 (36,5)	74 (100,0)	0 (0,0)	65 (87,8)	9 (12,2)
Nunca	7 (58,3)	5 (41,7)	9 (75,0)	3 (25,0) ^a	9 (75,0)	3 (25,0)
Uso de antiparasitário						
Há menos de 1 ano	35 (72,9)	13 (27,1) ^b	46 (95,8)	2 (4,2) ^b	45 (93,8)	3 (6,3) ^b
Há mais de 1 ano	41 (60,3)	27 (39,7) ^a	68 (100,0)	0 (0,0)	55 (80,9)	13 (19,1) ^a
Nunca	0 (0,0)	2 (100) ^a	1 (50,0)	1 (50,0) ^a	1 (50,0)	1 (50,0) ^a

N: número; ^{ab} Valores seguidos de letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($P < 0,05$).

DISCUSSÃO

Neste estudo, foi investigada a frequência de infecções parasitárias em cães domiciliados e os fatores de risco envolvidos nessas infecções, a fim de obter informações importantes para orientar a conduta de clínicos veterinários da região estudada. Constatou-se que predominaram nos cães as infecções por nematódeos, sendo identificados *Ancylostoma* spp., *T. canis*, *T. vulpis* e *S. stercoralis*, todos parasitos de elevado potencial zoonótico. *Ancylostoma* foi o gênero mais comumente detectado tanto em cães com infecção única como nos poliparasitados. Estudos previamente conduzidos em várias localidades do Brasil fazem referência a *Ancylostoma* spp. como a espécie mais frequente em infecções de cães domiciliados (3,4), o que favorece a transmissão da síndrome LMC, considerando a possível contaminação do solo da residência com ovos de *Ancylostoma* spp. que evoluirão para larvas de terceiro estágio infectantes. A penetração dessas larvas na pele humana provoca uma dermatite pruriginosa, especialmente em crianças que têm hábitos de brincar em terra ou areia, constituindo um importante problema de saúde pública. *Ancylostoma* spp. são nematódeos hematófagos do intestino delgado de cães e, neste estudo, os cães adultos foram os mais acometidos por esses parasitos. A infecção dos animais ocorre tanto pela penetração cutânea como pela ingestão de larvas de terceiro estágio, juntamente com alimentos e água. Nos cães, esses parasitos causam deficiência de ferro, anemia hipocrômica microcítica, apatia e perda de peso.

Trichuris vulpis foi a segunda espécie de parasito mais prevalente nos cães domiciliados avaliados neste estudo. *Trichuris vulpis* é um nematódeo parasito do intestino grosso de cães cuja infecção se dá pela ingestão de ovos contendo larvas de primeiro estágio. Após a ingestão dos ovos, as larvas são liberadas e penetram nas glândulas da mucosa cecal, onde iniciam a fase parasitária se alimentando de pequenas quantidades de sangue, líquidos tissulares e do epitélio da mucosa, podendo levar à colite (15). Entretanto, no presente estudo os animais que estavam infectados apenas por *T. vulpis* apresentaram-se assintomáticos. *Trichuris vulpis* também é agente etiológico da LMV, sendo que os indivíduos infectados podem apresentar hepatomegalia, pneumonia e eosinofilia (5).

Outros dois parasitos responsáveis por infecções zoonóticas foram detectados nas fezes dos cães analisados: *T. canis* e *S. stercoralis*. Ambas as espécies são encontradas no intestino delgado de cães. *T. canis* foi prevalente em cães até 24 meses. Apesar da infecção por *T. canis* ser frequente em cães jovens, cães adultos podem ser infectados e contribuir para a contaminação do ambiente (16). A infecção por *T. canis* em seres humanos ocorre pela ingestão de ovos larvados presentes no solo ou em alimentos contaminados. Como o parasito não consegue atingir a maturidade nesses hospedeiros, as larvas permanecem migrando erratically nos órgãos internos, causando a LMV ou a larva migrans ocular (17).

Strongyloides stercoralis foi encontrado em um cão de dois anos que havia sido tratado com corticoide e no momento da visita para coleta das fezes era assintomático. A infecção por *S. stercoralis* ocorre por penetração ativa das larvas na pele ou ingestão das larvas, mas a maioria das infecções caninas é breve e assintomática. Apesar dos cães eliminarem larvas por apenas um curto período de tempo, a presença de cães infectados em residências é considerada um sério problema de saúde pública devido ao seu potencial zoonótico (18).

Constatou-se que os cães que foram consultados por veterinários apresentaram menor frequência de parasitismo, principalmente por *T. canis*. Isso demonstra claramente a importância do médico veterinário no controle das zoonoses parasitárias. Nos consultórios, os veterinários podem realizar exames coproparasitológicos e identificar os parasitos que infectam os cães e, assim, podem prescrever um antiparasitário adequado para cada animal. Neste estudo, a frequência de parasitoses foi menor em cães que haviam sido tratados com antiparasitários há menos de um ano, demonstrando que os tratamentos antiparasitários estão exercendo um papel relevante na redução do parasitismo e, conseqüentemente, da

contaminação ambiental. Entretanto, é necessário salientar a importância dos animais assintomáticos como importantes fontes de contaminação ambiental, pois esses animais permanecem eliminando formas evolutivas que podem acumular-se no ambiente, infectando outros animais ou os seres humanos.

CONCLUSÃO

Conclui-se que os cães domiciliados albergam espécies de parasitos com potencial zoonótico, sendo muitos deles assintomáticos. *Ancylostoma* spp. e *T. vulpis* foram os parasitos intestinais mais frequentemente encontrados tanto em infecções únicas como em infecções mistas. Cães consultados por médicos veterinários e que receberam tratamento antiparasitário apresentaram menor frequência de parasitismo, destacando a importância desses profissionais no controle dessas infecções e na prevenção da transmissão dos parasitos com potencial zoonótico no domicílio.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem a colaboração do Prof. Dr. Aristeu Vieira da Silva pela análise estatística.

REFERÊNCIAS

1. Headey B, Krause P. Health benefits and potencial budget savings duo to pets. Australian and German survey results. Australian Social Monitor. 1999;2;37-41.
2. Weese JS, Peregrine AS, Armstrong J. Occupational health and safety in small animal veterinary practice: Part II-Parasitic zoonotic diseases. Can Vet J. 2002;43:799-02.
3. Katagiri S, Oliveira-Sequeira TC. Prevalence of dog intestinal parasites and risk perception of zoonotic infection by dog owners in São Paulo State, Brazil. Zoonoses Public Health. 2008;55:406-13.
4. Martins CM, Barros C, Bier D, Marinho AP, Figueiredo JM, Hoffmann JL, Molento MB, Biondo AW. Dog parasite incidence and risk factors, from sampling after one-year interval, in Pinhais, Brazil. Rev Bras Parasitol Vet. 2012;21:101-6.
5. Sakano T, Hamamoto K, Kobayashi Y, Sakata Y, Tsuji M, Usui T. Visceral larva migrans caused by *Trichuris vulpis*. Arch Dis Child. 1980;55:631-3.
6. Bowman DD, Montgomery SP, Zajac AM, Eberhard ML, Kazacos KR. Hookworms of dogs and cats as agents of cutaneous larva migrans. Trends Parasitol. 2010;26:162-7.
7. Lima JL, Andrade LD, Aguiar-Santos AM, Alves LC, Medeiros Z. Contaminação por ovos de *Toxocara* sp. em solo no município de Moreno, Estado de Pernambuco, Brasil. Braz J vet Res anim Sci. 2005;42(5):339-46.
8. Katagiri S, Oliveira-Sequeira T.C.G. Zoonoses causadas por parasitas intestinais de cães e o problema do diagnóstico. Arq. Inst. Biol. 2007;74:175-84.

9. Palmer CS, Robertson ID, Traub RJ, Rees R, Thompson RC. Intestinal parasites of dogs and cats in Australia: the veterinarian's perspective and pet owner awareness. *Vet J.* 2010;183:358-61.
10. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística: Contagem da população; 2007 [cited 2012 jun 08]. Available from: <http://www.ibge.gov.br/home>.
11. CEPAGRI. Clima dos municípios paulistas. Campinas; 2012 [cited 2012 nov 14]. Available from: <http://www.cpa.unicamp.br>.
12. Win episcopo 2. Clive: University of Edinburgh. 2000 [cited 2010 nov 25]. Available from: <http://www.clive.ed.ac.uk/winepiscope>.
13. Monteiro SG. Capítulo. In: Monteiro, SG. Parasitologia na Medicina Veterinária. São Paulo: ROCA, 2011. p.356.
14. Dean AG, Arner TG, Sunki GG, Friedman R, Lantinga M, Sangam S, Zubieta JC, Sullivan KM, Brendel KA, Gao Z, Fontaine N, Shu M, Fuller G, Smith DC, Nitschke DA, and Fagan RF. Epi Info™, a database and statistics program for public health professionals. Atlanta; 2011 [cited 2011 out 23]. Available from: <http://www.cdc.gov/epiinfo>.
15. Hendrix CM, Blagburn BL, Lindsay DS. Whipworms and intestinal threadworms. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1987;17:1355-75.
16. Overgaauw PA. Aspects of *Toxocara* epidemiology: toxocarosis in dogs and cats. *Crit Rev Microbiol.* 1997;23:233-51.
17. Parsons JC. Ascarid infections of cats and dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1987;17:1307-39.
18. Mansfield LS, Schad GA. *Strongyloides stercoralis* infection in IgA-deficient dogs. *Am J Trop Med Hyg.* 1992;47:830-6.

Recebido em: 07/04/2013

Aceito em: 10/04/2015

SINCRONIZAÇÃO DE RECEPTORAS NO DIESTRO PARA UTILIZAÇÃO EM PROGRAMA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQUINOS

Renata Tenório Ribeiro de Souza¹
João Guilherme de Góis Fontes²
Mariana Furtado Zorzetto³
Adelcio Barbosa da Silva Júnior⁴
Frederico Ozanam Papa⁵
Marco Antônio Alvarenga⁵
José Antônio Dell'aqua Júnior⁵

RESUMO

Um dos grandes problemas da técnica de transferência de embriões continua sendo a seleção de éguas aptas para serem utilizadas como receptoras de embrião e aumentar o seu período de utilização é sempre um desafio. A utilização de receptoras acíclicas sincronizadas pela reposição hormonal apresenta taxas de gestação similares a receptoras ciclantes. O objetivo do presente trabalho foi estudar o efeito da utilização do estrógeno e progesterona em receptoras de embrião na fase de diestro. Foram utilizadas 60 éguas divididas em três grupos experimentais, sendo grupo controle, grupo acíclicas preparadas com a administração de 20mg de 17 β estradiol e 3g de progesterona natural injetável em veículo de liberação lenta e o grupo diestro receptoras entre o D8 e D14 do ciclo estral (diestro) preparadas com a administração de 50mg de 17 β estradiol e 3g de progesterona natural injetável em veículo de liberação lenta. Foi avaliada a porcentagem de prenhez e valor médio e desvio padrão do grau máximo de edema uterino de receptoras que ficaram prenhes ou ficaram vazias nos diferentes grupos, porcentagem de receptoras do grupo diestro que apresentaram grau de edema uterino e taxa de prenhez em relação ao grau de edema, média e desvio padrão do grau de edema uterino e número de animais em relação ao dia do início do protocolo e respectiva taxa de prenhez das éguas do grupo diestro. Os dois protocolos de sincronização no grupo controle e grupo acíclicas com 80% de prenhez foram eficazes para a preparação de éguas como receptoras de embrião. O protocolo utilizado no grupo diestro obteve a taxa de gestação de 40% podendo ser uma alternativa estratégica em um programa de TE, desde que a receptora se encontre após o D10 do diestro e apresente grau de edema uterino superior a 2, após a aplicação do 17 β estradiol.

Palavras-chave: diestro, estradiol, progesterona, sincronização, transferência de embrião.

¹ Mestranda em Reprodução Animal pelo Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Distrito de Rubião Junior, s/n, CEP: 18618-000, Botucatu-SP. renatatenorioo@hotmail.com.br; (79) 3211 7429

² Mestre em Alimentação e Nutrição de Ruminantes. Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão - SE

³ Doutoranda em Reprodução Animal pelo Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista.

⁴ Médico Veterinário responsável pela D.A. Vida Equine Reproduction, Aracaju- SE

⁵ Professor do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, da FMVZ-UNESP-Botucatu.

SYNCHRONIZATION OF ESTRUS IN THE RECIPIENT FOR USE IN PROGRAM EMBRYO TRANSFER IN HORSES

ABSTRACT

A major problem of the technique of embryo transfer remains the selection of suitable mares to be used as embryo recipients and increase their usage period is always a challenge. Knowing that the use of acyclic receptor synchronized by hormone replacement shows pregnancy rates similar to receiving cyclic mares. The aim of this work was to study the effect of the use of estrogen and progesterone receptors in embryo at the stage of estrus. 60 mares were used divided into three experimental groups and control group, acyclic prepared with the administration of 20 mg of 17 β estradiol and 3g of natural progesterone injection in vehicle slow release and the group receiving diestrus between D8 and D14 of the estrous cycle (diestrus) prepared by administering 50 mg of estradiol, and 17 β 3g natural progesterone injection in slow release vehicle. Being evaluated pregnancy rate and mean value and standard deviation of the maximum degree of uterine edema of recipients who were pregnant or became empty in the different groups, the percentage of recipients diestrus group that showed uterine edema and pregnancy rate in relation to the degree of edema, mean and standard deviation of the degree of uterine edema and numbers of animals in relation to the day of the beginning of the protocol and rate of pregnancy in mares group diestrus. The two synchronization protocols in the control group and acyclic group with 80% pregnancy were effective for the preparation of mares as embryo recipients. The protocol used in diestrus group obtained pregnancy rate of 40% could be an alternative strategy in a program TE, provided the receptor is found after D10 diestrus and present uterine edema grade greater than 2, after application 17 β estradiol.

Keywords: diestrus, embryo transfer, estradiol, progesterone, synchronization.

LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO EN EL RECEPTOR PARA SU USO EN LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES PROGRAMA EN CABALLOS

RESUMEN

Un problema importante de la técnica de transferencia de embriones sigue siendo la selección de yeguas adecuadas para que puedan ser utilizadas como receptoras de embriones y aumentar su periodo de uso es siempre un desafío. Sabiendo que el uso del receptor acíclico sincronizado por reemplazo hormonal muestra las tasas de embarazo similares a recibir ciclistas. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la utilización de los receptores de estrógeno y progesterona en embrión en la fase de estro. 60 yeguas que se dividieron en tres grupos experimentales y el grupo de control, acíclicos preparado con la administración de 20 mg de 17 β estradiol y 3 g de inyección de progesterona natural en el vehículo de liberación lenta y el grupo que recibió el diestro entre D8 y D14 del ciclo estral (diestro) preparado por la administración de 50 mg de estradiol y 17 de inyección de progesterona natural 3g β en un vehículo de liberación lenta. Siendo evaluada tasa de embarazo y el valor y la desviación estándar del máximo grado de edema uterino de las receptoras que estaban embarazadas o se convirtieron en vacío en los diferentes grupos de media, el porcentaje de receptoras grupo diestro que mostró edema uterino y la tasa de embarazo en relación con el grado edema, media y desviación estándar del grado de edema uterino y el número de animales en relación con el día del comienzo del protocolo y la velocidad de la gestación en yeguas diestro grupo. Los dos protocolos de sincronización en el grupo control y el grupo acíclico con 80% de embarazo fueron eficaces para la preparación de yeguas como receptoras de embriones. El

protocolo utilizado en el grupo diestro obtuvo tasa de embarazo del 40% podría ser una estrategia alternativa en un programa de TE, siempre y cuando la receptora se encuentre después de D10 diestro y presente edema uterino de grado mayor que 2, después de la aplicación 17 β estradiol.

Palabras clave: diestro, estradiol, progesterona, sincronización, transferencia de embriones.

INTRODUÇÃO

É notório o crescimento e desenvolvimento do mercado de equinos no país. A busca por melhores resultados de fertilidade na espécie vem aumentando assim como interesse pela técnica de transferência de embriões (TE).

A seleção de éguas aptas a serem utilizadas como receptoras continua sendo o maior problema em um programa de TE (DOWSETT e WOODWARD; 1989). Aumentar o período útil de utilização de receptoras é sempre um desafio que possibilita recompensa na redução de custos da técnica de TE (JASKO, 2002).

A relação ideal de 1:1 (para cada doadora uma receptora) se mostra como uma interessante alternativa para o melhor aproveitamento das éguas receptoras diminuindo os altos valores da transferência de embriões possibilitando a técnica se difundir mais rapidamente (CAIADO, 2007).

A utilização de receptoras acíclicas sincronizadas pela reposição hormonal apresentam taxas de gestação similares a receptoras ciclantes (DELL'AQUA JR. et al., 2009).

A égua ciclante se encontra apta a receber um embrião até o nono dia após sua ovulação, assim sendo, para a receptora estar apta novamente para uma TE, seria necessário mais oito a dez dias em média para ela ovular (após aplicação de luteolítico) e no mínimo mais 3 ou 4 após a ovulação para apresentar condição uterina adequada para ser utilizada como receptora. Desta forma, são 12 a 15 dias em que a receptora fica indisponível no lote. A diminuição desse intervalo pode ser uma alternativa para minimizar os custos inerentes à manutenção das receptoras.

Em virtude disso, o presente trabalho tem como objetivo estudar o efeito da utilização do estrógeno e progesterona em receptoras de embrião na fase de diestro.

MATERIAL E MÉTODOS

Local da Pesquisa

O experimento foi conduzido durante a estação reprodutiva 2012/2013, junto a Central de Reprodução Equina - D.A. Vida Equine Reproduction, localizada no Haras Fábio José, Lagarto-SE, latitude -10°55'02'' e longitude -37° 39'00''.

Animais e Divisão dos Grupos Experimentais

Foi utilizado um total de 60 éguas mestiças como receptoras com idade entre 4 e 10 anos, escore corporal classificado em bom e regular, não possuindo quaisquer anormalidades no trato reprodutivo que pudessem ser detectadas por exame de palpação retal, citologia uterina ou ultrassonografia transretal. Destas, 40 éguas estavam em plena atividade reprodutiva e 20 em anestro. Seis garanhões com fertilidade comprovada foram utilizados como doadores de sêmen para a realização das inseminações de 15 éguas puras da raça Quarto de Milha entre 6 e 12 anos, utilizadas como doadoras para obtenção dos embriões. Todos os animais eram mantidos em sistema de confinamento com acesso a água, silagem de milho e sal mineral à vontade, tendo sua alimentação complementada com ração comercial peletizada.

Grupos experimentais:

Todas as éguas tiveram seu ciclo estral acompanhado por palpação retal e ultrassonografia para determinação da fase estral que se encontravam estro: crescimento folicular e presença de edema uterino avaliado em escore de 0 a 3 sendo 0 ausente e 3 máximo, observação efetuada entre a bifurcação dos cornos uterinos. No diestro: presença do corpo lúteo ou anestro: inatividade ovariana. A ultra-sonografia foi realizada com auxílio de ultra-som Mindrayn 4900, com transdutor de 5 MHZ. Foram testados os seguintes grupos:

Grupo Controle: 20 receptoras cíclicas ovuladas que foram inovuladas entre os dias 3 a 8 do ciclo estral, onde o D0 é o dia da ovulação. Tiveram seu ciclo acompanhado por palpação retal e ultrassonografia. Ao atingirem folículo de aproximadamente 35 mm e presença de edema endometrial mínimo grau 2 foram induzidas com 1,0 mg de acetato de deslorelina I.M.

Grupo Acíclicas: 20 receptoras foram preparadas com a administração de 20mg de 17 β estradiol no dia da ovulação da doadora e dois dias após, o escore do edema uterino era avaliado e então recebiam uma administração de 3g de progesterona natural injetável em veículo de liberação lenta, e foram inovuladas entre os dias 3 a 8 a partir da aplicação da progesterona.

Grupo Cíclicas em Diestro: 20 receptoras cíclicas entre o D8 e o D14 do ciclo estral (Diestro), foram preparadas com a administração de 50mg de 17 β estradiol no dia da ovulação da doadora e dois dias após, o escore do edema uterino era avaliado e então recebiam uma administração de 3g de progesterona natural injetável em veículo de liberação lenta, e foram inovuladas entre os dias 3 a 8 a partir da aplicação da progesterona.

Delineamento Experimental

Produção dos embriões

A colheita do sêmen foi realizada com auxílio de uma vagina artificial, o ejaculado filtrado, os parâmetros espermáticos aferidos e o sêmen diluído na proporção de 1:1 com extensor a base de leite desnatado (Botu-Sêmen[®]). Após 24 horas da indução da ovulação as éguas foram inseminadas com 1x10⁹ de espermatozoides moveis. A colheita dos embriões foi realizada no oitavo dia pós ovulação realizada com auxílio de uma sonda de Foley modelo Bivona[®] (Bivona Medical Technologies, Gary, IN, EUA) acoplada a um frasco de Ringer com Lactato de Sódio (J.P. Indústria Farmacêutica – Ribeirão Preto- SP). Sendo realizados três lavados uterinos de um litro/lavado para recuperação do embrião.

Os embriões obtidos foram classificados em escala de 1 a 5, de acordo com McKinnon e Squires (1988), em excelentes, bons, regulares, ruins e ovócitos não fecundados com auxílio de microscópio esterioscópico. Apenas os embriões considerados excelentes e bons foram transferidos.

Diagnóstico de Gestação

Quatro a seis dias após a inovulação foi efetuado o diagnóstico de gestação por ultrassonografia. Nos grupos das éguas acíclicas e cíclicas em diestro na confirmação da prenhez foi administrado mais uma aplicação de 3g de progesterona natural injetável em veículo de liberação lenta, e reaplicações a cada 14 dias até os 110 dias de gestação para manutenção da gestação.

Análise Estatística

Para análise das porcentagens de gestação entre os grupos estudados foi utilizado o teste de Fisher, e o teste de ANOVA seguido pelo teste de Tukey para as demais variáveis. A incidência do edema uterino em relação ao dia do início do tratamento no grupo de animais do diestro foi obitido pelo boxplot gerado pelo programa estatístico R. Todas as estatísticas efetuadas foram consideradas significantes quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Em relação à taxa de prenhez observada após a inovulação nos diferentes grupos estudados foi verificado que os grupos controle e de receptoras acíclicas apresentaram valores similares e significativamente maiores aos do grupo de éguas em diestro. O mesmo padrão estatístico também foi encontrado em relação ao grau máximo de edema uterino das receptoras que se tornaram prenhes após a inovulação ou ficaram vazias, de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1. Porcentagem de prenhez e valor médio e desvio padrão do grau máximo de edema de receptoras que se tornaram prenhes ou ficaram vazias nos diferentes grupos de receptoras controle, acíclicas e diestro.

	Grupo Controle	Grupo Acíclicas	Grupo Diestro	Valor de p
Taxa de Prenhez	16/20 (80%) ^a	16/20 (80%) ^a	8/20 (40%) ^b	p=0,02
Edema Prenhes	3±0 ^a	3±0 ^a	2,7±0,4 ^b	p=0,004
Edema Vazias	3±0 ^a	3±0 ^a	0,2±0,8 ^b	p=0,0001

^aEdema uterino avaliado em escore (0-3), sendo 0 ausente e 3 máximo.

^{ab}Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$).

No grupo experimental efetuado durante o diestro foi observado grande influência da taxa de gestação sobre a quantidade de edema uterino observado antes da administração da progesterona. Esse fato pode ser visualizado na tabela 2, onde 60% das éguas que apresentaram edema uterino graus 0 e 1, nenhuma se tornou gestante após a inovulação, já os outros 40% que apresentaram edema uterino graus 2 e 3 no mesmo período, todos 100% mantiveram a prenhez.

Tabela 2. Porcentagem de receptoras do grupo em diestro que apresentaram grau de edema uterino entre 0 e 1 ou 2 e 3 e taxa de prenhez em relação ao grau de edema.

Grau Edema Uterino	% Receptoras	Taxa de prenhez
0-1	(12/20) 60% ^a	(0/12) 0% ^a
2-3	(8/20) 40% ^a	(8/8) 100% ^b

^aEdema uterino avaliado em escore (0-3), sendo 0 ausente e 3 máximo.

^{ab}Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$).

O grau de edema uterino apresentou grande variação no grupo dos animais em diestro após a aplicação do 17 β estradiol, esse fato contribuiu na obtenção de diferentes taxas de prenhez em relação ao dia do início do tratamento e ao grau de edema uterino promovido, dados visualizados na tabela 3. A concentração dos maiores índices de edema uterino nesse grupo foi evidenciada a partir do D10 e se mostrou mais constante ao se aproximar do D14, dados demonstrados na Figura 1.

Tabela 3. Média e desvio padrão do grau de edema uterino e números de animais em relação ao dia do início do protocolo e respectiva taxa de prenhez das éguas receptoras do grupo em diestro.

Início do protocolo	n	Edema uterino	Taxa de Prenhez (%)
D8	2	0±0	(0/2) 0
D9	5	0,4±0,5	(0/5) 0
D10	8	1,7±1,5	(5/8) 62,5
D11	0	----	----
D12	4	1,5±0,7	(2/4) 50,0
D13	0	----	----
D14	1	3±0	(1/1) 100

*Edema uterino avaliado em escore (0-3), sendo 0 ausente e 3 máximo.

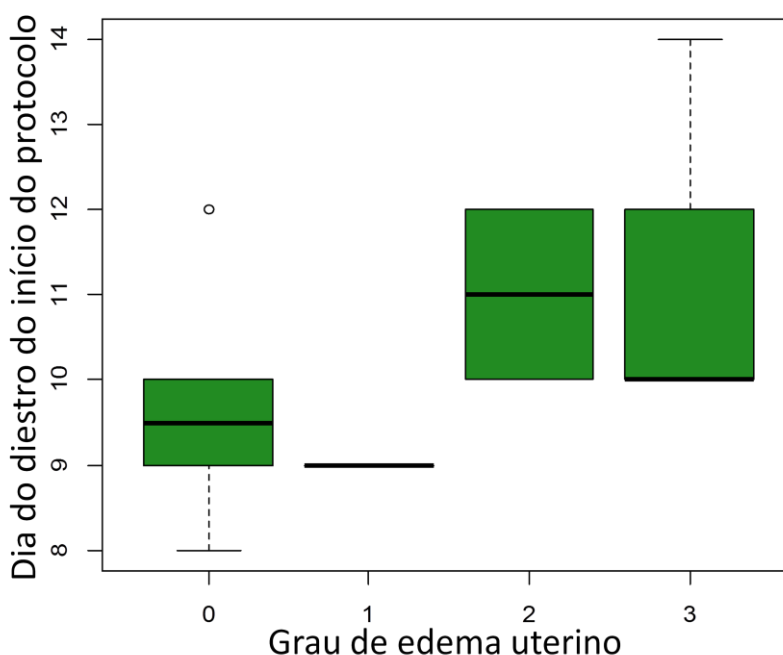


Figura 1. Gráfico ilustrativo da incidência de edema uterino em relação ao dia do início do tratamento no grupo de animais em diestro.

DISCUSSÃO

O presente trabalho utilizou a técnica não cirúrgica e teve índice de aproximadamente 62% de taxa de prenhez, valores superiores aos encontrados por Squires et al. (1982) e Iuliano et al. (1985) ambos de 46% demonstrando assim o aprimoramento da técnica de transferência não cirúrgica que devido a sua simplicidade se tornou o método mais utilizado na TE (HINRICHS, 1993).

Na nossa pesquisa foram comparados protocolos de sincronização de receptoras de embriões equinos para maximizar seu aproveitamento. Tendo como resultado de 80% na taxa de prenhez no grupo controle e no grupo anestro, já no grupo de receptoras no diestro tratadas a taxa de prenhez foi de 40%. Esses dados corroboram com os achados de Rocha Filho et al. (2004), Carnevale et al. (2005), Stout et al. (2006), Caiado et al. (2007), Kaercher et al. (2011), que também não observaram diferença estatística entre o grupo ciclante e o grupo em anestro, sendo uma possibilidade já colocada em prática por muitos médicos veterinários.

Como normalmente as éguas durante o período de diestro a partir do dia 8 permanecem sem utilidade reprodutiva até o próximo ciclo, o uso desse protocolo nos traz uma nova perspectiva para estes animais, tornando-os uma boa alternativa quando há poucas éguas receptoras disponíveis, confirmando assim uma boa alternativa de sincronização de receptoras de embriões, porém necessitando de mais pesquisas com a utilização deste protocolo, não deixando de considerar o resultado de 40% encontrado na pesquisa, pois estas receptoras não teriam como ser utilizadas mais rapidamente aguardando assim um novo ciclo estral.

A utilização de estrógeno e a avaliação do edema uterino após a aplicação se faz necessária, já que a elevação dos níveis de estrógenos durante a fase estral é responsável pela instalação do edema uterino (MCKINNON & CARNEVALE, 1993; BURATINI, 1997; MACHADO, 2004). Esse fato pode ser evidenciado, haja vista que a maioria dos animais que se tornaram prenhes no grupo iniciado no diestro apresentavam edema uterino 2 ou 3.

Foi observado que o edema uterino promoveu uma modificação do ambiente uterino que se mostrou fundamental para obtenção de resultados satisfatórios no grupo de diestro, pois 40% das éguas que foram utilizadas no protocolo, demonstraram edema de graus 2 e 3, e apresentaram 100% de prenhez, o mesmo não foi evidenciado em 60% das éguas desse grupo, pois provavelmente até aproximadamente o décimo dia do diestro os receptores para ligação do 17β estradiol não estão ativos, já que nesse período o grau de edema uterino gerado foi baixo ou ausente culminando com taxas de prenhez embrionária deficiente.

Uma alternativa interessante a ser testada nessa fase seria aplicação de um agente luteolítico, que possivelmente possa contribuir com a queda aguda da P4 e conseqüentemente ativar os receptores estrogênicos, pois segundo Allen, (2001), os efeitos da progesterona sobre as características morfológicas da cérvix e útero são eficazes somente após efeitos estrogênicos. De acordo com Hughes *et al.*, (1972) na fase do estro, a presença do estradiol é o principal hormônio ovariano produzido, sendo o responsável pelo aparecimento de edema e tônus uterino característicos, criando também receptores para progesterona e preparando o endométrio para uma possível gestação.

O edema uterino pelo efeito do estrógeno só se faz necessário antes da aplicação da progesterona, pesquisadores afirmam que éguas receptoras de embriões que apresentam edema endometrial no quinto dia pós-ovulação não devem ser utilizadas neste ciclo (SQUIRES *et al.*, 2003; SQUIRES; MCCUE; VANDERWALL, 1999). Samper (1997) afirma que o edema uterino é um indicador confiável da competência estrogênica do folículo dominante.

O efeito da progesterona em resposta ao edema uterino provocado pelo estrógeno, no qual a presença do edema durante o período inicial de gestação reflete uma baixa produção de progesterona (PELEHACH *et al.* 2002). Segundo Hayes *et al.* (1985), baixas concentrações de estrógeno tem maior importância do que altas concentrações de progesterona no desenvolvimento do endométrio homogêneo característico do diestro.

O fato de que os animais que estavam em uma fase do diestro mais tardia após o D10 apresentaram uma boa manifestação de edema uterino e conseqüentemente altas taxas de prenhez, apresentaram uma nova opção de utilização nos programas de TE.

CONCLUSÃO

O protocolo utilizado no grupo em diestro pode ser uma alternativa estratégica em programas de TE, desde que a receptora se encontre após o D10 do diestro e apresente grau de edema uterino superior a 2 após a aplicação do 17β estradiol.

REFERÊNCIAS

1. Allen WR. Luteal deficiency and mortality in the mare. *Rep Dom Anim.* 2001;36:121-31.
2. Buratini Jr J. Avaliação da dinâmica folicular em éguas da raça Mangalarga Marchador utilizando ultrassonografia e as concentrações plasmáticas de Progesterona e hormônios Luteinizante [dissertação]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 1997. p. 27-39.
3. Caiado JR, Fonseca FA, Silva JFS, Fontes RS. Tratamento de éguas receptoras de embriões visando sua utilização no segundo dia pós-ovulação. *Rev Bras Zootec.* 2007;36:360-8.
4. Carnevale EM, Coutinho da Silva MA, Panzani D, Stokes JE, Squires EL. Factors affecting the success of oocyte transfer in clinical program for subfertile mares. *Theriogenology.* 2005;64:519-27.
5. Dell'Aqua JA, Chaves MMC, Medeiros ASL, Dell'aqua CPF, Papa FO, Alvarenga MA. Use of a new formulation of long acting progesterone in non cycling recipient mares [Internet]. São Paulo: ABRAVEQ - Associação Brasileira de Veterinários de Equídeos; 2009 [cited 2015 Abr 14]. Weva, 321. Available from: <http://www.itarget.com.br/newclients/abraveq2012/?p=2103>
6. Dowsett MA, Woodward RA, Boder DA. A study of nonsurgical embryo transfer in the mare. *Theriogenology.* 1989;31:631-42.
7. Hayes KEN, Pierson RA. Effects of estrus cycle and season on ultrasonic uterine anatomy in mares. *Theriogenology.* 1985;24:465-77.
8. Hinrichs K. Embryo transfer in the mare: a status report. *Anim Reprod Sci.* 1993;33:227-40.
9. Hughes JP, Stabenfeldt DH, Evans JW. Clinical and endocrine aspects of the estrous cycle of the mare. In: *Proceedings of the 18th Annual Conference of the American Association of Equine Practitioners*; 1972 Dec 4-6; San Francisco, CA. p. 119-52.
10. Iuliano MF, Squires EL, Cook VM. Effect of age of equine embryos and method of transfer on pregnancy rate. *J Anim Sci.* 1985;60:258-63.
11. Kaercher F, Siqueira M, Mercadante A, Figueiredo T, Weiss RR, Siqueira F, et al. Embryo transfer in non cycling Crioula and Quarter horse breeds treated with estradiol cypionate and long-acting progesterone. *Braz Arch Biol Technol.* 2011;54:1147-50.
12. Jasko DJ. Comparison of pregnancy rates following nonsurgical transfer of day 8 equine embryos using various transfer devices. *Theriogenology.* 2002;58:713-5.
13. Machado MS. Avaliação da dinâmica folicular em éguas superovuladas com extrato de pituitária equina e FSH equino purificado [dissertação]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 2004.
14. McKinnon AO, Carnevale EM. Ultrasonography. In: McKinnon AO. *Equine Reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger; 1993. p. 211-20.

15. Mckinnon AO, Squires EL. Ovariectomized steroid-treated mares as embryo transfer recipients and as a model to study the role of progestins in pregnancy maintenance. *Theriogenology*. 1988;29:1055-63.
16. Pelehach LM, Greaves HE, Porter MB, Desvougiers A. The role of estrogen and progesterone in the induction and dissipation of uterine edema in mares. *Theriogenology*. 2002;58:441-4.
17. Rocha Filho NA, Pessôa MA, Gioso MM, Alvarenga MA. Transfer of equine embryos into anovulatory recipients supplemented with short or long acting progesterone. *Anim Reprod Sci*. 2004;1:91-5.
18. Samper JC. Ultrasonographic appearance and the pattern of uterine edema to time ovulation in mares. *Proc Am Assoc Equine Pract*. 1997;43:189-91.
19. Squire, EL, Carnevale EM, Mccue PM, Bruemmer JE. Embryo technologies in the horse. *Theriogenology*. 2003;59:151-70.
20. Squires EL, Mccue PM, Vanderwall D. The current status of equine embryo transfer. *Theriogenology*. 1999;51:91-104.
21. Squires EL, Iuliano MF, Shideler RK. Factores affecting the sucess of surgical and nonsurgical equine embryo transfer. *Theriogenology*. 1982 ;17:35-41.
22. Stout TAE. Equine embryo transfer : review of developing potential. *Equine Vet J*. 2006;38:467-78.

Recebido em: 26/08/2013

Accito em: 10/04/2015

LEVEDURA ÍNTEGRA E AUTOLISADA COMO PRONUTRIENTE EM DIETAS DE TILÁPIA DO NILO DURANTE A FASE DE MASCULINIZAÇÃO

João Fernando Albers Koch¹
Luiz Edivaldo Pezzato²
Margarida Maria Barros³
Cristina Teresa Dias Ribeiro Koberstain⁴
Caroline Pelegrina Teixeira⁵
Ademir Calvo Fernandes Junior⁵
Fernando Kojima Nakagome⁵

RESUMO

A larvicultura é uma das fases mais importantes no cultivo de peixes, sendo responsável pela obtenção de animais em quantidade e qualidade para a produção. A variedade GIFT originou-se de rigoroso processo de seleção genética, apresentando rusticidade e excelente desempenho produtivo. Atualmente, a utilização de levedura íntegra, autolisada e seus derivados são recomendados para comporem rações para organismos aquáticos. A partir do exposto, esta pesquisa teve por objetivo avaliar o desempenho produtivo, composição bromatológica e efetividade da masculinização de alevinos de tilápia do Nilo, variedade GIFT. A pesquisa foi realizada no laboratório de tilapicultura do Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista (CAUNESP), Jaboticabal-SP. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto por cinco tratamentos: 1,0 e 2,0% de levedura íntegra ou autolisada, além de um tratamento controle (ausente de suplementação de levedura), com quatro repetições. Os peixes foram alimentados cinco vezes ao dia, por 30 dias, sendo as dietas isoprotéicas, isoenergéticas e isoaminoacídicas para lisina, metionina, treonina e triptofano. Avaliou-se consumo de ração, biomassa final, peso e comprimento final, fator de condição corporal e sobrevivência; além da efetividade da masculinização e teores de matéria seca, matéria mineral e proteína bruta da carcaça. A suplementação da levedura íntegra ou autolisada em dietas de larvas de tilápia do Nilo durante a fase de masculinização sexual não beneficiou o desempenho produtivo, composição bromatológica e efetividade da masculinização.

Palavras-chave: composição bromatológica, desempenho produtivo, GIFT; *Oreochromis niloticus*, *Sacharomices cerevisiae*.

FULL AND AUTOLYSED YEAST AS PRONUTRIENT IN NILE TILAPIA DIETS DURING THE SEXUAL REVERSION

ABSTRACT

The hatchery is one of the most important stages in the fish culture and it is responsible for obtaining animals in quantity and quality for production. GIFT variety originated of rigorous

¹ Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal - Unesp - Universidade Estadual Paulista - FMVZ - Botucatu - São Paulo, Brasil; CEP: 18618-000, CP: 560. Contato principal para correspondência

² Professor Adjunto de Zootecnia, no Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal - Unesp - Universidade Estadual Paulista - FMVZ - Botucatu - São Paulo

³ Professora Adjunta de Zootecnia, no Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal - Unesp - Universidade Estadual Paulista - FMVZ - Botucatu - São Paulo

⁴ Professora Doutora e Zootecnista Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista - CAUNESP - Av: Paulo Donato Castellane, S/N; CEP:14884-900, Jaboticabal-SP, Brasil

⁵ Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal Universidade Estadual Paulista "Julio De Mesquita Filho" - Unesp/Botucatu

process of genetic selection, leading to a rustic fish an excellent growth performance. Currently, the use of full and autolyzed yeast and their derivatives have been recommended to compose aquatic organisms diets. Based on theses facts this research aimed to evaluate the productive performance, chemical composition and masculinization of Nile tilapia, GIFT variety. This study was conducted at the laboratório de tilapicultura do Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista (CAUNESP), Jaboticabal-SP. The experimental design was completely randomized, with five treatments: 1.0 and 2.0% full or autolyzed yeast, plus a control treatment (absent of yeast supplementation), with four replicates. The fish were fed five times a day for 30 days. The diets were isonitrogenous, isoenergetic and isoaminoacid for lysine, methionine, threonine and tryptophan. The food intake, final biomass, weight and length, body condition factor and survival, beyond the effectiveness of masculinization and dry matter, crude protein and ash of the carcass were evaluated. The supplementation of full or autolyzed yeast in Nile tilapia larvae diets during the masculinization stage did not improve the productive performance, chemical composition and effectiveness of masculinization.

Keywords: bromatological composition, grow performance, GIFT, *Oreochromis niloticus*, *Sacharomices cerevisiae*.

LEVADURA INTACTA Y AUTOLIZADA COMO PRONUTRIENTE EN DIETAS PARA TILAPIA DEL NILO EN FASE DE INVERSIÓN SEXUAL

RESUMEN

La fase de larva es una de las etapas más importantes en el cultivo de peces, siendo responsable por la obtención de animales en cantidad y calidad de la producción. La variedad GIFT se originó de un riguroso proceso de selección genética, con una excelente resistencia y características de desempeño productivo. Actualmente, se recomienda el uso de la levadura intacta, autolizada y sus derivados para componer dietas para los organismos acuáticos. De lo anteriormente expuesto, este estudio tuvo como objetivo evaluar el desempeño, la composición química y la efectividad del cambio de sexo de la tilapia del Nilo, la variedad GIFT. El estudio se realizó en el laboratorio del Centro de tilapicultura de la Universidade Estadual Paulista (CAUNESP), Jaboticabal. El diseño experimental fue completamente aleatorizado, con cinco tratamientos: 1,0 y 2,0% de levadura intacta o autolizada, además de un tratamiento de control (ausencia de la suplementación con levadura), con cuatro repeticiones. Los peces fueron alimentados cinco veces al día, durante 30 días, con dietas isonitrogenadas, isocalórica y isoaminoacid de lisina, metionina, treonina y triptófano. Se evaluó la ingesta de alimentos, biomasa final, peso final y la longitud, el factor de condición corporal y la supervivencia, además de la eficacia de la inversión de sexos y la materia seca, proteína bruta y el contenido mineral de la carcasa. La suplementación de levaduras intacta o autolizada en dietas de alevines de tilapia del Nilo durante el cambio de sexo no se ha beneficiado el desempeño productivo, la composición y la eficacia de la inversión de sexos.

Palabras clave: composición bromatológica, desempeño productivo, GIFT, *Oreochromis niloticus*, *Sacharomices cerevisiae*.

INTRODUÇÃO

A larvicultura e alevinagem de peixes são descritas como a fase que compreende desde a eclosão dos ovos até o alevino de tamanho comercial, período que varia em função da espécie, temperatura e nutrição. É uma das fases mais importantes na exploração racional

piscícola, sendo responsável pela obtenção de animais em quantidade e qualidade para as fases posteriores de criação (1).

Na tilapicultura, a fase de larvicultura é geralmente denominada fase de masculinização, devido ao processo que estes indivíduos são submetidos neste período. A masculinização é de fundamental importância para o cultivo racional da tilápia do Nilo, em função da necessidade de obtenção de indivíduos machos para a engorda, evitando problemas provenientes dos gastos energéticos com a reprodução, excesso populacional nos viveiros e, conseqüentemente, degradação da qualidade da água. Outra vantagem a ser citada, é a do macho dessa espécie ter crescimento acelerado em relação à fêmea.

A linhagem GIFT (*Genetic Improvement of Farmed Tilapias*) é fruto de um projeto de pesquisa iniciado na Malásia, em abril de 1988, sob a liderança de um órgão não governamental denominado *Worldfish Center*, sendo composta por quatro linhagens comerciais de tilápias cultivadas na Ásia e outras quatro linhagens silvestres de cultivo Africano (2,3). Esta combinação de oito linhagens puras objetivou aumentar a variabilidade genética, e com o resultado obtido realizou-se a seleção das primeiras gerações desta linhagem. O desenvolvimento desta linhagem chama atenção para o pioneirismo em melhoramento genético de peixes tropicais (4). Essa linhagem apresenta rusticidade aos manejos produtivos e excelente desempenho zootécnico, devido principalmente ao elevado grau de resistência às doenças e infecções (5).

Atualmente, a utilização de levedura íntegra, assim como derivados do seu processamento, tais como levedura autolisada, polissacarídeos da parede celular e nucleotídeos estão sendo preconizados para comporem rações para organismos aquáticos. As leveduras utilizadas como alimento se destacam pela boa quantidade de vitaminas do complexo B, segundo Carvalho (6), em especial tiamina, riboflavina, niacina e ácido pantotênico (7). Em relação à proteína, a levedura é considerada como fonte não convencional, tendo bom valor nutricional quanto a sua composição de aminoácidos Pacheco (8), destacando-se pelo alto teor de lisina (9,10), leucina e valina (11) e teores adequados de triptofano e treonina (8), porém limitada quantidade de aminoácidos sulfurados (7-11).

O alto teor de nitrogênio não protéico presente na levedura (20% a 30% do nitrogênio total), representado basicamente por ácidos nucléicos, é um dos fatores limitantes da sua utilização (12,13). Segundo Hisano et al. (14), as leveduras se destacam por sua biossegurança e fácil incorporação à mistura durante o processamento da ração. Além destas características positivas, devido à composição acima citadas, a suplementação de dietas para peixes com levedura pode melhorar as respostas de desempenho produtivo, beneficiar o sistema imune não específico e aumentar a resistência contra infecções bacterianas de algumas espécies de peixes (15-19).

O Brasil se apresenta como grande produtor de levedura, resultado da obtenção da *Saccharomyces cerevisiae* a partir do mosto fermentado, proveniente das destilarias de álcool de cana de açúcar. Segundo Butolo (20), a levedura se apresenta como matéria prima disponível para compor rações, seja como pronutriente ou imunoestimulante. Define-se como pronutriente o composto que promova valores nutricionais intrínsecos, que seja de uso oral e exigido em pequenas quantidades na mistura da dieta animal (20).

Dessa forma, devido a crescente demanda de alevinos de tilápia do Nilo em nosso país, tem-se norteado a busca por ingredientes que maximizem a produção de indivíduos mais saudáveis. Assim, avaliou-se o desempenho produtivo, composição bromatológica e efetividade da masculinização de alevinos de tilápia do Nilo, variedade GIFT, arraçadas com dietas suplementadas com diferentes níveis de levedura de cana de açúcar (*Sacharomices cerevisiae*), nas formas íntegra ou autolisada.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de tilapicultura do Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista (CAUNESP), Campus de Jaboticabal-SP, entre os meses de janeiro e fevereiro de 2009, tendo duração de 30 dias. Ao final da absorção do saco vitelínico, 3.200 larvas de tilápia do Nilo da variedade GIFT, com peso e comprimento médio de 0,013 g e 0,927 cm, respectivamente, foram distribuídas de maneira inteiramente casualizada em 20 aquários de polietileno, com capacidade útil de 160 litros, na densidade de 1 larva L⁻¹.

Foram testados cinco tratamentos, com quatro repetições, sendo a unidade experimental constituída por um aquário com 160 larvas. As dietas isoproteicas, isoenergéticas e isoaminoacídicas para lisina, metionina, treonina e triptofano empregadas foram:

1. Dieta controle (ausente da suplementação de levedura);
2. Dieta suplementada com 1,0% de levedura íntegra;
3. Dieta suplementada com 2,0% de levedura íntegra;
4. Dieta suplementada com 1,0% de levedura autolisada;
5. Dieta suplementada com 2,0% de levedura autolisada.

O arraçoamento foi realizado cinco vezes ao dia (8:00, 10:00, 12:00, 14:00 e 17:00 h), fornecendo-se as dietas até a saciedade aparente, evitando sobras excessivas de ração. A captação de água de cada aquário foi interrompida 10 minutos antes de cada trato, para cessar o movimento da água, sendo retomada após 30 minutos do mesmo. Os aquários foram sifonados a cada três dias, sempre após o último trato, e os utensílios necessários a sifonagem ficavam imersos em solução salina (5,0%), para evitar proliferação de patógenos. A temperatura da água foi aferida duas vezes ao dia (8:00 e 17:00 h), e semanalmente foi feita análise de oxigênio dissolvido, pH e condutividade elétrica, utilizando-se sonda multiparâmetros YSI 556®. Foram obtidos os seguintes valores médios: 26,1 ± 1,6 °C e 27,3 ± 1,3 °C; 6,18 ± 0,6 mg L⁻¹; 8,3 ± 0,1 e 56 ± 4,3 μS cm⁻¹, respectivamente para temperatura no período da manhã, temperatura no período da tarde, oxigênio dissolvido, pH e condutividade elétrica.

A composição das dietas experimentais encontra-se na Tabela 1. Para a confecção das dietas fareladas, todos os ingredientes foram previamente triturados em moinho de martelo (Marconi – modelo MA 090) e peneirados em malha de 0,42 mm. Após esta etapa, todos os ingredientes da ração foram manualmente homogeneizados, sendo posteriormente adicionado hormônio (60 mg de metiltestosterona kg⁻¹ ração), conforme a metodologia descrita por Guerrero (21).

Após 30 dias de arraçoamento, para a determinação do desempenho produtivo, os alevinos foram submetidos a jejum por aproximadamente 24 horas. Posteriormente, foram contados e colocados em Becker contendo água, para serem pesados e determinada a biomassa final. Passada esta etapa, 32 alevinos de cada unidade experimental (20% do total inicial) foram aleatoriamente coletados e abatidos em água à 1°C. Esses animais foram então colocados em prancheta de papelão impermeabilizada e numerada, para que tivessem o peso e comprimento total mensurados individualmente. Esses valores foram utilizados para a determinação do peso final, comprimento final e fator de condição corporal. Devido ao número de tratamentos e repetições empregados no experimento (20 aquários), essa fase de coleta de dados foi realizada em dois dias, esquematizada de maneira que o mesmo número de repetições de todos os tratamentos fosse avaliado em um mesmo dia, a fim de padronizar as condições experimentais.

Tabela 1. Composição percentual e química bromatológica calculada das dietas¹ fornecidas aos alevinos.

Ingredientes (%)	TRATAMENTO				
	Controle	1,0% Levedura Íntegra	2,0% Levedura Íntegra	1,0% Levedura Autolisada	2,0% Levedura Autolisada
Farinha Vísceras Aves	20,73	20,77	20,77	20,77	20,77
Quirera Arroz	21	20	20	20	20
Farinha Peixe	53	53	52	53	52
Levedura Íntegra	-	1	2	-	-
Levedura Autolisada	-	-	-	1	2
DL-Metionina	0,11	0,10	0,10	0,10	0,10
L-Triptofano	0,16	0,15	0,15	0,15	0,15
L-Treonina	0,2	0,18	0,18	0,18	0,18
Fosfato bicálcico	4	4	4	4	4
Vitamina C	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Sal	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Premix Vitamínico ²	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Premix Mineral ³	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
BHT ⁴	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Total	100	100	100	100	100
Nutriente					
Energia Digestível (kcal kg ⁻¹)	3274,62	3280,91	3276,37	3284,56	3283,62
Proteína Digestível (%)	35,14	35,41	35,34	35,34	35,19
Fibra Bruta (%)	0,57	0,57	0,58	0,57	0,57
Extrato etéreo (%)	9,79	9,71	9,63	9,71	9,63
Ca total (%)	4,93	4,93	4,87	4,93	4,87
P disponível (%)	1,92	1,92	1,90	1,92	1,90
Metionina (%)	1,13	1,12	1,12	1,12	1,11
Aminoácidos sulfurados (%)	1,09	1,08	1,06	1,08	1,07
Lisina (%)	3,08	3,11	3,11	3,10	3,08
Triptofano (%)	0,46	0,45	0,45	0,45	0,45
Treonina (%)	1,70	1,69	1,69	1,69	1,68

¹Formulação das rações realizadas segundo: NRC (22); Pezzato et al. (23); Gonçalves et al. (24); Furuya et al. (25); Guimarães et al.(26,27).

²Premix vitamínico: Níveis de garantia vit. A = 1.200.000 UI; vit. D3 = 200.000 UI; vit. E = 12.000 mg; vit. K3 = 2.400 mg; vit. B1 = 4.800 mg; vit. B2 = 4.800 mg; vit. B6 = 4.000 mg; vit. B12 = 4.800 mg; ácido fólico = 1.200 mg; pantotenato de cálcio = 12.000 mg; vit. C = 48.000 mg; biotina = 48 mg; colina = 65.000 mg; niacina = 24.000 mg

³Premix mineral (níveis de garantia/kg do produto): ferro = 10.000 mg; cobre = 600 mg; manganês = 4.000 mg; iodo = 20 mg; cobalto = 2 mg e selênio = 20 mg.

⁴Antioxidante (BHT) = Butil hidróxi tolueno.

As fórmulas empregadas na determinação do consumo de ração (CR), biomassa final (BF), peso final (PF), comprimento final (CF), fator de condição corporal (FCC) e sobrevivência (SOB) encontram-se abaixo:

CR (g) = Total de ração fornecido aos peixes da unidade experimental;

BF (g) = Σ peso dos peixes da unidade experimental;

PF (g) = Média do peso dos peixes;

CF (cm) = Média do comprimento padrão (medida do lábil superior ao pedúnculo caudal);

FCC = $(\text{Peso} / \text{comprimento}^3) \times 100$;

SOB = $(\text{número de peixes final} / \text{número de peixes inicial}) \times 100$.

Para determinação da composição bromatológica, os 32 animais abatidos de cada aquário, imediatamente após as medições e pesagens, foram colocados em recipientes plásticos devidamente identificados e acondicionados em freezer à temperatura de -20°C . Essas amostras foram levadas para o Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, FMVZ, UNESP – Botucatu-SP e, conforme a metodologia proposta pela AOAC (28) determinou-se o teor de Matéria seca, Matéria mineral e Proteína bruta.

As análises de matéria seca e matéria mineral dos peixes foram realizadas colocando-se animais inteiros nos cadinhos de porcelana (2 a 3 peixes por cadinho), utilizando-se estufa de secagem e esterilização à 105°C por 24 horas e mufla à 600°C por 3 horas, respectivamente. Para a determinação da proteína bruta utilizou-se o método de micro-Kjeldahl, utilizando-se os peixes que restaram nos recipientes plásticos (aproximadamente 26 animais) oriundos de cada uma das unidades experimentais. Esses animais foram processados com uso de bisturis dentro de cada um dos frascos, para evitar perdas do material biológico. Todas as análises foram realizadas em duplicata e, em caso de necessidade de repetir alguma amostra, uma nova duplicata foi realizada.

Para a determinação da efetividade da masculinização (EM), ao término do desempenho produtivo, aproximadamente 50 alevinos restantes de cada unidade experimental foram transferidos para 20 hapas, uma para cada repetição, com volume de $0,73\text{m}^3$ ($0,9 \times 0,9 \times 0,9$ m), alojadas em tanque escavado, onde permaneceram por 60 dias recebendo ração comercial farelada com 42% de proteína bruta, isenta de hormônio, até atingirem o tamanho ideal para as análises (6 a 8 cm).

Alcançado o tamanho esperado, trinta e dois peixes hapa⁻¹ (20% do total inicial da repetição) tiveram suas gônadas retiradas, seguindo a metodologia de Wassermann e Afonso (29). Com auxílio de uma tesoura, realizou-se incisão ventral nos animais, da papila urogenital até a base da nadadeira peitoral. Posteriormente realizou-se uma abertura lateral do peixe, por onde as vísceras foram cuidadosamente retiradas, conservando-se as gônadas. Algumas gotas de solução de acetato-carmim foram colocadas sobre as gônadas, enrijecendo e evidenciando o tecido gonadal, facilitando a sua retirada com o auxílio de uma pinça. Convencionou-se que uma das gônadas (direita), seria destinada para a técnica de identificação sexual.

A gônada, após ser retirada, foi imediatamente estendida sobre uma lâmina de vidro onde foram adicionadas algumas gotas da solução de acetato-carmim. Em seguida, uma lamínula foi colocada sobre este material fazendo-se uma leve pressão e examinada ao microscópio de luz em toda a sua extensão, para a determinação do sexo do animal.

A metodologia estatística adotada foi a análise de variância paramétrica para todas as variáveis, exceto sobrevivência. Essas variáveis foram submetidas e apresentaram-se dentro da normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e homogeneidade (Bartlett), sendo comparadas pelo teste de Tukey. A sobrevivência apresentou-se não paramétrica, dessa forma analisou-se pelas medianas obtidas entre as repetições de determinado tratamento (valor mínimo sobrevivência: valor máximo sobrevivência) através do teste de Kruskal-Wallis, complementada com as comparações múltiplas de Dunn (30). Todas as variáveis foram analisadas ao nível de 5,0% de probabilidade. O sistema adotado foi o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas, SAEG (31).

RESULTADOS

Não houve diferenças estatísticas ($P>0,05$) para as variáveis consumo de ração, biomassa final, peso final, fator de condição corporal, sobrevivência e efetividade da masculinização. Em relação ao comprimento final, o maior valor dessa variável foi obtido pelos alevinos que consumiram a dieta contendo 2,0% de levedura autolisada, mas não diferiu estatisticamente ($P>0,05$) dos animais que consumiram as dietas contendo levedura íntegra (1,0 ou 2,0%). As dietas ausente de levedura (controle) e aquelas contendo 1,0% de levedura autolisada proporcionaram menores valores de comprimento final, mas não diferiram estatisticamente ($P>0,05$) dos animais que consumiram as dietas contendo levedura íntegra, em ambas as porcentagens de inclusão (Tabela 2).

Tabela 2. Consumo de ração (g), Biomassa final (g), Peso final (g), Comprimento final (cm), Fator de condição corporal, Sobrevivência (%) e Efetividade da masculinização (%) de alevinos de tilápia do Nilo submetidos aos tratamentos experimentais por 30 dias.

Variável	TRATAMENTO				
	Controle	1,0% Levedura Íntegra	2,0% Levedura Íntegra	1,0% Levedura Autolisada	2,0% Levedura Autolisada
CR (g)	58,44 ± 3,12	55,50 ± 1,72	57,15 ± 1,24	55,56 ± 0,91	58,35 ± 3,78
BF (g)	41,07 ± 4,48	38,20 ± 1,66	36,43 ± 3,96	37,53 ± 4,88	41,64 ± 6,88
PF (g)	0,36 ± 0,06	0,39 ± 0,04	0,41 ± 0,07	0,36 ± 0,03	0,45 ± 0,05
CF (cm)	2,19 ± 0,08 a	2,29 ± 0,06 ab	2,30 ± 0,12 ab	2,18 ± 0,04 a	2,37 ± 0,08 b
FCC	3,44 ± 0,14	3,27 ± 0,09	3,34 ± 0,09	3,42 ± 0,24	3,41 ± 0,10
SOB (%)	74,22 ± 9,30	66,92 ± 3,28	59,38 ± 17,35	70,47 ± 12,75	63,44 ± 13,01
EM (%)	93,75 ± 4,42	89,06 ± 5,41	87,34 ± 5,60	94,60 ± 2,87	95,15 ± 4,13

Letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença significativa entre os tratamentos ($P<0,05$).

Não houve diferenças ($P>0,05$) na composição bromatológica dos alevinos de tilápia do Nilo após 30 dias de arraçoamento com as dietas experimentais (Tabela 3).

Tabela 3. Média \pm desvio padrão da matéria seca, matéria mineral e proteína bruta de alevinos de tilápia-do-Nilo arraçoados por 30 dias com as dietas experimentais (Valores apresentados com base na matéria natural).

Variável (%)	TRATAMENTO				
	Controle	1,0% Levedura Integra	2,0% Levedura Integra	1,0% Levedura Autolisada	2,0% Levedura Autolisada
Matéria Seca	17,8 \pm 0,31	17,65 \pm 0,17	17,78 \pm 0,26	18,27 \pm 0,69	18,06 \pm 0,80
Matéria Mineral	3,31 \pm 0,06	3,44 \pm 0,17	3,37 \pm 0,29	3,24 \pm 0,20	3,30 \pm 0,14
Proteína Bruta	12,26 \pm 0,54	12,59 \pm 0,28	12,39 \pm 0,37	12,55 \pm 0,77	12,25 \pm 0,85

DISCUSSÃO

Muitos estudos envolvendo leveduras desidratadas na alimentação foram realizados objetivando testá-las como fonte protéica. No entanto, Pezzato (32) cita que a inclusão de altos níveis de levedura na dieta acarreta alta excreção de amônia, acúmulo de bases púricas, que, conforme observado para algumas espécies de peixes, podem causar sérias alterações metabólicas decorrentes do acúmulo de ácido úrico e uréia no fígado. A partir desse e outros relatos obtidos na literatura, é que, nesse estudo, foram avaliados níveis menores de inclusão de levedura.

A única variável que apresentou diferença estatística significativa ($P < 0,05$) foi o comprimento final. O consumo de ração por alevino foi semelhante para todos os tratamentos ($P > 0,05$). Estes resultados contrariam os obtidos por Pezzato et al. (33), que trabalhando com alevinos pós-revertidos de tilápia do Nilo (0,27 g), encontraram menor consumo de ração em larvas arraçoadas com dietas contendo 2,0% de levedura autolisada, comparando-as com aquelas que receberam a ração controle (ausente de levedura), ração com 2,0% de levedura íntegra ou ração contendo 0,3% de parede celular.

A biomassa final pode ser considerada a variável mais importante em trabalhos de larvicultura de peixes; deve-se a isso o fato dessa variável englobar a taxa de sobrevivência e o peso final médio dos animais. Destaca-se, que apesar de não significativo, o peso final 25% superior dos alevinos que receberam a suplementação na dieta de 2,0% de levedura autolisada em relação aos alevinos que consumiram a dieta controle, pode ser considerado interessante do ponto de vista de piscicultura comercial. A literatura demonstra relação inversamente proporcional do peso final e a sobrevivência dos animais, de modo que, com maior sobrevivência e, fornecendo-se a mesma quantidade de alimento, os peixes teriam pesos menores, devido ao menor espaço e menor quantidade de ração por unidade animal, disponível para o desenvolvimento. Esta relação pôde ser comprovada nesta pesquisa, pois as menores médias de peso final foram obtidas nos tratamentos que proporcionaram melhor sobrevivência aos animais.

Os alevinos que receberam dieta suplementada com 2,0% de levedura autolisada apresentaram valores maiores ($P < 0,05$) de comprimento em relação aos alevinos que receberam as dietas suplementadas com 1,0% de levedura autolisada ou dieta controle (ausente de suplementação de levedura). As leveduras, segundo Furuya et al. (7); Hisano et al.

Koch JFA, Pezzato LE, Barros MM, Koberstain CTDR, Teixeira CP, Fernandes Jr AC, Nakagome FK.

Levedura íntegra e autolisada como pronutriente em dietas de tilápia do Nilo durante a fase de masculinização.

Vet. e Zootec. 2015 jun.; 22(2): 254-267.

(34); Watanabe (35), apresentam a vantagem de melhorar o crescimento dos animais e a eficiência protéica, mesmo que em baixos percentuais de suplementação.

O fator de condição corporal expressa o “status corpóreo do animal”, demonstrando se este possui peso adequado de acordo com o seu comprimento. Essa variável pode dar indicativos de futuros rendimentos de filés desses animais. Verificou-se não haver diferenças no fator de condição corporal dos animais entre os tratamentos empregados.

A sobrevivência dos alevinos não foi alterada pelos tratamentos experimentais. Apesar de não significativo, verificou-se maior sobrevivência dos animais quando estes receberam o tratamento controle (ausente da suplementação de levedura), e a menor sobrevivência proporcionada pelo tratamento em que os alevinos receberam a suplementação de suas dietas com 2% de levedura íntegra. Esses resultados diferem dos obtidos por Li & Gatlin III (17), que suplementaram dietas de striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) com três níveis de levedura de cerveja (1,0; 2,0 e 4,0%), mais uma dieta controle (ausente de suplementação), e observaram melhora na sobrevivência e resposta imune das larvas que receberam levedura nas dietas.

Os dados da presente pesquisa corroboram com os obtidos por Meurer et al. (36), que avaliaram a influência da inclusão da levedura *Saccharomyces cerevisiae* viva em dietas de larvas de tilápia do Nilo durante a masculinização. Os resultados obtidos por esses autores não diferiram quanto ao desempenho produtivo, sobrevivência, efetividade da masculinização e índice hepatossomático entre os tratamentos avaliados (ausência da suplementação do probiótico ou; contendo 10^5 células vivas de *S. cerevisiae*/kg de ração).

Os valores de desempenho produtivo obtidos corroboram ainda com os encontrados por Valle (37), que forneceram dietas isoprotéicas (35% PB) e isocalóricas (3500 kcal ED/kg) suplementadas com 1,0; 2,0 ou 4,0% de levedura desidratada, além de uma dieta ausente de suplementação, para alevinos de tilápia do Nilo, objetivando avaliar os efeitos da levedura desidratada *Saccharomyces cerevisiae* como pronutriente na dieta desses animais e, no entanto, não encontraram diferenças no desempenho zootécnico proporcionada pelas dietas que continham levedura.

Por outro lado, Hisano et al. (34) realizaram pesquisa com alevinos de tilápia do Nilo ($2,22 \pm 0,07$ g), suplementando as dietas desses animais com levedura íntegra; levedura autolisada ou; parede celular, e observaram que os produtos testados melhoraram o desempenho produtivo, contudo o melhor resultado foi obtido quando foi adicionado à dieta níveis de levedura autolisada entre 1,30 e 1,59%.

Outros trabalhos demonstraram a importância da levedura nas fases iniciais de criação de peixes, a exemplo de Meurer et al. (13), que suplementaram dietas de alevinos de tilápia do Nilo ($0,7 \pm 0,18$ g) com diferentes níveis de inclusão de *Saccharomyces cerevisiae* (1,5; 3,0; 4,5 e 6,0%), mais uma dieta ausente da suplementação, e observaram melhora linear no desempenho zootécnico com o aumento do nível de inclusão da levedura.

Segundo Pezzato (38), a inclusão de levedura nas dietas demonstra o potencial de sua utilização como pronutriente. O autor destaca também que seu emprego como fonte protéica pode provocar alterações metabólicas e ocasionar menor disponibilidade de nutrientes devido ao seu alto conteúdo de nitrogênio não protéico.

Esperavam-se melhores resultados de desempenho produtivo proporcionados pelas dietas contendo alguma das formas de levedura, pois segundo Machado (39), entre os constituintes da levedura podem-se destacar enzimas como a fitase, que melhoram a disponibilidade de fósforo e outros minerais; ácidos graxos voláteis como ácido láctico e isoácidos; minerais quelatados como zinco e magnésio; antibióticos naturais; aminoácidos como glutamatos; nucleotídeos como isoniato e guanilato; que proporcionam maior palatabilidade ao alimento, melhor desempenho e maior resistência ao animal. Hisano et al. (14) citam, ainda, o alto conteúdo de vitaminas e compostos como glucanos e mananos

presentes nas leveduras, que ao se combinar com os demais ingredientes da dieta, conferem a mesma alto valor biológico.

Ressalta-se o alto desvio padrão obtido para algumas variáveis, principalmente sobrevivência. Devido a este fato, não foi encontrada diferença estatística para esta variável entre os tratamentos, sendo os casos de alto desvio padrão muito comuns em estudos de larvicultura de peixes. Uma maneira de amenizar esta ocorrência é aumentar o máximo possível o número de repetições durante a experimentação, fato que foi impossibilitado devido ao número de unidades experimentais. Vale destacar ainda, que as dietas desta pesquisa continham grandes quantidades de ingredientes de origem animal, conhecidamente de alta atratopalatabilidade, como é o caso da farinha de peixe e farinha de vísceras de aves. Dessa forma, acredita-se que se fossem utilizadas dietas com menores inclusões desses ingredientes, ou seja, com maiores níveis de ingredientes de origem vegetal, poderia sobressair o efeito da levedura, devido aos benefícios já elucidados.

Não houve diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos nos teores de matéria seca, matéria mineral e proteína bruta. Os resultados obtidos corroboram com os de Hisano et al. (34), que não encontraram diferenças na composição bromatológica de alevinos de tilápia do Nilo (2,22 g) arraçoados por 80 dias com dietas suplementadas com três níveis (1, 2 e 3%) de levedura íntegra ou autolisada, e três níveis de parede celular de levedura (0,1, 0,2 e 0,3%). Os dados de composição corporal médio da matéria seca, matéria mineral e proteína bruta dos alevinos encontrados por esses autores, foram respectivamente 18,0%, 1,05% e 15,70%.

Os dados de matéria mineral e proteína bruta da carcaça dos animais do presente estudo seguiram as tendências dos resultados obtidos por Pezzato et al. (33), que suplementaram dietas de alevinos de tilápia do Nilo (0,27g) com levedura íntegra (2,0%); levedura autolisada (2,0%) ou parede celular (0,3%) por 28 dias, e não encontraram diferenças na composição corporal dos animais.

O potencial zootécnico da tilápia muitas vezes é limitado pela alta prolificidade e maturação sexual precoce, dessa forma justifica-se a adoção de cultivo de animais monossexo masculino, com a finalidade de impedir a reprodução e otimizar o crescimento somático (34). Para obtenção de indivíduos machos, a masculinização fenotípica por via oral é o método mais utilizado em criações comerciais (41).

Não foram encontradas diferenças estatísticas significativas para efetividade da masculinização entre os tratamentos analisados. Esta variável está diretamente relacionada com a quantidade de hormônio ingerido. Dessa forma, como a quantidade de hormônio adicionado às rações foi a mesma (60 mg kg⁻¹), umas das hipóteses ao analisar a efetividade da masculinização com dietas contendo levedura e hormônio masculinizante seria de que a presença da levedura pudesse aumentar o consumo de ração, pela composição já elucidada, aumentando a quantidade de hormônio ingerida e, conseqüentemente, aumentando a proporção de machos.

Segundo Boscolo et al. (42), a principal forma de masculinização de tilápias na fase larval é por meio da incorporação de hormônio na ração e portanto, é de fundamental importância que os alimentos utilizados na formulação das rações para a fase larval sejam de alta atratopalatabilidade para estimular a ingestão da ração com hormônio.

Conforme citado, verificou-se consumo de ração semelhante pelos animais dos distintos tratamentos. Apesar de não significativo, as respostas de efetividade da masculinização proporcionadas pelos tratamentos contendo levedura autolisada foram superiores aos obtidos com animais que receberam levedura íntegra, dentro do mesmo nível de suplementação. Encontrou-se 6,22% a mais de indivíduos machos nos animais alimentados com 1,0% de levedura autolisada em relação aos suplementados com 1,0% de levedura íntegra. No mesmo sentido, a dieta contendo 2,0% de levedura autolisada proporcionou 8,94% mais machos quando comparado à dieta com 2,0% de levedura íntegra.

Essas respostas demonstram a necessidade de novos trabalhos, aumentando-se o número de repetições para análises de porcentagens de machos e, com isso, entender melhor a ação das formas de levedura (íntegra ou autolisada) durante este estágio de vida dos animais. Outra recomendação é mensurar a quantidade de ração consumida e não fornecida, como realizado na maioria dos trabalhos. Dessa forma, como no exemplo acima citado, apesar da ração contendo 1,0% de levedura íntegra ter sido fornecida em quantidades praticamente idênticas à ração contendo 1,0% de levedura autolisada, a primeira poderia ter sido menos ingerida e, dessa forma, ter proporcionado menores valores de efetividade de masculinização em relação à segunda.

Segundo Popma e Green (43), os processos de masculinização a partir da utilização de hormônios nem sempre são efetivos, devido à influência de muitos fatores, como a qualidade do hormônio, tipo de ração administrada e fatores ambientais (temperatura, oxigênio dissolvido, pH), entre outros, ocasionando variação nos percentuais de machos de 80 a 100%.

CONCLUSÕES

A presença (1,0 ou 2,0%) de levedura *Sacharomices cereviseae*, nas formas íntegra ou autolisada na dieta de larvas de tilápia do Nilo, da linhagem GIFT, na fase de masculinização, não beneficia o desempenho produtivo, composição bromatológica e efetividade da masculinização dos animais.

COMITE DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Todos os procedimentos realizados encontram-se de acordo com as normas e princípios éticos de experimentação animal, estabelecido pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da FMVZ/UNESP/Botucatu, sendo a pesquisa aprovada pela mesma (Protocolo nº 181/2007 – CEEA) em 06 de dezembro de 2007.

REFERÊNCIAS

1. Hayashi C, Boscolo WR, Soares CM, Meurer F. Exigência de proteína digestível para larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), durante a reversão sexual. Rev Bras Zootec. 2002;31(2):823-8.
2. Gupta MV, Acosta BO. From drawing board to dining table: The success story of the GIFT project. NAGA - Worldfish Center Quarterly. 2004;27(3):4-14.
3. Li SF, He XJ, Hu GC, Cai WQ, Deng XW, Zhou PY. Improving growth performance and caudal fin stripe pattern in selected F6-F8 generations of gift Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) using mass selection. Aquac Res. 2006;37(12):1165-71.
4. Oliveira SN, Ribeiro RP, Lopera NM, Candioto FB, Resende EK, Legat AP. Análise genética de três gerações de tilápia do Nilo (linhagem GIFT) utilizando o marcador RAPD. Acta Sci, Anim Sci. 2011;33(2):207-12.
5. Khaw HL, Ponzoni RW, Dnting MJC. Estimation of genetic change in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by comparing contemporary progeny produced by males born in 1991 or in 2003. Aquaculture. 2008;275:64-9.

6. Carvalho PRN. Levedura como fonte de micronutrientes: composição e análise de vitaminas. In: "Workshop" Produção de biomassa de levedura: utilização em alimentação humana e animal; 1997; Campinas. Campinas: Ital; 1997. p.28-31.
7. Furuya WM, Seron S, Vargas L. Níveis de levedura desidratada spray dried na dieta de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Cienc Rural. 2000;30(4):699-704.
8. Pacheco MTB. Levedura como fonte de proteína: extração, isolamento propriedades nutritivas e funcionais. In: "Workshop" Produção de biomassa de levedura: utilização em alimentação humana e animal; 1997; Campinas. Campinas: Ital; 1997. p.5-14.
9. Scapinello C, Furlan AC, Moreira I, Murakami AE, Oliveira PB. Utilização da levedura de recuperação (*Saccharomyces* sp), seca pelo método *spray-dry* para coelhos em crescimento. Rev Unimar. 1996;18(3):587-98.
10. Butolo JE. Uso de biomassa de levedura em alimentação animal: propriedades, custo relativo a outras formas de nutrientes. In: "Workshop" Produção de biomassa de levedura: utilização em alimentação humana e animal; 1997; Campinas. Campinas: Ital; 1997. p.70-89.
11. Miyada VS. A levedura seca na alimentação de suínos: estudos adicionais sobre o seu valor protéico e vitamínico. [Tese livre docência]. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo; 1987.
12. Berto DA. Uso da levedura desidratada na alimentação de suínos. In: Simpósio sobre tecnologia da produção e utilização da levedura desidratada na alimentação animal; 1997; Campinas. Campinas: CBNA; 1997. p.27-50.
13. Meurer F, Hayashi C, Soares CM, Boscolo WR. Utilização de levedura *Spray-dried* na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). Acta Sci. 2000;22(2):479-84.
14. Hisano H, Pezzato LE, Barros MM, Freire ES, Zuanon JA. Zinco e levedura desidratada de álcool como pró-nutrientes para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Acta Sci. 2004;26(2):171-9.
15. Sakai M, Taniguchi K, Mamoto K, Ogawa H, Tabata M. Immunoestimulant effects of nucleotide isolated from yeast RNA on carp, *Cyprinus carpio* L. J Fish Dis. 2001;24:433-8.
16. Ortuño J, Cuesta A, Rodríguez A, Esteban MA, Meseguer J. Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune response of gilthead seabream (*Spaurus auratus* L.). Vet Immunol Immunopathol. 2002;85(1-2):41-50.
17. Li P, Gatlin DM. Evaluation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* X *M. saxatilis*). Aquaculture. 2003;219(1-4):681-92.

18. Li P, Gatlin DM. Dietary brewers yeast and the prebiotic Grobiotic™AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Aquaculture*. 2004;231(1-4):445-56.
19. Li P, Lewis DH, Gatlin III DM. Dietary oligonucleotides from yeast RNA influence immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Fish Shellfish Immunol*. 2004;16(5):561-9.
20. Butolo JE. Leveduras vivas e termolizadas na alimentação animal. In: Simpósio sobre ingredientes alternativos na alimentação animal; Campinas; 2001. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal; 2001. p.191-8.
21. Guerrero RD. Use of androgens for production of all-male *Tilapia aurea* (Steindachner). *Trans Am Fish Soc*. 1975;104(2):342-8.
22. National Research Council - NRC. Nutrient requirements of fish. Washington, D.C.: National Academy Press; 1993.
23. Pezzato LE, Miranda EC, Barros MM, Quintero-Pinto G, Furuya WM, Pezzato AC. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev Bras Zootec*. 2002;31(4):1595-604.
24. Gonçalves GS, Pezzato LE, Barros MM, Kleeman GK, Falcon DR. Efeito da suplementação de fitase sobre a disponibilidade aparente de MG, Ca, Zn, Cu, Mn, Fe em alimentos vegetais pela tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus*. *Rev Bras Zootec*. 2005;34(6):2155-63.
25. Furuya WM, Pezzato LE, Pezzato AC, Barros MM, Miranda EC. Coeficiente de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev Bras Zootec*. 2001;30(4):1143-9.
26. Guimarães IG, Pezzato LE, Barros MM, Tachibana L. Nutrient digestibility of several grain products and by-products in extruded diets for Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *J World Aquac Soc*. 2008a;39(6):781-9.
27. Guimarães IG, Pezzato LE, Barros M.M. Aminoacid availability and protein digestibility of several protein sources for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquac Nutr*. 2008b;14(5):396-404.
28. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 12nd ed. Washington: AOAC International; 2000.
29. Wassermann GJ, Afonso LOB. Validation of the acetocarmin technique for evaluating phenotypic sex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. *Cienc Rural*. 2002;32(1):113-39.
30. ZAR JH. Biostatistical Analysis. Englewood Cliff, NJ: Prentice-Hall; 1999.
31. Universidade Federal de Viçosa. SAEG: sistema para análises estatísticas e genéticas: manual do usuário: versão 7.1. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 1997.

32. Pezzato LE. Alimentos convencionais e não-convencionais disponíveis para indústria da nutrição de peixes no Brasil. In: Simpósio internacional sobre nutrição e crustáceos; 1995; Campos de Jordão. Campos de Jordão: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal; 1995. p.34-52.
33. Pezzato LE, Menezes A, Barros MM, Guimarães IG, Schich D. Levedura em dietas para alevinos de tilápia do Nilo. Vet Zootec. 2006;13(1):84-4.
34. Hisano H, Narváez-Solarte WV, Barros MM, Pezzato LE. Desempenho produtivo de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com levedura e derivados. Pesq Agropec Bras. 2007;42(7):1035-42.
35. Watanabe AL. Suplementação de levedura desidratada (*Saccharomyces cerevisiae*) e derivados na alimentação de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) [mestrado]. Pirassununga: Universidade Estadual de São Paulo; 2006.
36. Meurer F, Hayashi C, Costa MM, Mascioli AS, Colpini LMS, Freccia A. A Levedura como probiótico na reversão sexual de tilápia-do-Nilo. Rev Bras Saude Prod Anim. 2008;9(4):804-12.
37. Valle JB. Levedura desidratada de álcool como pró-nutriente para tilápia do Nilo durante a reversão sexual. In: Simpósio brasileiro de aquicultura; 2002; Goiânia. Goiânia: SIMBRAQ; 2002. p.125.
38. Pezzato LE. Uso da levedura desidratada na alimentação de peixes. In: Simpósio sobre tecnologia da produção e utilização da levedura desidratada na alimentação animal; 1997; Campinas. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal; 1997. p.13.
39. Machado PF. Uso da levedura desidratada na alimentação de ruminantes. In: Simpósio sobre tecnologia da produção e utilização da levedura desidratada na alimentação animal; 1997; Campinas. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal; 1997. p.111-28.
40. Dan NC, Little DC. The culture performance of monosex and mixed-sex new-season and overwintered fry in three strains of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in northern Vietnam. Aquaculture. 2000;184(3-4):221-31.
41. Yasui GS, Santos LC, Shimoda E, Ribeiro-Filho OP, Calado LL, Freitas AS, et al. Masculinização de três linhagens de tilápias do Nilo utilizando o andrógeno sintético 17- α -metil-testosterona. Zootec Trop. 2007;25(4):307-10.
42. Boscolo WR, Hayashi C, Meurer F, Feiden A, Bombardelli RA, Reidel A. Farinha de resíduos da filetagem de tilápias na alimentação de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de reversão sexual. Rev Bras Zootec. 2005;34(6):1807-12.
43. Popma TJ, Green BW. Sex reversal of tilapia in earthen ponds: Aquaculture Production Manual. Alabama: Auburn University; 1990. (Research and Development Series, n.35).

Recebido em: 03/09/2013

Aceito em: 17/04/2015

ESTUDO SOROEPIDEMIOLÓGICO PROSPECTIVO DA LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA CANINA NO MUNICÍPIO DE BOTUCATU, SP

Selene Daniela Babboni¹
Nicoly Pereira¹
Carlos Roberto Padovani²
José Carlos de Figueiredo Pantoja¹
Cassiano Victoria¹
Jéssica C. Melice Gouveia¹
Sandra Regina Nicoletti D'Auria³
Maria Cecília Gibrail de Oliveira Camargo³
Jose Rafael Modolo⁴

RESUMO

A Leishmaniose Visceral Americana (LVA) é uma enfermidade de caráter zoonótico, exposta a cerca de 200 milhões de pessoas entre cinco continentes do mundo e apresenta grande impacto na saúde pública, devido à alta letalidade em humanos. No Brasil, o cão doméstico (*Canis familiaris*) é o principal reservatório para LVA, sendo este animal a principal fonte de infecção para o homem. Esta pesquisa teve como objetivo avaliar de forma pareada no intervalo de um ano, a situação soro-epidemiológica prospectiva da LVA da população canina da área urbana de 100km² do município de Botucatu, SP, que é classificado epidemiologicamente como silencioso não receptivo e vulnerável. Para o presente estudo, foram utilizados 360 cães, selecionados aleatoriamente com representatividade da área urbana, os quais tiveram amostras de sangue colhidas no primeiro momento na 41^a campanha de vacinação anual contra Raiva. Para a determinação do tamanho amostral foi utilizado o nível de 95% de confiança juntamente a um erro de estimação da ordem de 10%, associados à participação casual do animal. Após o período de um ano, foram realizadas as repetições das colheitas de sangue nos mesmos cães nos respectivos domicílios. O método sorológico de diagnóstico utilizado, em ambos os momentos, foi a reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Os resultados sorológicos nos cães revelaram-se não reagentes. Desta forma, considerando que o presente estudo encontrou apenas resultados sorológicos pareados não reagentes na identificação da LVA canina no Município e que o tamanho amostrado foi significativo para as condições da pesquisa, pode-se afirmar que a população canina da área urbana estudada encontrava-se, na ocasião, sem indicativos da ocorrência da enfermidade.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral americana, situação epidemiológica, teste pareado, cães, Botucatu.

PROSPECTIVE SEROEPIDEMIOLOGICAL STUDY OF AMERICAN VISCERAL LEISHMANIASIS CANINE IN BOTUCATU, SP

ABSTRACT

The American Visceral Leishmaniasis (AVL) is a zoonotic disease, exposed to about 200 million people across five continents of the world and has a great impact on public health, due to high mortality in humans. In Brazil, the domestic dog (*Canis familiaris*) is the main

¹ Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública FMVZ/UNESP/Botucatu.

² Professor do Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

³ Laboratório de Zoonoses e Doenças Transmitidas por Vetores, Centro de Controle de Zoonoses da Prefeitura do município de São Paulo, SP, Brasil.

⁴ Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública FMVZ/UNESP/Botucatu. Contato principal para correspondência.

reservoir for AVL, and this animal is the main source of infection for man. This research aimed to evaluate in the paired form within one year, the situation seroepidemiological prospective AVL in dog population of the urban area of 100km² of Botucatu, SP, which is classified as epidemiologically silent, unreceptive and vulnerable. To the present study, we used 360 dogs randomly selected that were representative of the urban area, which had blood samples taken for the first time at the 41st annual vaccination campaign against rabies. To determine the sample size it was used at the 95% confidence, coupled to an estimation error of about 10%, associated to the casual participation of the animal. After one year, repetitions of blood samples were made on the same dogs, in their homes. The serological diagnostic method used, both times, was the indirect immunofluorescence assay (IFA). The serological results in dogs proved nonreactive. Thus, considering that this study found only paired serological results were also negative in the identification of canine LVA in the city and that the size sampled was significant for the conditions of the research, it can be said that the dog population of the urban area studied was - at the time, without any indication of the occurrence of the disease.

Keywords: American Visceral Leishmaniasis, epidemiological situation, paired test, dogs, Botucatu.

ESTUDIO SEROEPIDEMIOLOGICO PROSPECTIVO DE LEISHMANIASIS VISCERAL AMERICANA CANINA EN BOTUCATU, SP

RESUMEN

La leishmaniasis visceral Americana (LVA) es una enfermedad zoonótica, expuesta a unas 200 millones de personas en los cinco continentes del mundo y tiene un gran impacto en la salud pública, debido a la alta mortalidad en seres humanos. En Brasil, el perro doméstico (*Canis familiaris*) es el principal reservorio de la LVA, y este animal es la principal fuente de infección para el hombre. Este estudio tuvo como objetivo evaluar utilizando muestras sucesivas del mismo animal, en el intervalo de un año, la situación seroepidemiológica prospectiva de la LVA en la población canina de la zona urbana de 100km² de Botucatu, SP, que es clasificado epidemiológicamente silencioso, no receptivo y vulnerable. Para el presente estudio, se utilizaron 360 perros seleccionados al azar representativos de la zona urbana, que tuvieron muestras de sangre colectadas por primera vez en la 41^a campaña de vacunación anual contra la Rabia. Para determinar el tamaño de la muestra se utilizó el nivel de confianza del 95% acoplado a un error de estimación de alrededor de 10%, asociado a la participación ocasional del animal. Después de un año, se realizaron repeticiones de colecta de muestras de sangre en los mismos perros en sus domicilios. El método de diagnóstico serológico utilizado, en ambas ocasiones, fue la prueba de reacción de inmunofluorescencia indirecta (RIFI). Los resultados serológicos en perros se demostraron no reactivos. De esta manera, considerando que el presente estudio encontró solamente resultados serológicos pareados no reactivos en la identificación de LVA canina en Botucatu y que el tamaño de muestra fue significativo para las condiciones del estudio, se puede afirmar que la población canina del área urbana estudiada se encuentra, en ocasión, sin indicativos de ocurrencia de la enfermedad.

Palabras clave: Leishmaniasis visceral americana, situación epidemiológica, pruebas sucesivas perros, Botucatu.

INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral Americana (LVA) é uma enfermidade de caráter zoonótico, exposta a cerca de 200 milhões de pessoas entre os cinco continentes do mundo e é endêmica em 70 países. Estima-se que, anualmente, 500 mil novos casos são diagnosticados no mundo (1-3).

Na América Latina, já foi descrita em 12 países, sendo que 90% dos casos ocorrem no Brasil (1,2). A doença apresenta aspectos climáticos e sociais diferenciados no Brasil, com destaque para a ampla distribuição geográfica, que envolve as regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste (1). Somente no ano de 2010, houve o registro de 3526 casos humanos (4), com incidência de 1,8 (5), e letalidade de 6,2 em cada 100 mil habitantes (6).

No estado de São Paulo, desde o primeiro registro da ocorrência da LVA em 1998, até novembro de 2011, estima-se a ocorrência da transmissão em 100 municípios, com o registro de 1875 casos humanos autóctones confirmados. Dentre eles, 159 evoluíram ao óbito (7).

Segundo a Secretaria Municipal de Saúde em 2012 foram notificados no Brasil 3036 casos de LV em humanos sendo 216 óbitos, com maior incidência na região Nordeste com 1309 casos. No ano de 2013 foram notificados 3253 casos com 231 óbitos, tendo a região Nordeste 1745 casos. No estado de São Paulo foram notificados no ano de 2012, 194 casos com 12 óbitos, no ano de 2013 notificaram-se 160 casos no estado com 13 óbitos, do total de casos do ano de 2013, 26 ocorreram na região de Bauru/SP, área endêmica para a enfermidade, localizada a 95km do município de Botucatu (8).

A investigação da ocorrência de uma doença em uma população tem por objetivo determinar medidas estratégicas básicas para a prevenção e o controle de doenças e auxiliar na identificação da situação epidemiológica local em qualquer momento (9,10). Para a LVA canina, no entanto, é de extrema importância manter medidas de vigilância epidemiológica (7). Estas têm por objetivo determinar medidas estratégicas básicas para a prevenção e o controle de doenças e auxiliar na redução de mortalidade, letalidade em humanos e na identificação da situação epidemiológica local em qualquer momento dado (9,10).

As estratégias do Programa de Controle da Leishmaniose Visceral Americana (PCLVA) do Estado estão centradas na vigilância epidemiológica como um pilar para as medidas de profilaxia e controle da transmissão, tendo por objetivo a redução de mortalidade e letalidade em humanos (11).

A vigilância epidemiológica é um conjunto de procedimentos, de natureza sistemática e permanente, por meio do qual tomamos conhecimento dos eventos relacionados com a presença de doenças e respectivos meios de combate, em uma determinada área geográfica. Fica evidente que esse recurso diagnóstico tem como propósito básico a obtenção contínua de conhecimentos a cerca dos competentes envolvidos com a ocorrência de doenças, visando a oferecer elementos de apoio aos programas de prevenção, tanto em nível de controle como a de erradicação dessas (12). A vigilância epidemiológica, por sua vez, quando realizada em amostras de soro pareadas do mesmo animal melhora o nível de sensibilidade, aumentando, com isso, a probabilidade de detecção do agente infeccioso. Pode-se assegurar com alta probabilidade de segurança que os animais testados estejam, provavelmente, livres da condição que foi investigada (9).

Conforme o BEPA (7), até o presente momento, o município de Botucatu, SP, localizado no interior do estado de São Paulo, é classificado segundo o PCLVA como silencioso não receptivo e vulnerável, ou seja, não possui confirmação de casos autóctones humanos e caninos nem a presença conhecida do vetor, mas tem proximidade com cidades endêmicas.

Considerando essa condição de vulnerabilidade do município de Botucatu à LVA canina, objetivou-se avaliar, no presente estudo, a situação epidemiológica desta enfermidade

em amostras de soros pareadas de cães, no intervalo de 12 meses, representativos da área urbana de 100km² do Município.

MATERIAL E MÉTODOS

As colheitas das amostras caninas foram realizadas na 41^a campanha de vacinação anual contra a Raiva de cães, realizada em 2009, compreendendo os 100 km² de área urbana de Botucatu. Na ocasião foram vacinados 23755 cães (13). Destes, 360 cães foram aleatoriamente selecionados para o plano amostral, independentemente de raça, idade ou sexo. Esse tamanho amostral representou-se nas cinco regiões setoriais da área urbana do Município, conforme levantamento sobre o histórico dos dez últimos anos de campanha de vacinação, visando procurar uma melhor acurácia para a representatividade do universo. Dentre os 72 postos de vacinação distribuídos pela área urbana, foram escolhidos 13 postos localizados nos bairros: Jd. Continental, Jd. Monte Mor, COHAB II, Jd. Peabiru, Jd. Brasil, Vila São Luiz, CECAP, Jd. Nossa Senhora da Penha, Parque 24 de Maio, COHAB I, Parque Marajoara, Rubião Júnior e Vila Real.

Após o consentimento livre e esclarecido assinado pelo dono do cão, foi preenchido um protocolo de identificação do animal, sendo tirada uma foto para posterior anexação no seu protocolo. Cumpridos esses procedimentos, as 360 amostras sanguíneas caninas foram colhidas por venopunção da veia cefálica, safena ou jugular e acondicionadas em tubos de ensaio estéreis sem anticoagulante. As amostras foram transportadas ao laboratório para centrifugação e obtenção do soro sanguíneo. Os soros foram alíquotados em microtubos e mantidos a -20°C até o momento da realização do teste sorológico.

Para obtenção da segunda amostra de sangue dos mesmos cães, foram realizadas visitas domiciliares, um ano após, e os cães comparados com as fotos do protocolo de identificação.

Os testes diagnósticos sorológicos da LVA canina utilizados foram os recomendados pelo PCLVA (11) e pelos Órgãos de Saúde Pública, sendo o Ensaio Imunoenzimático (ELISA) como método de triagem e a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) como teste confirmatório. No presente estudo a teste diagnóstico utilizado foi a RIFI para todas as amostras. Na técnica padrão RIFI, as amostras consideradas reagentes são as que apresentam títulos iguais ou superiores a 40 (2,3,11,14).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No estudo realizado, não foram encontrados cães reagentes no teste RIFI para LVA canina em ambas as amostras caninas. O antígeno utilizado para o teste diagnóstico foi *Leishmania chagasi*, que apresenta sensibilidade aproximada de 98,3% e especificidade aproximada de 94,1% (15). Considerando os elevados valores de sensibilidade e especificidade pode-se assegurar baixo risco de interpretações errôneas e oferecer maior confiança para os testes empregados (15).

São poucas as pesquisas que abordam a análise sorológica pareada de cães utilizando o teste RIFI como uma forma de vigilância epidemiológica para LVA canina em áreas consideradas não endêmicas. No entanto, alguns estudos de vigilância epidemiológica da enfermidade pela técnica RIFI se reportam a áreas endêmicas, como, por exemplo, Barboza et al. (16) que investigaram a incidência da enfermidade em um grupo de 147 cães de 20 áreas localizadas nos municípios de Lauro Freitas e Camaçari, Bahia. Esses cães foram acompanhados durante o período de nove a 18 meses e foram observadas soroconversões em 27 cães (18,4%). Assim como Alves (17), utilizando o mesmo teste de diagnóstico, realizou a primeira colheita de sangue em 80 cães de Teresina, Piauí, encontrando 40 animais não reagentes. Os cães sorologicamente negativos foram acompanhados ao longo de um ano e houve soroconversões em 25 cães (62,5%) deles. Na segunda colheita, 15 cães (60%)

tornaram-se sorologicamente positivos no período de três meses, na terceira cinco (20%) positivaram em seis meses e na quarta, outros cinco animais (20%) positivaram no intervalo de nove meses.

No Município objeto deste estudo, até então, não havia sido realizado pesquisa sorológica pareada como forma de identificar a LVA canina. No entanto, há trabalhos como o de Brant et al. (18) que identificaram que 10% (67/660) dos cães residentes no Município eram provenientes de municípios limítrofes a Botucatu e considerados endêmicos para LVA canina. Carvalho (19), analisando 676 amostras sanguíneas caninas do mesmo Município, obteve apenas uma amostra sorologicamente reagente na RIFI pra LVA canina.

Luciano et al. (20) analisaram, pelo teste RIFI, 150 amostras de cães provenientes de Botucatu e encontraram 136 (90,6%) cães não reagentes para *Leishmania spp* e *Trypanosoma cruzi*; cinco (3,3%) para *T. cruzi*; cinco (3,4%) para *Leishmania spp.* e *T. cruzi* e quatro cães (2,7%) reagentes somente para *Leishmania spp.*, demonstrando ser, provavelmente, um título de infecção para leishmaniose sem a ocorrência da reatividade cruzada. No entanto, Victória et al. (21), não encontraram, em suas pesquisas, o vetor *Lutzomyia longipalpis*, no Município. O que sugere, provavelmente, que os animais reagentes para *Leishmania spp* poderiam proceder de regiões endêmicas.

A interpretação de um teste sorológico de diagnóstico depende das condições epidemiológicas em que ele é realizado. Assim, mesmo encontrando resultados sorológicos pareados negativos na identificação da LVA canina em cães representativos da área urbana do Município e levando em consideração as condições de risco e vulnerabilidade à enfermidade, não se pode prescindir da necessidade da realização de frequentes vigilâncias epidemiológicas ativa e passiva no Município.

CONCLUSÃO

Os resultados sorológicos nos cães revelaram-se não reagentes. Desta forma, considerando que o presente estudo encontrou apenas resultados sorológicos pareados não reagentes na identificação da LVA canina no Município e que o tamanho amostrado foi significativo para as condições da pesquisa, pode-se afirmar que a população canina da área urbana estudada encontrava-se, na ocasião, sem indicativos da ocorrência da enfermidade.

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília: Ministério da Saúde; 2006. p.9-29.
2. World Health Organization. Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis. WHO technical report series. Geneva: World Health Organization; 2010.
3. Michalick MSM, Ribeiro RR. Leishmaniose visceral americana. In: Neves DP, Linardi PM, Vitor RWA, Melo AL. Parasitologia humana. 12a ed. São Paulo: Atheneu; 2012. p.69-88.
4. Ministério da Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Casos confirmados de leishmaniose visceral, Brasil, grandes regiões e unidades federadas: 2010. Brasília: Ministério da Saúde; 2011.

5. Ministério da Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Letalidade de leishmaniose visceral, Brasil, grandes regiões e unidades federadas: 2010. Brasília: Ministério da Saúde; 2011.
6. Ministério da Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Taxa de incidência da leishmaniose visceral, Brasil, grandes regiões e unidades federadas: 2010. Brasília: Ministério da Saúde; 2011.
7. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Classificação epidemiológica dos municípios segundo o Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana no Estado de São Paulo, atualizado em novembro de 2011. Bol Epidemiol Paul. 2011;8:32-6.
8. Ministério da Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Casos confirmados de leishmaniose visceral, Brasil, grandes regiões e unidades federadas: 2014. Brasília: Ministério da Saúde; 2014.
9. Thrusfield M. Veterinary epidemiology. 3rd ed. Oxford, UK: Blackwell Science; 2007. p.22-33, 323-30.
10. Organização Pan Americana da Saúde. Módulo de Princípios de Epidemiologia para o Controle de Enfermidades. Brasília: Organização Pan Americana da Saúde, Ministério da Saúde; 2010. p.8-24.
11. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Superintendência de Controle de Endemias. Manual de vigilância e controle de leishmaniose visceral americana do Estado de São Paulo. São Paulo: Secretaria de Estado da Saúde; 2006. p.11-5.
12. Côrtes JA. Epidemiologia: conceitos e princípios fundamentais. São Paulo: Varela; 1993.
13. Secretaria Municipal de Saúde (Botucatu). Relatório da campanha antirrábica de 2009. Botucatu: Secretaria Municipal de Saúde; 2009. p.1-9.
14. Ministério da Saúde. Esclarecimentos sobre diagnóstico sorológico da leishmaniose visceral canina utilizado na rede pública de saúde - Nota técnica n.48. Brasília; 2011.
15. Laurenti MD. Correlação entre o diagnóstico parasitológico e sorológico na leishmaniose visceral americana canina. Bol Epidemiol Paul. 2009;6:1-8.
16. Barboza DCPM, Gomes Neto CMB, Leal DC, Bittencourt DVV, Carneiro AJB, Souza BMPS, et al. Estudo de coorte em áreas de risco para leishmaniose visceral canina, em municípios da região metropolitana de Salvador, Bahia, Brasil. Rev Bras Saude Prod Anim. 2006;7:152-63.
17. Alves GBB. Soro-conversão e avaliação das alterações renais em cães recém-infectados por Leishmania (Leishmania) chagasi [dissertação]. Teresina: Universidade Federal do Piauí; 2011.
18. Brant JL, Costa VM, Padovani CR, Langoni H, Modolo JR. Origem da população canina de Botucatu/SP como parâmetro de risco de introdução da leishmaniose visceral. Comunicação Curta. Vet Zootec. 2010;17:348-53.

19. Carvalho JLB. Leishmaniose visceral canina: busca ativa de casos e estudo sobre o conhecimento da doença em proprietários de cães na área urbana de Botucatu [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2007.
20. Luciano RM, Lucheis SB, Trocarelli MZ, Luciano DM, Langoni H. Avaliação da reatividade cruzada entre antígenos de *Leishmania* spp e *Trypanosoma cruzi* na resposta sorológica de cães pela técnica de imunofluorescência indireta (RIFI). *Braz J Vet Res Anim Sci.* 2009;46:181-7.
21. Victória C, Modolo JR, Souza LC, Oliveira AG. Pesquisa e identificação de flebotomíneos (díptera psychodidae) na zona urbana e periurbana do município de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil: resultados parciais. In: I Simposio Iberoamericano de Zoonoses Emergentes e Reemergentes; 2011; Punta Del Este. Punta Del Este: Sociedad de Medicina Veterinaria Del Uruguay; 2011.

Recebido em: 11/12/2013

Aceito em: 17/04/2015

IMUNO-EXPRESSÃO DE COX-2, CASPASE3, KI67 E SURVIVINA EM TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL CANINO

Sandra Bassani Silva¹
Haline Feo Ballesteros²
Luis Mauricio Montoya Flórez¹
Noeme Sousa Rocha³

RESUMO

O tumor venéreo transmissível (TVT) é uma neoplasia de células redondas de aspecto plasmocitóide ou linfocitóide. O tumor apresenta várias particularidades. Nos últimos anos, tem-se evidenciado aumento progressivo de tumores com elevados percentuais de agressividade e variável resposta à quimioterapia, inclusive resistência; desta forma, tentar prever este comportamento torna-se importante para auxiliar decisões quanto ao prognóstico e manejo do tumor antes e durante a terapia. Sabendo-se que a utilização da survivina, bem como da caspase-3, do Ki-67 e da COX-2 são importantes para auxiliar no prognóstico, no manejo do paciente e na monitoração da doença durante e após a terapia, este trabalho visou observar em TVTs diferenças na expressão dos imunomarcadores acima citados. Para tal, foi utilizada a técnica de imunocitoquímica em preparações citológicas de 30 tumores de cães atendidos no Hospital Veterinário da FMVZ-UNESP, Campus de Botucatu e os dados analisados pelo teste de spearman ($p < 0,05$). A positividade da survivina variou de 96,15 a 100% em 200 células contadas por amostra, sendo sua principal localização citoplasmática. A marcação pelo anticorpo anti-caspase-3 nos 30 casos de TVT foi baixa, variando de 0 a 6,5% de positividade em 200 células contadas. Em 21 casos, foi possível observar marcação pelo Ki-67, e houve uma média de positividade de 15,57%. Finalmente, em todos os casos houve expressão de COX-2 com valores que variaram de 90,66 a 100% de positividade em 200 células contadas, exceto por um caso que apresentou 24,5% de positividade. Em conclusão, é possível que o emprego destes marcadores no TVT possa auxiliar no estabelecimento de um tratamento diferenciado, pelo que recomendamos, avaliar sua expressão comparando com o tipo de resposta à terapia.

Palavras-chave: imunocitoquímica, quimioterapia, tumor.

COX-2, CASPASE 3, KI67 AND SURVIVIN IMMUNOEXPRESSION IN CANINE TRANSMISSIBLE VENEREAL TUMOR

ABSTRACT

Transmissible venereal tumor is a neoplasm of round cell plasmocitoid and lymphocitoid aspect. The tumor present several particularities, for example, in the recent years has been evidenced a progressive increase of tumor with high percentages of aggressiveness and different response to chemotherapy, including resistance. Research this comportment to predict this behavior becomes important to aid decision as to the prognosis and management of the tumor before and during therapy. It is know that the use of the survivin, caspase-3, Ki67 and COX-2 are important to aid prognosis, the patient management and monitoring the

¹ Laboratório de Patologia Veterinária Comparada, Departamento de Clínica Veterinária, FMVZ, UNESP-Botucatu

² Laboratório de Patologia Veterinária Comparada, Departamento de Clínica Veterinária, FMVZ, UNESP-Botucatu. Contato principal para correspondência.

³ Professora do Departamento de Clínica Veterinária, Laboratório de Patologia Veterinária Comparada, FMVZ, UNESP-Botucatu.

tumor during and after therapy. This study aimed to identify differences in the expression of the above mentioned immunomarkers in TVT. For this purpose, the technique of immunocytochemistry on cytological preparations of 30 tumors of dogs examined at the Veterinary Hospital FMVZ-UNESP, Botucatu was used and the data analyzed by the spearman test ($p < 0,05$). The survivin positivity ranged from 96.15 to 100% in 200 cells counted per sample, and its main cytoplasmic localization. The labeling by the anti-caspase-3 in 30 cases of TVT was low, ranging from 0 to 6.5% positivity in 200 cells counted. In 21 cases, it was observed by Ki-67 labeling, and there was an average of 15.57% positivity. Finally, in all cases there was expression of COX-2 with values ranging from 90.66 to 100% positivity in 200 cells counted, except for one case which showed 24.5% positivity. In conclusion, it is possible that the use of these markers in the TVT may assist in establishing a differential treatment, and we recommend, evaluate its expression compared with the type of response to therapy.

Keywords: immunochemistry, chemotherapy, tumor.

IMUNOEXPRESIÓN DE COX-2, CASPASE 3, KI67 Y SURVIVIN EN TUMOR VENÉREO TRANSMISIBLE CANINO

RESUMEN

El tumor venéreo transmisible (TVT) es una neoplasia de células redondas de aspecto plasmocitóide o linfocitoide. El tumor presenta varias particularidades, por ejemplo, en los últimos años se ha evidenciado aumento progresivo de tumores con elevados porcentajes de agresividad y variable respuesta a la quimioterapia, inclusive resistencia; desta forma, intentar predecir este comportamiento se torna importante para auxiliar decisiones relacionadas con el pronóstico y manejo del tumor antes y durante de la terapia. Se sabe que la utilización de la survivina, así como la caspasa-3, del Ki-67 y de la COX-2, son importantes para auxiliar el pronóstico, manejo del paciente y el monitoramiento de un tumor durante la terapia, así, este trabajo busco identificaren TVTs la diferencia en la expresión de los inmunomarcadores citados. Para ello, fue utilizada la técnica de inmunocitoquímica en preparaciones citológicas de 30 tumores de caninos atendidos en el Hospital Veterinario de la FMVZ-UNESP, Campus Botucatu y los datos analizados a través del test de spearman ($p < 0,05$). La positividad de la survivina vario de 96,15 % a 100% en 200 células contadas. La marcación anti-caspasa -3 en los 30 casos de TVT fue baja variando de 0% a 6,5%. En 21 casos fue posible observar marcación por el Ki67, y hubo una media de positividad de 15,57%. Finalmente, en todos los casos hubo expresión de COX-2 con valores que variaron de 99,66 % a 100% de positividad en 200 células contadas, excepto por un caso que presento 24,5 % de positividad. En conclusión, es posible que el empleo de estos marcadores en TVT puedan auxiliar el establecimiento de un tratamiento diferenciado, por lo que recomendamos, evaluar su expresión comparada con el tipo de respuesta a la terapia.

Palabras clave: inmunocitoquímica, quimioterapia, tumor.

INTRODUÇÃO

O tumor venéreo transmissível (TVT) desperta nos pesquisadores em oncologia grande interesse por diversas características, entre elas sua origem controversa (1,2), resistência a quimioterapia (3) e um comportamento agressivo de alguns subtipos celulares (4), além de se prestar como um excelente modelo de investigação para neoplasia comparada (5,6).

Os processos de proliferação, diferenciação e morte-celular que ocorrem nas neoplasias são fundamentais para o entendimento do comportamento biológico do tumor (7,8). Portanto, estudos do índice de proliferação celular e da taxa de apoptose das células neoplásicas são de extrema importância para a determinação da agressividade tumoral e do monitoramento da neoplasia (9-11).

O crescimento tumoral é determinado por três fatores principais, dentre eles o tempo do ciclo celular, a porcentagem das células em proliferação e o número de células perdidas. Nas últimas duas décadas, numerosos estudos clínicos, experimentais e epidemiológicos tem correlacionado o desenvolvimento e a progressão do tumor com a presença da ciclooxigenase-2 (COX-2) nas células neoplásicas do homem e dos animais (12-15).

Atualmente, sabe-se que a COX-2 está intimamente relacionada com o desenvolvimento de tumores, afetando sua progressão pela inibição da apoptose, além de promover angiogênese, invasão, e proliferação de células tumorais (15). Ela é considerada o “primeiro gene imediato”, formada quando a célula é estimulada e participa de processos como inflamação e carcinogênese (13).

A sua superexpressão tem sido demonstrada em uma variedade de doenças malignas, tais como, cânceres de pulmão, ovário e colo do útero, sendo geralmente associada a resultados de sobrevivência desfavoráveis (14,16,17). O Ki-67, um antígeno de proliferação celular expresso durante todas as fases do ciclo celular, exceto G0, também é um parâmetro confiável de que a célula mantém a capacidade de se proliferar, possuindo alta viabilidade (18).

Estudos da morfologia e da imunocitoquímica de tumores no homem e em modelos animais evidenciam que a progressiva resistência à apoptose é uma das características marcantes da grande maioria dos cânceres (10,19,20), sendo importante inclusive na determinação de sua agressividade (21,22). A apoptose envolve proteases, dentre elas a caspase-3, responsáveis por regular ativadores que clivam proteínas nucleares e do citoesqueleto, induzindo apoptose e morte celular irreversível (18).

Knauer et al. (10), observaram que uma redução da apoptose tumoral tem sido correlacionada com a expressão da survivina, o que leva ao aumento da resistência do câncer a terapia e a redução do tempo de sobrevivência do paciente. Sendo a survivina uma potente inibidora da caspase, sua superexpressão nas células neoplásicas implica na resistência a diferentes estímulos apoptóticos, incluindo a quimioterapia (23,24).

Estudos imunocitoquímicos têm ajudado a auxiliar no prognóstico, no manejo do paciente e na monitoração da doença durante e após a terapia. Sabendo-se que a utilização da survivina, bem como da caspase-3, Ki-67 e da COX-2 são importantes para tal, este estudo visou, identificar as taxas de expressão do Ki-67, da caspase-3, da survivina e da COX-2, em TVTs.

MATERIAL E MÉTODOS

Dados clínicos dos animais

O estudo foi aprovado pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP-Botucatu, São Paulo, Brazil. Amostras foram retiradas a partir de 30 cães com diagnóstico citológico de tumor venéreo transmissível (TVT) (25). Os animais foram selecionados no Hospital Veterinário, UNESP-Botucatu, sem restrição de sexo, raça ou idade.

Coleta do material tumoral

Para coleta do material foi realizada a punção ou esfoliação da massa e o conteúdo foi colocado sobre lâminas histológicas, procedendo-se imediatamente a extensão do material

(26). As lâminas foram secas, fixadas em metanol e coradas pelo método de Giemsa para a avaliação citomorfológica.

Um segundo aspirado foi realizado, suspendendo-se as células em 1,5mL de PBS livre de Ca⁺⁺ e Mg⁺⁺ gelado. Esta suspensão foi centrifugada com velocidade entre 550 e 600 rpm, durante três minutos e o conteúdo colocado em lâminas que foram posteriormente utilizadas para realização das técnicas de imunocitoquímica (27).

Avaliação citomorfológica

As preparações citológicas coradas pelo Giemsa foram submetidas à avaliação da morfologia celular, de acordo com as características do tipo celular predominante da seguinte forma: mais de 60% das células de TVT com morfologia ovóide, citoplasma abundante e núcleo localizado excentricamente foram classificados como TVTs plasmocitóides; mais de 60% de células de TVT com morfologia arredondada, citoplasma escasso e núcleo redondo e central como TVTs linfocitóides.

Os esfregaços corados pelo Giemsa foram avaliados com diferentes objetivas para detalhamento das características celulares e contagem de células, sendo contados em cada lâmina no mínimo dez campos aleatórios não sobrepostos para a obtenção da classificação do tipo celular predominante, totalizando 100 células de cada amostra.

Avaliação imunocitoquímica

Na imunocitoquímica, foram utilizados os anticorpos survivina, caspase3, Ki-67 e COX-2, como descrito na tabela 1.

Tabela 1. Anticorpos utilizados na marcação de amostras citológicas de tumor venéreo transmissível.

Anticorpo	Clone	Marca	Tipo	Concentração
Caspase-3	Asp 175	CellSignaling	policlonal	1:200
Survivin	5E8 - Hu	Labvision	monoclonal	1:100
Ki-67	MIB-1	DakoCytomation	monoclonal	1:50
COX-2	CX-294	DakoCytomation	monoclonal	1:50

Para a análise imuno-citoquímica, as lâminas contendo as células foram permeabilizadas, hidratadas, a seguir feito o bloqueio da peroxidase endógena em uma solução de peróxido de hidrogênio 10 volumes, durante 20 minutos, posteriormente, seguiu-se com três incubações, a primeira com os anticorpos primários em câmara úmida por 18 horas (“overnight”) a 4°C.), a segunda com um anticorpo secundário universal (Universal Biotinilado DAKO K0690® Carpintería EU) e por fim, o complexo streptoavidinaPeroxidase (DAKO K0690® Carpintería EU). A revelação feita com Diaminobenzidina (DAB DAKO K3468® Carpintería EU) e a Contra-coloração: com Hematoxilina de Meyer. Posteriormente a montagem das lâminas, para a análise.

Lâminas de controle negativo foram processadas juntamente com as demais, onde foi suprimido o anticorpo primário na incubação e substituído por imunoglobulinas de camundongo (para os anticorpos monoclonais) e coelho (para os anticorpos policlonais).

As análises imunocitoquímicas foram realizadas com o auxílio do programa de análise de imagens (QWin v3.0 Leica) e uma câmera digital (Leica DFC) acoplada a um microscópio (Leica DMLD). Para avaliação do percentual de positividade foram contadas 200 células de TVT consecutivas no aumento de 400x, completando o campo todo, sendo assinaladas as células que apresentavam reação positiva e negativa separadamente, bem como anotados os padrões de marcação (nuclear, citoplasmático, nuclear e citoplasmático).

Análise estatística

Para as análises dos dados, foi empregado o programa Statistica7 (Stat soft). Foram utilizados testes não paramétricos de correlação de Spearman para correlacionar os marcadores imunocitoquímicos, com nível de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS

No total, foram coletados 30 TVTs, provenientes de cães de Botucatu e cidades vizinhas, como São Manuel, Laranjal Paulista, Barra Bonita, Bauru entre outras, sendo que 18 eram machos e 12 eram fêmeas, com idades variando entre um e 14 anos, sendo que 70% dos animais estavam concentrados na faixa entre dois e seis anos.

O exame citológico do tumor permitiu diagnosticar e classificá-los, entretanto, a morfologia plasmocitóide foi a que predominou com 93,34% dos casos, seguido pelo linfocitóide (6,66%) (Figura 1).

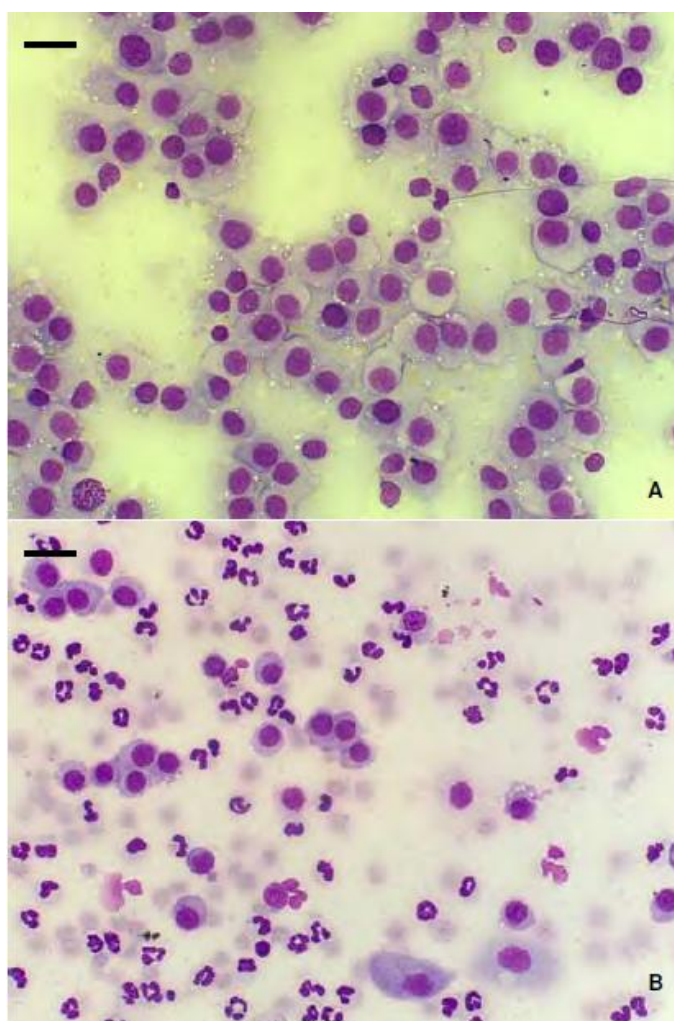


Figura 1. Amostras citológicas de tumor venéreo transmissível dos diferentes tipos citomorfológicos: **A.** padrão plasmocitóide (predomínio de células ovóides, citoplasma amplo e núcleo excêntrico); **B.** padrão linfocitóide (predomínio de células redondas, citoplasma escasso e alta relação núcleo:citoplasma). Giemsa, barra: 20 μ m.

A expressão da survivina foi observada nos 30 esfregaços de TVT estudados (Figura 2a), sendo que sua positividade variou de 96,15 a 100% em 200 células contadas. A principal localização da marcação foi citoplasmática e em dois casos, foi citoplasmática e nuclear.

A marcação pelo anticorpo anti-caspase-3 foi baixa, variando de 0 a 6,5% de positividade em 200 células contadas (Figura 2b). Uma observação interessante é que em 11 esfregaços houve marcação nuclear, além da citoplasmática.

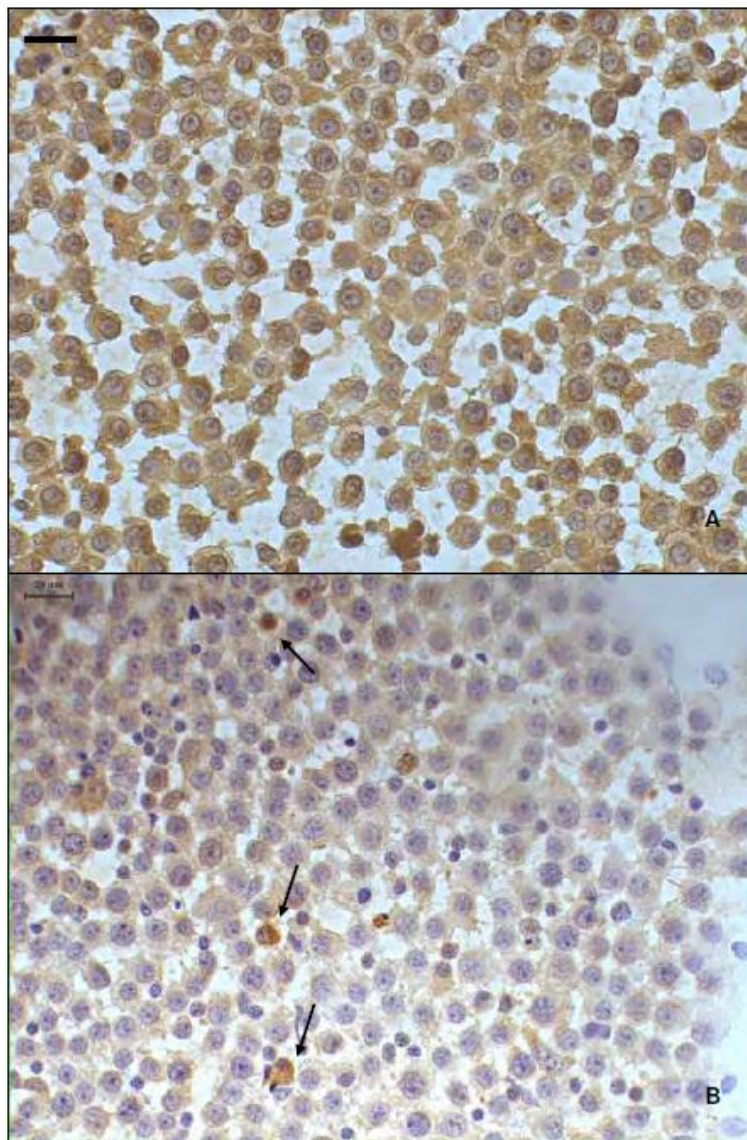


Figura 2. Marcação pelos anticorpos em amostras citológicas de tumor venéreo transmissível (TVT) canino: **A.** anticorpo monoclonal anti-survivina; **B.** anticorpo policlonal anticaspase-3; células com marcação citoplasmática (setas). Cromógeno DAB, contra coloração hematoxilina de Harris; barra: 20µm.

Em 21 esfregaços, foi possível observar marcação pelo Ki-67, (Figura 3a) e houve uma média de positividade para o Ki-67 de 15,57 %. Finalmente, todos os esfregaços de TVT apresentaram expressão de COX-2 (Figura 3b). Os valores variaram de 90,66 a 100% de positividade em 200 células contadas, exceto por um caso que apresentou 24,50% de positividade.

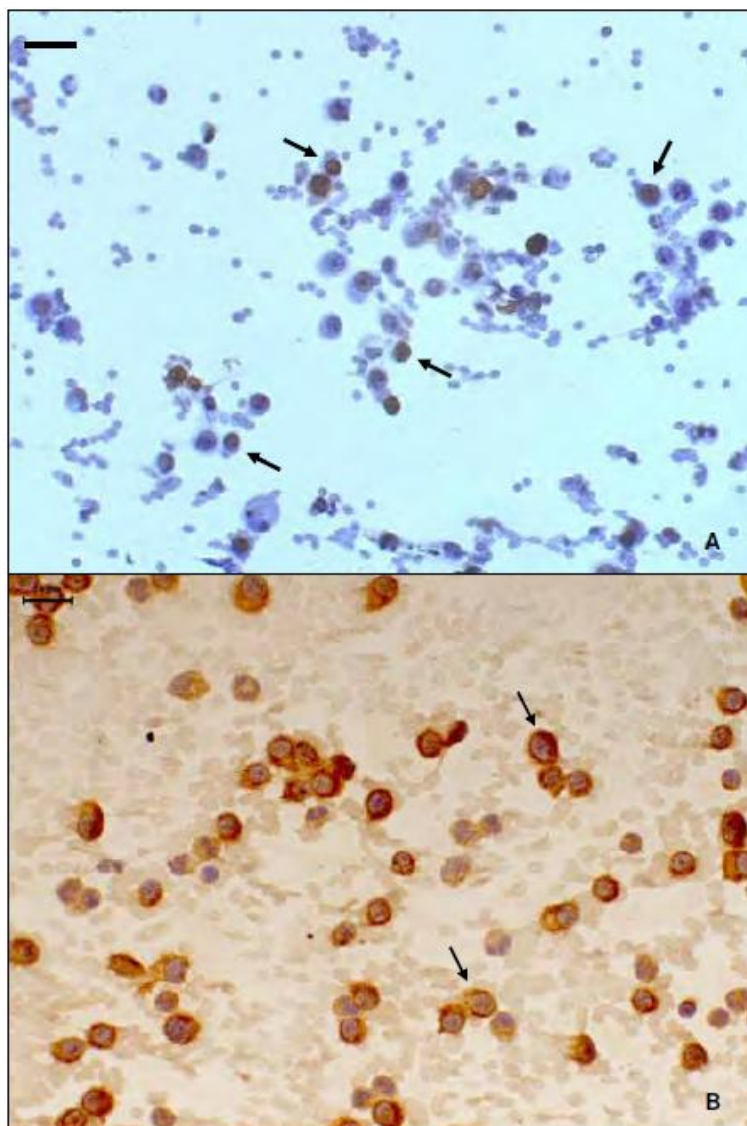


Figura 3. Marcação pelos anticorpos em amostras citológicas de tumor venéreo transmissível (TVT) canino: **A.** anticorpo monoclonal Ki-67 (clone Mib-1); células com marcação nuclear (setas); **B.** anticorpo monoclonal anti-COX-2; observar marcação ao redor do núcleo (setas). Cromógeno DAB, contra-coloração hematoxilina de Harris; barra: 20 μ m.

DISCUSSÃO

Os dados epidemiológicos obtidos dos animais deste trabalho foram os seguintes: sem predileção por sexo, raça, e acesso constante a rua, de forma semelhante aos descritos na literatura (28,29). Por outro lado, os dados obtidos nesta pesquisa, bem como de outras desenvolvidas pelo nosso grupo não diferem com relação idade e sexo (28-31).

A classificação morfológica do tumor em plasmocitoide, linfocitoide e misto padronizada e já bem estabelecida pelo nosso grupo, também foi aplicada nessa pesquisa. Entretanto, houve predominância de 93,34% para plasmocitoide. Essa morfologia vem se repetindo ao longo dos estudos, principalmente em TVTs com tempo de evolução maior. Em trabalhos realizados dentro do grupo observou-se entre 74% a 95%, nessa morfologia (28-31).

Supomos que os TVTs iniciam-se como linfocitóides, tornam-se mistos e depois se tornam plasmocitóides. Em um trabalho realizado por Amaral (29), os casos de TVT atendidos no HV – UNESP – Botucatu, foram classificados com relação à evolução clínica em recentes (com até três semanas de evolução), estabelecidos (com três a oito semanas de

evolução) ou antigos (com mais de oito semanas) e verificou-se que os tumores antigos eram os predominantes com 52,5% (86 casos), dos 164 casos estudados. Isso reforça o fato dos tumores encontrados no presente estudo terem sido a maioria de padrão plasmocitóide, uma vez que os proprietários demoram em levar o animal ao atendimento clínico.

O resultado da marcação imunocitoquímica permitiu observar a expressão da survivina em 28 amostras de TVT a nível citoplasmático (Figura 2a), e em dois casos, a marcação foi citoplasmática e nuclear. A localização nuclear ou citoplasmática da survivina tem importante influência na progressão tumoral (32). Survivina tem sido encontrada na mitocôndria de células cancerígenas e, diante de estímulos apoptóticos, são rapidamente liberadas no citoplasma onde previnem ativação de caspases e inibem a apoptose (33).

Quando localizadas no núcleo, parecem aumentar a capacidade de reparo de rupturas de filamentos de DNA, principalmente em células cancerígenas (24). Ela regula a fase G2/M do ciclo celular por se associar aos fusos dos microtúbulos mitóticos, e inibe diretamente a atividade da caspase-3 e da caspase-7 (34). Em um estudo feito em câncer de mama na mulher, observou-se correlação entre a expressão da survivina e da caspase-3 com o grau histológico do tumor, porém não houve correlação entre a expressão da survivina com a caspase-3 (35). No presente estudo, a expressão da survivina quando comparada com a expressão da caspase-3 pelo método não paramétrico de correlação de Spearman, também não mostrou correlação ($p=0,06$), resultado semelhante a Nassar et al. (35). Porém, foi constatado que o número de células marcadas pela caspase-3 foi pequeno, fato esperado frente a intensa marcação da survivina.

Necochea-Campion et al. (32), afirmam que localização nuclear ou citoplasmática da survivina e sua correlação com prognóstico ainda é controversa. Alguns autores citam que a localização nuclear tem prognóstico pior (36,37), porém outros (38,39) sugerem que esta questão exige uma investigação mais aprofundada. Sua super-expressão está associada ainda com a resistência a radiação e quimioterapia (32,40), dentre eles a vincristina, cisplatina, entre outros (41).

A marcação pelo anticorpo anti-caspase-3 nas 30 amostras de TVT foi baixa. As caspases são proteases dependentes de cisteína e importantes mediadores da apoptose. Estudos tem confirmado a contribuição de vias apoptóticas desreguladas no desenvolvimento e progressão do câncer (42). Em linfomas caninos, o índice apoptótico, avaliado pela caspase-3, não é diferente entre os tumores de alto e baixo grau de malignidade, nem entre os linfomas T e B (43). Já nos tumores de mama em cadelas, DeNardi (44) observou aumento da imunomarcação para caspase 3 nos carcinomas de mama que metastatizaram e nas metástases pulmonares. Nos adenomas, carcinomas não metastáticos e nos carcinomas inflamatórios a taxa de apoptose celular foi baixa e sem diferença entre esses grupos.

Nos homens, neoplasias altamente agressivas possuem uma expressão citoplasmática menor de caspase-3 que as neoplasias de grau baixo (45,46) e as que apresentam marcação difusa tendem a apresentar pior prognóstico (45). Nos casos de TVT não foi observada diferença de marcação da caspase-3 entre os animais que apresentavam metástases e os que possuíam apenas TVT genital, sendo que a marcação foi citoplasmática difusa e com positividade baixa, o que sugere um comportamento agressivo do TVT.

Já para a marcação pelo Ki-67, em 21 amostras foi possível a contagem de células marcadas (Figura 3a) e houve uma média de positividade de 15,57 %, assemelhando-se aos resultados relatados por Greattie et al. (47), que encontraram média de 10,8% nos esfregaços citológicos de TVT.

Segundo Yang et al. (48), os índices do Ki-67 para tumores mamários malignos em mulheres eram significativamente maiores que dos tumores benignos ou das hiperplasias. Estes achados foram consistentes com os resultados de estudos prévios com tumores mamários caninos (49,50), o que torna a marcação imunoistoquímica para o anticorpo Ki-67 um procedimento confiável na avaliação da malignidade dos tumores mamários. Quando

analisada a marcação com Ki-67 para proliferação celular, não se notaram diferenças nos índices de proliferação entre os TVTs plasmocitóides e linfocitóides.

Finalmente, todas as 30 amostras de TVT analisadas neste estudo, apresentaram expressão de COX-2 (Figura 3b) e não houve diferença entre os tumores menos agressivos e mais agressivos.

Em mastocitomas cutâneos caninos, a expressão de COX-2, foi maior nos tumores grau III, seguidos pelo grau II e I, porém em todos os graus de diferenciação histológica, a imunomarcação foi superior a 50% e de intensidade semelhante (51). Já nos tumores mamários de cadelas, a expressão de COX-2 foi diferente entre os tumores metastáticos e não metastáticos, sendo maior neste último grupo, o que confere a esta imunomarcação um potencial preditivo de possibilidade de metástase (52,44).

A super-expressão de COX-2 tem sido demonstrada em uma variedade de neoplasias, dentre elas pulmão, ovário e colo do útero, sendo geralmente associada a resultados de sobrevivência desfavoráveis (15).

Devido à alta expressão de COX-2 nos casos de TVT aqui estudados, sugere-se que nos casos mais resistentes ao tratamento com vincristina, possa se associar inibidores de COX-2 ao tratamento. No teste não paramétrico de correlação de Spearman, com nível de significância ($p < 0,05$), quando comparado a expressão da COX-2 com a caspase-3, houve correlação significativa ($p = -0,20$). Comparando a expressão da COX-2 com o Ki-67, também houve correlação significativa ($p = -0,01$). Isso se deve ao fato de que quando há alta expressão de COX-2, há diminuição da apoptose, e aumento da proliferação celular, o que foi observado pela baixa taxa de positividade para caspase-3 nos TVTs e média positividade para Ki-67. Porém, quando correlacionado COX-2 com survivina, não houve diferença significativa ($p = 0,16$), sugerindo que a alta expressão da COX-2 é devida a sua ação na promoção da angiogênese, uma vez que os TVTs são altamente irrigados e hemorrágicos.

Vale ressaltar que durante as análises das lâminas de TVT, a distribuição da marcação da COX-2 era, na maioria dos casos, como “dots” perinucleares. Não há na literatura consultada nenhuma descrição desse tipo de marcação em outras neoplasias, deste modo seria interessante a investigação se esta marcação relaciona-se com o grau de agressividade tumoral, ou não há nenhuma influência, uma vez que nos casos da caspase-3, o tipo de marcação também se torna útil (Figura 3b).

Em conclusão, a prevalência no Serviço de Patologia da FMVZ – UNESP – Botucatu do diagnóstico citopatológico de TVT é o de aspecto plasmocitóide. Estes achados indicam diagnóstico tardio, sendo que durante o período de evolução ocorrem alterações na morfologia da célula tumoral, na fase de implantação, linfocitóide e posteriormente plasmocitóide, da mesma forma, diante dos resultados da imunocitoquímica, é possível que o emprego destes marcadores no TVT possa auxiliar o tratamento diferenciado, pelo que recomendamos avaliar sua expressão comparando com o tipo de resposta à terapia.

O presente estudo foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP e obteve parecer favorável (Protocolo nº 223/2011).

REFERÊNCIAS

1. Mozos E, Méndez A, Gómez-Villamandos JC, Martín De Las Mulas J, Pérez J. Immunohistochemical characterization of canine transmissible venereal tumor. *Vet Pathol.* 1996;33(3):257-63.
2. Mukaratirwa S, Gruys E. Canine transmissible venereal tumour: cytogenetic origin, immunophenotype, and immunobiology. A review. *Vet Q.* 2003;25(3):101-11.

3. Boscos CM, Tontis DK, Samartzi FC. Cutaneous involvement of TVT in dogs: a report of two cases. *Canine Pract.* 1999;24(4):6-11.
4. Amaral AS, Ferreira I, Colodel MM, Salvadore DMF, Rocha NS. DNA damage in canine transmissible venereal tumor cells. *Rev Lusófona Cienc Med Vet.* 2011;4:1-5.
5. Hsiao YW, Liao KW, Hung SW, Chu RM. Effect of tumor infiltrating lymphocytes on the expression of MHC molecules in canine transmissible venereal tumor cells. *Vet Immunol Immunopathol.* 2002;87(1-2):19-27.
6. Liao KW, Hung SW, Hsiao YW, Bennett M, Chu RM. Canine transmissible venereal tumor cell depletion of B lymphocytes: molecule(s) specifically toxic for B cells. *Vet Immunol Immunopathol.* 2003;92(3-4):149-62.
7. Thompson HJ, Strange R, Schedin PJ. Apoptosis in the genesis and prevention of cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 1992;1(7):597-602.
8. Deveraux QL, Reed JC. IAP family proteins - suppressors of apoptosis. *Genes Dev.* 1999;13(3):239-52.
9. Aoyagi K, Kohfuji K, Yano S, Murakami N, Miyagi M, Takeda J, et al. The expression of proliferating cell nuclear antigen, p53, p21, and apoptosis in primary gastric lymphoma. *Surgery.* 2002;132(1):20-6.
10. Knauer SK, Krämer OH, Knösel T, Engels K, Rödel F, Kovács AF, et al. Nuclear export is essential for the tumor-promoting activity of survivin. *FASEB J.* 2007;21(1):207-16.
11. Sofocleous CT, Garg SK, Cohen P, Petre EN, Gonen M, Erinjeri, JP, et al. Ki 67 is an independent predictive biomarker of cancer specific and local recurrence-free survival after lung tumor ablation. *Ann Surg Oncol.* 2013;20 Suppl 3:S676-83.
12. Beam SL, Rassnick KM, Moore AS, McDonough SP. An immunohistochemical study of cyclooxygenase-2 expression in various feline neoplasms. *Vet Pathol.* 2003;40(5):496-500.
13. Mao XY, Wang XG, Lv XJ, Xu L, Han CB. COX-2 expression in gastric cancer and its relationship with angiogenesis using tissue microarray. *World J Gastroenterol.* 2007;13(25):3466-71.
14. Jiang H, Wang J, Zhao W. Cox-2 in non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Clin Chim Acta.* 2013;419:26-32.
15. Song J, Su H, Zhou Y, Guo L. Cyclooxygenase-2 expression is associated with poor overall survival of patients with gastric cancer: a meta-analysis. *Dig Dis Sci.* 2014;59(2):436-45.
16. Lee JY, Myung SK, Song YS. Prognostic role of cyclooxygenase-2 in epithelial ovarian cancer: a meta-analysis of observational studies. *Gynecol Oncol.* 2013;129(3):613-19.
17. Huang M, Chen Q, Xiao J, Liu C, Zhao X. Prognostic significance of cyclooxygenase-2 in cervical cancer: a meta-analysis. *Int J Cancer.* 2013;132(2):363-73.

18. Sofocleous CT, Garg S, Petrovic LM, Gonen M, Petre EN, Klimstra DS, et al. Ki-67 is a prognostic biomarker of survival after radiofrequency ablation of liver malignancies. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(13):4262-9.
19. Zornig M, Hueber A, Baum W, Evan G. Apoptosis regulators and their role in tumorigenesis. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2001;1551(2):F-1-37.
20. Barcinski MA. Morte celular. In: Ferreira CG; Rocha JC. *Oncologia molecular*. São Paulo: Atheneu; 2004. p.57-63.
21. Ruiz CM, Soto GMT, Zuccari DAPC. Estudo da apoptose e da proliferação celular no tumor venéreo transmissível canino. *ARS Veterinaria*. 2004;20(1):107-14.
22. Hensley P, Mishra M, Kyprianou N. Targeting caspases in cancer therapeutics. *Biol Chem*. 2013;394(7):831-43.
23. Westphal S, Kalthoff H. Apoptosis: targets in pancreatic cancer. *Mol Cancer*. 2003;2:6.
24. Coumar MS, Tsai FY, Kanwar JR, Sarvagalla S, Cheung CH. Treat cancers by targeting survivin: just a dream or future reality? *Cancer Treat Rev*. 2013;39(7):802-11.
25. Rocha NS. Citologia aspirativa por agulha fina em medicina veterinária (I). *Cães e Gatos*. 1998;79(13):14-6.
26. Cowell RL, Tyler RD. Cytology of cutaneous lesions. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1989;19(4):769-94.
27. Caniatti M, Roccabianca P, Scanziani E, Paltrinieri S, Moore PF. Canine lymphoma: immunocytochemical analysis of fineneedle aspiration biopsy. *Vet Pathol*. 1996;33(2):204-12.
28. Amaral AS, Gaspar LF, Bassini-Silva S, Rocha NS. Cytological diagnostic of transmissible venereal tumor in the Botucatu region, Brazil (descriptive study: 1994-2003). *Rev Port Cien Vet*. 2004;99(551):167-71.
29. Amaral AS. Tumor venéreo transmissível canino: critérios citológicos de malignidade e caracterização citomorfológica correlacionada a imunocitoquímica e lesões de DNA [Tese]. Botucatu: Faculdade Medicina Veterinária Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2005.
30. Fonseca LS, Mota LS, Colodel MM, Ferreira I, Rocha NS. Spontaneous Canine Transmissible Venereal Tumor: association between different phenotypes and the insertion LINE-1/c-myc. *Rev Colomb Cienc Pecu*. 2012;25:402-08.
31. Montoya FL, Pedraza FJ, Monteiro S, Brandão CV, Rocha NS. Cytological and clinical staging of transmissible venereal tumour at the Veterinary Hospital of Botucatu. *Rev Vet Zootec*. 2013;7(2):1-17.
32. Necochea-Campion RD, Chen CS, Mirshahidi S, Howard FD, Wall NR. Clinico-pathologic relevance of Survivin splice variant expression in cancer. *Cancer Lett*. 2013;339(2):167-74.

33. Dohi T, Beltrami E, Wall NR, Plescia J, Altieri DC. Mitochondrial survivin inhibits apoptosis and promotes tumorigenesis. *J Clin Invest.* 2004;114(8):1117-27.
34. Li YH, Wang C, Meng K, Chen LB, Zhou XJ. Influence of survivin and caspase-3 on cell apoptosis and prognosis in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2004;10(13):1984-8.
35. Nassar A, Lawson D, Cotsonis G, Cohen C. Survivin and caspase-3 expression in breast cancer: correlation with prognostic parameters, proliferation, angiogenesis, and outcome. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2008;16(2):113-20.
36. Shirai K, Suzuki Y, Oka K, Noda SE, Katoh H, Suzuki Y, et al. Nuclear survivin expression predicts poorer prognosis in glioblastoma. *J Neurooncol.* 2009;91(3):353-8.
37. Rexhepaj E, Jirstrom K, O'Connor DP, O'Brien SL, Landberg G, Duffy MJ, et al. Validation of cytoplasmic-to-nuclear ratio of survivin as an indicator of improved prognosis in breast cancer. *BMC Cancer.* 2010;10:639.
38. Vischioni B, van der Valk P, Span SW, Kruyt FA, Rodriguez JA, Giaccone G. Nuclear localization of survivin is a positive prognostic factor for survival in advanced non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol.* 2004;15(11):1654-60.
39. Felisiak-Golabek A, Rembiszewska A, Rzepecka IK, Szafron L, Madry R, Murawska M, et al. Nuclear survivin expression is a positive prognostic factor in taxane-platinum-treated ovarian cancer patients. *J Ovarian Res.* 2011;4(1):20.
40. Athanasoula KCh, Gogas H, Polonifi K, Vaiopoulos AG, Polyzos A, Mantzourani M. Survivin beyond physiology: orchestration of multistep carcinogenesis and therapeutic potentials. *Cancer Lett.* 2014;347(2):175-82.
41. Coumar MS, Tsai FY, Kanwar JR, Sarvagalla S, Cheung CH. Treat cancers by targeting survivin: just a dream or future reality? *Cancer Treat Rev.* 2013;39(7):802-11.
42. Sani S, Saffar H, Tabriz HM, Qorbani M, Haghpanah V, Tavangar SM. Expression of matrix metalloproteinase-2, but not caspase-3, facilitates distinction between benign and malignant thyroid follicular neoplasms. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13(5):2175-8.
43. Suzano SMC. Avaliação da proliferação celular, índice apoptótico e da expressão do p53 nos linfomas caninos [Tese]. Botucatu: Faculdade Medicina Veterinária Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2007.
44. DeNardi AB. Correlação da ciclooxigenase-2 com Ki-67, p53 e caspase-3 nas neoplasias de mama em cadelas [Tese]. Botucatu : Faculdade Medicina Veterinária Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2007.
45. Donoghue S, Baden HS, Lauder I, Sobolewski S, Pringle JH. Immunohistochemical localization of caspase-3 correlates with clinical outcome in B-cell diffuse large-cell lymphoma. *Cancer Res.* 1999;59(20):5386-91.

46. Dukers DF, Oudejans JJ, Vos W, ten Berge RL, Meijer CJ. Apoptosis in B-cell lymphomas and reactive lymphoid tissues always involves activation of caspase-3 as determined by a new in situ detection method. *J Pathol.* 2002;196(3):307-15.
47. Greatti WFP, Amaral AS, Silva SB, Gaspar LFJ, Barbisan LF, Rocha NS. Índices proliferativos do tumor venéreo canino transmissível pelas técnicas do CEC e Ki-67 na citologia aspirativa com agulha fina. *Arch Vet Sci.* 2004;9(1):53-9.
48. Yang WY, Liu CH, Chang CJ, Lee CC, Chang KJ, Lin CT. Proliferative activity, apoptosis and expression of oestrogen receptor and Bcl-2 oncoprotein in canine mammary gland tumours. *J Comp Pathol.* 2006;134:70-79.
49. Löhr CV, Teifke JP, Failing K, Weiss E. Characterization of the proliferation state in canine mammary tumors by the standardized AgNOR method with post fixation and immunohistologic detection of Ki-67 and PCNA. *Vet Pathol.* 1997;34(3):212-21.
50. Sarli G, Preziosi R, Benazzi C, Castellani G, Marcato PS. Prognostic value of histologic stage and proliferative activity in canine malignant mammary tumors. *J Vet Diagn Invest.* 2002;14(1):25-34.
51. Calderon C. Avaliação da expressão da cicloxigenase2 e do índice de proliferação celular dos matocitomas cutâneos caninos pela histopatologia, histoquímica e imunoistoquímica [Dissertação]. Botucatu: Faculdade Medicina Veterinária Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2005.
52. Doré M, Lanthier I, Sirois J. Cyclooxygenase-2 expression in canine mammary Tumors. *Vet Pathol.* 2003;40(2):207-12

Recebido em: 19/08/2014

Aceito em: 22/04/2015

SENSIBILIDADE MICROBIANA DE *Staphylococcus* spp. ISOLADOS DE LEITE DE CABRAS COM MASTITE SUBCLÍNICA

Anelise Salina¹
Gustavo Puglia Machado¹
Felipe de Freitas Guimarães¹
Helio Langoni²

RESUMO

Um dos entraves à produção de leite caprino é a mastite, processo inflamatório da glândula mamária que determina sérios prejuízos econômicos e representa risco iminente à saúde pública, tendo em vista que micro-organismos causadores de mastites são potencialmente patogênicos para os seres humanos. O uso indiscriminado de antimicrobianos no tratamento dos animais pode desencadear a seleção de micro-organismos multirresistentes, além de produzir resíduos no leite e derivados, intensificando os agravos à saúde pública. Considerando que os estafilococos são comumente isolados a partir de casos de mastite em caprinos, e tendo em vista que o antibiograma possibilita o direcionamento estratégico para o tratamento dos rebanhos, o objetivo do presente estudo foi avaliar o perfil de sensibilidade *in vitro*, frente a dez antimicrobianos de 86 cepas de estafilococos isoladas de amostras de leite de cabras, a partir de casos de mastite subclínica. Verificou-se que o antimicrobiano mais efetivo foi a gentamicina, com 96,5% de sensibilidade; seguido de cefalexina e neomicina, com 95,3% de sensibilidade a cada um destes antimicrobianos. Os antimicrobianos aos quais os micro-organismos apresentaram maior resistência foram: ampicilina (37,2%), penicilina (27,9%) e tetraciclina (24,4%). Os resultados alertam para a importância do diagnóstico precoce das mastites em caprinos, bem como do estudo do perfil de sensibilidade microbiana, para aumentar a possibilidade de êxito do tratamento de mastites, principalmente à secagem evitando a ocorrência de casos crônicos e a seleção de micro-organismos multirresistentes.

Palavras-chave: leite, caprinos, estafilococos, antibiograma, diagnóstico.

MICROBIAL SENSIBILITY OF *Staphylococcus* spp. ISOLATED OF GOAT MILK WITH SUBCLINICAL MASTITIS**ABSTRACT**

One of the barriers to the production of goat milk is mastitis, inflammation of the mammary gland that determines serious economic losses and is imminent risk to public health, considering that microorganisms causing of mastitis are potentially pathogenic to humans. The indiscriminate use of antimicrobials in the treatment of animals can trigger the selection of multiresistant microorganisms, and produce residues in milk and dairy products intensifying the harm to public health. Whereas staphylococci are commonly isolated from cases of mastitis in goats, and considering that the antibiogram allows the strategic direction for the treatment of the herds, the aim of this study was to evaluate the antimicrobial susceptibility profile, front to ten antimicrobials of 86 staphylococci strains isolated from goats milk samples from cases of subclinical mastitis. It was found that the most effective antibiotic was gentamicin with 96.5% sensitivity; cephalixin and neomycin followed with

¹ Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Saúde Animal, Saúde Pública Veterinária e Segurança Alimentar, FMVZ – UNESP/Botucatu - SP

² Professor Titular e Bolsista PQ-1A-CNPq – Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, FMVZ - UNESP/Botucatu – SP. Contato principal para correspondência.

95.3% sensitivity for each of these antimicrobials. The antimicrobial agents with the microorganisms had more resistance were: ampicillin (37.2%), penicillin (27.9%) and tetracycline (24.4%). The results emphasize the importance of early diagnosis of mastitis in goats as well as the antimicrobial susceptibility profile study to increase chance of successful the treatment of mastitis, avoiding the occurrence of chronic cases and the selection of multiresistant microorganisms.

Keywords: milk, goat, staphylococci, antibiogram, diagnostic.

SENSIBILIDAD MICROBIANA DE AISLADOS DE *Staphylococcus* spp. DE LECHE CAPRINA EN CASOS DE MASTITIS SUBCLÍNICA

RESUMEN

Uno de los obstáculos para la producción de leche de cabra es la mastitis, inflamación de la glándula mamaria que determina serias pérdidas económicas y es un riesgo inminente para la salud pública, dado que los microorganismos causantes de mastitis son potencialmente patógenos para los seres humanos. El uso indiscriminado de antibióticos en el tratamiento de los animales puede provocar la selección de microorganismos multirresistentes, y producir residuos en la leche y sus derivados, mediante la intensificación de amenazas para la salud pública. Mientras que los estafilococos son comúnmente aislados de casos de mastitis en cabras, y considerando que el antibiograma es la dirección estratégica para el tratamiento de los animales, el objetivo de este estudio fue evaluar la sensibilidad in vitro, de 86 cepas de estafilococos frente a diez antimicrobianos, aisladas de muestras de leche de cabra de casos de mastitis subclínica. Se encontró que las cepas aisladas mostraron mayor sensibilidad para el antibiótico gentamicina con 96,5%; cefalexina y neomicina siguieron con 95,3% de sensibilidad respectivamente. En contraste, los aislados presentaron mayor resistencia para los antibióticos ampicilina (37,2%), penicilina (27,9%) y tetraciclina (24,4%). Los resultados ponen de relieve la importancia del diagnóstico precoz de la mastitis en cabras, así como el estudio de perfil de sensibilidad microbiana, para aumentar las posibilidades de éxito en la prevención de la ocurrencia de los casos crónicos y la selección de microorganismos multirresistentes.

Palabras clave: leche, caprino, estafilococos, susceptibilidad a los antibióticos, diagnóstico.

INTRODUÇÃO

A caprinocultura leiteira tem representado um segmento importante de mercado no Brasil (1), tendo em vista as características físico-químicas e nutricionais do leite caprino, e a maior seletividade dos consumidores, que buscam cada vez mais por produtos saudáveis e de qualidade comprovada. Por apresentar rápida digestibilidade, é recomendado a pessoas com intolerância à lactose. Ademais, é cientificamente comprovado que o consumo habitual de leite de cabra resulta em efeitos positivos no metabolismo mineral, na recuperação da anemia ferropriva e na mineralização óssea (2).

A produção de leite de cabra, assim como a de leite bovino, deve estar embasada tanto no adequado manejo higiênico-sanitário, quanto no rigoroso controle de qualidade, para garantir a inocuidade do produto e de seus derivados. No entanto, um dos entraves à produção leiteira bovina e caprina é a ocorrência de mastite, que se caracteriza por processo inflamatório da glândula mamária, podendo ser de origem tóxica, traumática, alérgica, metabólica ou infecciosa, sendo esta última a mais frequente e importante (3,4). Diversos

micro-organismos podem estar associados a casos de mastite, como bactérias, fungos, leveduras, algas e vírus, entretanto os de origem bacteriana são os mais frequentes (3).

A mastite pode apresentar curso clínico ou subclínico e a sua prevalência em caprinos varia entre 22 e 75%, sendo que os casos subclínicos são os mais frequentes (5), causando prejuízos que geralmente passam despercebidos pelos criadores, especialmente quando o diagnóstico da forma subclínica não é realizado. A queda na produção leiteira, o descarte prematuro de animais, os custos com medicamentos, o descarte do leite, o aumento dos custos com mão-de-obra e honorários veterinários, entre outras despesas (6) são fatores que mantêm a mastite como a mais importante causa de perdas econômicas do setor leiteiro (7).

Outro aspecto importante a ser considerado é o risco iminente à saúde pública considerando que diversos agentes infecciosos envolvidos são potencialmente patogênicos para humanos. Os micro-organismos mais comumente isolados em casos de mastite caprina são similares aos da mastite bovina, em caprinos, assim como em bovinos, os patógenos mais frequentemente encontrados são os estafilococos (5). *Staphylococcus* coagulase-negativa (SCN) são os mais comumente isolados (8) seguidos de *Staphylococcus* coagulase-positiva, *Streptococcus* spp., *Escherichia coli*, *Micrococcus* spp. e *Pasteurella* spp. (6).

Para isolamento e caracterização dos agentes etiológicos das mastites, o teste padrão utilizado é o cultivo microbiológico, fundamental para o diagnóstico, profilaxia e controle dessa afecção (9,10). Micro-organismos, como *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), apresentam resistência a diversos antibióticos. Estudos ressaltam a importância da utilização do antibiograma como método de diagnóstico importante para o direcionamento correto no tratamento de mastites (4). Culturas de amostras de leite total de rebanhos ou de tanques de expansão também têm sido utilizadas para estudos e identificação de patógenos específicos como *S. aureus* e *Streptococcus agalactiae* (11).

Uma forma de controle empregada em caso de enfermidades infecciosas de origem bacteriana como as mastites é o uso de antimicrobianos. No entanto, se o tratamento for realizado de forma indiscriminada, pode desencadear a seleção de micro-organismos resistentes, dificultando o controle das mastites. Vale ressaltar ainda que a resistência bacteriana, bem como a presença de resíduos de antimicrobianos no leite e em derivados, representam sérios problemas para a saúde pública (12).

Para evitar o uso indiscriminado e abusivo de antimicrobianos no tratamento das mastites, recomenda-se a realização do antibiograma, a partir dos isolados obtidos das amostras de leite dos rebanhos. Apesar de ser um teste *in vitro*, o antibiograma possibilita o direcionamento do tratamento, por meio da escolha de princípios ativos que melhor atuem contra os micro-organismos isolados (4).

Considerando a relevância da produção leiteira caprina no Brasil, bem como a importância dos estafilococos como patógenos causadores de mastites em caprinos, o objetivo do presente estudo foi avaliar o perfil de sensibilidade de isolados de estafilococos de casos subclínicos de mastite em rebanhos caprinos do Estado de São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

Reisolamento dos micro-organismos

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Núcleo de Pesquisa em Mastites (NUPEMAS), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, FMVZ/UNESP- Botucatu-SP.

Foram avaliadas 86 amostras de *Staphylococcus* spp., isolados de casos de mastite caprina subclínica que se encontravam estocadas a -80°C, em caldo cérebro coração (BHI) adicionado de glicerol a 10%. As mesmas foram reisoladas em placas contendo ágar sangue

ovino a 5% e incubadas a 37°C, por 24 horas, sendo a seguir repicadas de 2-3 colônias para caldo BHI, incubando-se por 24 horas para posterior realização do antibiograma.

Antibiograma

Para a realização dos antibiogramas utilizou-se o método de difusão com discos (13) de oxacilina (1µg), cotrimoxazol (25µg), penicilina (10UI), enrofloxacina (5µg), cefalexina (30µg), gentamicina (10µg), neomicina (30µg), ciprofloxacina (5µg), tetraciclina (30µg) e ampicilina (10µg). Interpretação dos halos de inibição foi de acordo com *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) (14).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A distribuição das diferentes espécies de estafilococos avaliadas está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Espécies de *Staphylococcus* isoladas a partir de leite de cabras com mastite subclínica. Botucatu-SP, 2015.

Micro-organismos	Número de isolados	% frente ao total de isolados
<i>Staphylococcus</i> spp. (SCN)*	44	51,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	23	26,7
<i>Staphylococcus intermedius</i>	14	16,3
<i>Staphylococcus hyicus</i>	3	3,5
<i>Staphylococcus lutrae</i>	1	1,2
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	1	1,2
Total	86	100

*Estafilococos coagulase-negativa

Staphylococcus coagulase-negativa (SCN) foram os micro-organismos mais frequentes encontrados no presente estudo, corroborando com os resultados de da Silva et al. (15) que ao pesquisarem a suscetibilidade de espécies de *Staphylococcus* em cabras com mastite subclínica no Nordeste do Brasil, identificaram 60% de SCN e 37% de *S. aureus*. Peixoto et al. (5) da mesma forma encontraram maior frequência de SCN (29,9%).

Os resultados do perfil de sensibilidade *in vitro* frente aos antimicrobianos testados nas 86 cepas de *Staphylococcus* spp. são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Perfil de sensibilidade microbiana de estafilococos isolados do leite caprino de casos de mastite subclínica. Botucatu-SP, 2015.

Antimicrobiano	R	%	PS	%	S	%
Ampicilina	32	37,2	-	-	54	62,8
Penicilina	24	27,9	-	-	62	72,1
Tetraciclina	21	24,4	8	9,3	57	66,3
Oxacilina	9	10,5	1	1,2	76	88,4
Enrofloxacina	6	7,0	-	-	80	93,0
Cotrimoxazol	4	4,7	7	8,1	75	87,2
Cefalexina	4	4,7	-	-	82	95,3
Gentamicina	3	3,5	-	-	83	96,5
Ciprofloxacina	-	-	5	5,8	81	94,2
Neomicina	-	-	4	4,7	82	95,3

*R: resistentes; PS: parcialmente sensíveis; S: amostras sensíveis; %: em relação ao número total de isolados.

Verificou-se que mais de 70% das cepas de estafilococos apresentaram sensibilidade frente a oito dos dez antimicrobianos testados. O antimicrobiano mais efetivo *in vitro* foi a gentamicina, com 96,5% das cepas sensíveis; seguido de cefalexina e neomicina, com 95,3% dos isolados sensíveis a cada um dos antimicrobianos.

Os três antimicrobianos aos quais os micro-organismos apresentaram maior resistência foram ampicilina, penicilina e tetraciclina. Da mesma forma, Moroni et al. (16) constataram reduzida sensibilidade dos estafilococos à tetraciclina. Apesar da tetraciclina de longa ação ter sido comumente indicada para o tratamento dos casos de mastites em caprinos devido ao seu amplo espectro de ação (17), os resultados recentes de resistência bacteriana frente a este antimicrobiano demonstram a sua reduzida eficácia, restringindo a indicação de uso nos rebanhos.

Em estudo realizado por Garino Júnior et al. (18), foi avaliado o perfil de sensibilidade *in vitro* de cepas de *Staphylococcus* isoladas de mastite caprina no semiárido paraibano. No estudo desses autores, os índices de sensibilidade variaram de 80% a 90%. Cefalexina e oxacilina, foram efetivas em 85,75% e 83,33% dos isolados de *Staphylococcus*. Esses dados corroboram com o presente estudo, com elevado índice de sensibilidade, com 96,5% e 88,4% de sensibilidade para os mesmos fármacos. No presente estudo, a maioria dos isolados (70%) apresentou sensibilidade a oito dos dez antimicrobianos testados. Ressalta-se a importância do uso de testes complementares ao antibiograma, como a concentração inibitória mínima (CIM), para correta dosagem do antimicrobiano a ser utilizado, evitando-se assim a multirresistência e garantindo a eficácia no tratamento das mastites (18).

Os resultados do perfil de sensibilidade *in vitro* das diferentes espécies de estafilococos coagulase-positiva e negativa avaliados são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Perfil de sensibilidade de *Staphylococcus* spp. isolados de amostras de leite caprino a partir de casos de mastite subclínica. Botucatu-SP, 2015.

Antimicrobiano	<i>S. aureus</i> %	<i>S. hyicus</i> %	<i>S. intermedius</i> %	<i>S. lutrae</i> %	<i>S. schleiferi</i> %	SCN %
Ampicilina	30,4	33,3	64,3	-	100,0	81,8
Cefalexina	100,0	66,7	85,7	100,0	100,0	97,7
Ciprofloxacina	87,0	66,7	100,0	-	100,0	97,7
Cotrimoxazol	60,9	100,0	100,0	100,0	100,0	95,5
Enrofloxacina	78,3	100,0	100,0	-	100,0	100,0
Gentamicina	100,0	66,7	85,7	100,0	100,0	100,0
Neomicina	100,0	66,7	85,7	100,0	100,0	97,7
Oxacilina	100,0	66,7	78,6	100,0	100,0	86,4
Penicilina	60,9	33,3	57,1	-	100,0	86,4
Tetraciclina	78,3	-	64,3	100,0	100,0	63,6

Dentre os estafilococos coagulase-positiva, o mais frequentemente isolado foi *S. aureus* (26,7%), com 100% de sensibilidade frente à cefalexina, gentamicina, neomicina e oxacilina, corroborando os resultados de Langoni et al. (6), que avaliando o perfil de sensibilidade microbiana de *S. aureus* isolados a partir do leite caprino, verificaram maior sensibilidade do patógeno frente à gentamicina e oxacilina.

Os SCN isolados apresentaram 100,0% de sensibilidade frente à enrofloxacina e gentamicina. Em estudos realizados por Neves et al. (19), Lima Júnior et al. (20) e Peixoto et al. (5) foram obtidos resultados semelhantes aos do presente estudo para gentamicina.

CONCLUSÃO

Micro-organismos do gênero estafilococos são frequentemente isolados de casos de mastite caprina, especialmente os SCN, e a resistência *in vitro* dessas cepas frente a antimicrobianos como a ampicilina, a penicilina e a tetraciclina, alertam para alterações do perfil de sensibilidade destes patógenos ao longo dos anos. Estes antimicrobianos foram amplamente recomendados para o tratamento de rebanhos caprinos leiteiros e sua eficácia pode estar comprometida limitando sua indicação. A realização do diagnóstico precoce das mastites em caprinos e seu tratamento baseado no perfil de sensibilidade microbiana aumentam a possibilidade de êxito no tratamento de mastites, evitando-se a ocorrência de casos crônicos e a seleção de micro-organismos multirresistentes.

REFERÊNCIAS

1. Andrade NPC, Peixoto RM, Nogueira DM, Krewer CC, Costa MM. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de *Staphylococcus* spp coagulase negativa de um rebanho leiteiro caprino em Santa Maria da Boa Vista – PE. *Med Vet.* 2012;6:1-6.
2. Díaz-Castro J, Alférez MJM, López-Aliaga I, Nestares T, Campos MS. Effect of calcium-fortified milk-rich diets (either goat's or cow's milk) on copper bioavailability in iron-deficient anemia. *Dairy Sci Technol.* 2011;91:203-12.
3. Bradley AJ. Bovine mastitis: an evolving disease. *Vet J.* 2002;164:116-28.
4. Freitas MFL, Pinheiro Júnior JW, Stamford TLM, Rabelo ASS, Silva DR, Silveira Filho VM, et al. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus* coagulase positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do estado de Pernambuco. *Arq Inst Biol.* 2005;72:171-7.
5. Peixoto RM, Mota RA, Costa MM. Mastite em pequenos ruminantes no Brasil. *Pesq Vet Bras.* 2010;30:754-62.
6. Langoni H, Domingues PF, Baldini S. Mastite caprina: seus agentes e sensibilidade frente a antimicrobianos. *Rev Bras Cien Vet.* 2006;13:51-4.
7. Nader Filho A, Ferreira LM, Amaral LA, Rossi Júnior OD, Oliveira RP. Sensibilidade antimicrobiana dos *Staphylococcus aureus* isolados no leite de vacas com mastite. *Arq Inst Biol.* 2007;74:1-4.
8. Rodrigues Silva CS, Villaça CLPB, Peixoto RM, Mota RA, Ribeiro MF, Costa MM. Antibacterial effect of Brazilian brown propolis in different solvents against *Staphylococcus* spp isolated from caprine mastitis. *Cien Anim Bras.* 2012;13:247-51.
9. Medeiros ES, Pinheiro Júnior JW, Peixoto RM, Silva Filho AP, Mota RA. Avaliação do exame microbiológico, Califórnia Mastitis Test e Somaticell® no diagnóstico da mastite subclínica em bovinos leiteiros. *Med Vet.* 2008;2:16-22.
10. Langoni H, Laurino F, Faccioli PY, Silva AV, Menozzi BD. Cultivo microbiológico e a sensibilidade no isolamento de patógenos nas mastites bovinas. *Vet Zootec.* 2009;16:708-15.

11. Brito MAVP, Brito JRF, Souza M, Vargas OL. Avaliação da sensibilidade da cultura de leite do tanque para isolamento de agentes contagiosos da mastite bovina. *Pesq Vet Bras.* 1998;18:39-44.
12. Mota RA, Silva KPC, Freitas MFL, Porto WJN, Silva LBG. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 2005;42:465-70.
13. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966;45:493-6.
14. CLSI – Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI approved standard M100-S15. Wayne, PA: CLSI; 2005.
15. da Silva ER, Siqueira AP, Martins JCD, Ferreira WPB, Silva N da. Identification and in vitro antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* species isolated from goat mastitis in the Northeast of Brazil. *Small Rumin Res.* 2004;55:45-9.
16. Moroni P, Pisoni G, Antonini M, Ruffo G, Carli S, Varisco G, et al. Subclinical mastitis and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus caprae* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from two Italian Herds. *J Dairy Sci.* 2005;88:1694-704.
17. Mota RA. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e controle das mastites em caprinos e ovinos. *Tecnol Cien Agropec.* 2008;2:57-61.
18. Garino Jr F, Camboim EKA, Das Neves PB, De Sá AVV, Almeida AP. Suscetibilidade a antimicrobianos e produção de betalactamase em amostras de *Staphylococcus* isolados de mastite caprina no semiárido paraibano. *Arq Inst Biol.* 2011;78:103-7.
19. Neves PB, Medeiros ES, Sá VV, Camboim EKA, Garino Jr F, Mota, RA, et al. Perfil microbiológico, celular e fatores de risco associados à mastite subclínica em cabras no semiárido da Paraíba. *Pesq Vet Bras.* 2010;30:379-84.
20. Lima Júnior AD, Nader FA, Vianni MCE. Sensibilidade "in vitro" dos *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase* negativos, isolados em casos de mastite caprina, à ação de antibióticos e quimioterápicos. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 1993;45:291-6.

Recebido em: 18/06/2014

Aceito em: 24/04/2015

ANÁLISE DA MICROBIOTA GASTROINTESTINAL DE *CHELONOIDIS* PROVENIENTES DE CATIVEIRO DA REGIÃO NOROESTE DE SÃO PAULO

Matheus Marussi Ribeiro¹
Cilene Vidovix Táparo²
Miriam Yumi Makatu³
Mariana Malavazi Destro³
Erivelto Correa Araújo Júnior³
Sérgio Diniz Garcia⁴
Márcia Marinho⁵

RESUMO

O jabuti é a designação vulgar dos répteis do género *Chelonoidis*, da ordem dos Quelônios, da família dos testudinídeos. A literatura apresenta escassas informações a respeito da importância desse réptil silvestre na cadeia epidemiológica das infecções. A determinação da microbiota entérica de animais silvestres tem por importância não só o conhecimento de micro-organismos que venham a compor a flora intestinal normal dessas espécies, como também a possibilidade de se descobrir novos agentes veiculadores de micro-organismos patogênicos ao homem, e para as demais espécies animais. Com a finalidade de verificar a microbiota de *Chelonoidis*, foram colhidos “swabs” retais de nove membros desta espécie que se encontram confinados no Zoológico Municipal da cidade de Araçatuba. O material foi enviado e processado no laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina Veterinária UNESP – Campus de Araçatuba. As amostras foram semeadas em meios de Ágar Sangue e MacConkey incubadas em atmosfera de aerobiose à temperatura de 37°C por 24h, e em ágar Sabouraud que permaneceram em anaerobiose por 7 a 15 dias. Características morfológicas e tintoriais fundamentaram a identificação das colônias bacterianas, além das provas bioquímicas. Das amostras analisadas somente 55,5% obtiveram resultados conclusivos, sendo identificadas prevalências de 100% e 20% para *Escherichia coli* e a *Klebsiella oxytoca*, respectivamente. Os resultados revelam que geoquelônios atuam significativamente na ecoepidemiologia de doenças infecciosas com a manutenção e a propagação de patógenos no ambiente.

Palavras-chave: *Chelonoidis*, microbiota, bacteriana, patógeno, gastrointestinal.

MICROBIOTA ANALYSIS OF GASTROINTESTINAL *CHELONOIDIS* FROM CAPTIVITY IN THE NORTHWESTERN REGION OF SÃO PAULO

ABSTRACT

The jabuti is the common name of the genus *Chelonoidis* reptiles of the order of turtles, the family of testudinídeos. The literature presents little information on the importance of reptile

¹ Médico Veterinário Graduado pela FMVA-UNESP Araçatuba- São Paulo

² Técnica de Laboratório de Microbiologia Departamento de Produção e Saúde Animal- Faculdade de Medicina Veterinária, UNESP, Campus de Araçatuba.

³ Pós-graduando do Curso de Medicina Veterinária, Unesp, Campus de Araçatuba.

⁴ Professor de Animais Silvestres Departamento Clínicas, Cirúrgicas e Reprodução da FMVA - UNESP, Campus de Araçatuba.

⁵ Professora Microbiologia - Departamento de Produção e Saúde Animal- Laboratório de Microbiologia, FMVZ /UNESP, Campus de Araçatuba. Endereço: Rua: Clóvis Pestana, 793. CEP: 16050-680, Araçatuba-SP. Telefone: (18) 3636-1382. Contato principal para correspondência

in the wild epidemiological chain of infection. The determination of the enteric microbiota of wild animals is important not only to knowledge of microorganisms that will form the normal intestinal flora of these species, but also the possibility to discover new agents of pathogenic microorganisms to humans and to other animal species. In order to verify the microbiota of *Chelonoidis*, were collected "swabs" rectal nine members of this species that are confined in the Municipal Zoo of the city of Araçatuba. The material was sent and processed in the laboratory of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine UNESP - Campus de Araçatuba. The samples were sown in media of blood and MacConkey agar incubated in aerobic atmosphere at a temperature of 37 ° C for 24h, and Sabouraud agar remained in anaerobiosis for 7 to 15 days. Morphological characteristics and staining based identification of bacterial colonies, in addition to the biochemical evidence. Samples of only 55.5% obtained conclusive results, and identified prevalence of 100% and 20% for *Escherichia coli* and *Klebsiella oxytoca*, respectively. The results show that significantly geoquelônios work in Eco-epidemiology of infectious diseases with the maintenance and spread of pathogens in the environment.

Keywords: *Chelonoidis*, microbiota, bacterial, pathogen, gastrointestinal.

ANÁLISIS DE LA MICROFLORA GASTROINTESTINAL DE CHELONOIDIS COMING FROM CAUTIVIDAD DE REGIÓN NOROESTE DE SÃO PAULO

RESUMEN

El jabuti es una especie de tortuga del género *Chelonoidis*, de la familia de los testudinídeos. En la literatura hay poca información acerca de la naturaleza de estos reptiles en la cadena epidemiológica de la infección. La determinación de la microflora entérica de los animales silvestres es importante no sólo para el conocimiento de los microorganismos que forman la flora intestinal normal de estas especies, sino también en la posibilidad de descubrir nuevos agentes de microorganismos patógenos para los seres humanos y otras especies animales. Con la finalidad de verificar la microflora de *Chelonoidis* se tomarán "frotis" del recto de esta especie de tortugas las cuales se encuentran en el zoológico municipal. El material fue enviado y procesado en el Laboratorio de Microbiología, Facultad de Medicina Veterinaria de la UNESP - Campus de Araçatuba. Las muestras fueron manejadas en medios de cultivo para bacterias (agar sangre, Mac Conkey y Sabouraud) se incubaron en una ambiente para bacterias aerobias y anaerobias a una temperatura de 37°C. Serrealizaron pruebas bioquímicas para identificación bacteriana. Las muestras fueron sembradas en medios enriquecidos de agar sangre y MacConkey incubadas en atmósfera aeróbica a una temperatura de 37 ° C durante 24 horas, para luego ser mantenidas en agar Sabouraud en anaerobiosis por 7 a 15 días. La identificación de colonias bacterianas fue realizada en base a sus características morfológicas, de tinción y a través de las pruebas bioquímicas. De las muestras analizadas, sólo en el 55,5% se obtuvieron resultados concluyentes y se logro determinar la prevalencia de *Escherichiacoli* y *Klebsiellaoxytoca* en un 100% y 20% respectivamente, de los casos analizados. Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que los geoquelônios "influyen" significativamente en Eco-epidemiología de las enfermedades infecciosas con la propagación y el mantenimiento de los agentes patógenos en el medio ambiente.

Palabras clave: *Chelonoidis*, la microflora, bacterias, patógenos, gastrointestinales.

INTRODUÇÃO

Os geoquelônios são animais silvestres e hospedeiros de uma rica diversidade de micro-organismos como bactérias, fungos e vírus que podem atuar como potentes patógenos para o homem e outras espécies de animais podendo acarretar, conseqüentemente, graves problemas de Saúde Pública. Dedicamos nossos estudos a espécie *Chelonoidiscarbonaria* cujo nome vulgar é “jabuti-piranga”, “jabuti de patas vermelhas”, “red-foottortoise”, ou ainda “South American red-foottortoise” (1,2).

Pertence à Classe *Reptilia*, Subclasse *Anapsida* (animais com o teto do crânio sólido, sem aberturas atrás do olho), Ordem *Chelonia*, Família *Testudinidae*. Esta família é representada por doze gêneros e cerca de quarenta espécies, todas terrestres (3,4).

Os "jabutis de patas vermelhas", são encontrados em zonas tropicais da América do Sul: nas Guianas, Venezuela, Equador, Paraguai, Brasil e algumas ilhas do Caribe (5,6).

No Brasil, duas espécies são originárias das florestas úmidas. Uma delas é a *Chelonoidiscarbonaria*, conhecida como Jabuti-piranga e a outra é a *Chelonoidisdenticulata*, também chamada de Jabuti-tinga.

O jabuti-piranga, por viver em regiões mais abertas, como a borda das matas e os campos dos cerrados, é a espécie mais conhecida. Infelizmente, pelos mesmos motivos, ele é caçado com frequência para consumo da sua carne e para a venda como animal de estimação, atividades proibidas por lei. No Brasil, aparece dos estados da Amazônia até o norte de São Paulo.

A alimentação do jabuti é feita principalmente à base de frutos, mas os jabutis são animais onívoros, ou seja, se alimentam de quase qualquer substância orgânica. Costumam comer carne, frutas doces, verduras e legumes. Possuem hábitos diurnos e passam o tempo em busca de alimento, especialmente os de cores vermelhas e amarelas.

Apesar das leis de proteção à fauna nativa, vários exemplares de geoquelônios são criados em cativeiro no Brasil, seja como animais de estimação, em zoológicos ou em criatórios comerciais legalizados, predispondo um maior contato entre o homem e os possíveis patógenos que estes répteis exóticos possam vir a hospedar.

Este contato aproxima agentes infecciosos ou parasitários no sentido de encontrarem novos hospedeiros e novos ambientes nos quais existam condições de manutenção, multiplicação e transmissão dos mesmos (7).

O crescente aumento de répteis, em especial jabutis como pet, mostra a grande importância do aprofundamento de estudos microepidemiológicos nesses animais. Cuidados com a higiene são imprescindíveis para a manutenção destes em cativeiro. Recomenda-se que a limpeza de terrários seja frequente e a troca de água seja diária. Os utensílios de cada terrário devem ser exclusivos do terrário, evitando dessa maneira carrear micro-organismos de um local para outro.

Os micro-organismos que compõem a microbiota normal do jabuti podem se tornar patogênicos para seus hospedeiros quando os mesmos encontram-se debilitados. Além disso, a eliminação contínua destes micro-organismos por répteis aparentemente saudáveis ou mesmo doentes pode representar um importante problema para pessoas que mantenham contato com estes animais (8).

A medicina humana não está familiarizada com as zoonoses transmitidas por répteis e, raramente, durante uma consulta, procede-se à averiguação sobre informações acerca do contato entre o paciente e um réptil de estimação (9).

Alguns fatores podem ser classificados como predisponentes para a ocorrência de infecções por bactérias presentes na microbiota saudável dos geoquelônios, como má nutrição, alta umidade e água de baixa qualidade.

Os répteis constituem um dos grupos de vertebrados que apresentam variações significantes em seu regime alimentar, isso faz com que cada animal possua uma microflora gastrointestinal própria e característica, influenciada pelo habitat e pelo tipo de alimentos ingeridos. O conhecimento a respeito da microbiota presente em uma população de geoquelônios silvestres é essencial para se identificar os possíveis reservatórios responsáveis pela transmissão de prováveis zoonoses.

O objetivo geral do presente trabalho foi rastrear e avaliar a microbiota gastrointestinal do *Chelonoidis* e identificar sua importância na ecoepidemiologia de doenças infecciosas, verificando, conseqüentemente, a manutenção e a propagação de patógenos no ambiente, já que há uma escassez de dados nestes animais quanto a este assunto.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas fezes de nove (09) jabutis, membros do gênero *Chelonoidis*, de ambos os sexos, adultos com idade variável, mantidos no Zoológico Municipal Dr. Flávio Leite Ribeiro, na cidade de Araçatuba, São Paulo. Os animais foram imobilizados, por contenção mecânica, e amostras de fezes foram colhidas, utilizando *swabs* retais, posteriormente acondicionadas em isopor com gelo e imediatamente submetidas a análises no Laboratório de Microbiologia da Unesp-Araçatuba.

As fezes foram semeadas em meios de MacConkey e ágar enriquecido com sangue ovino a 5% desfibrinado e incubadas em atmosfera de aerobiose à temperatura de 37°C em estufa bacteriológica por 24 h, 48 h e 72 h respectivamente.

Os cultivos bacterianos foram observados e identificados de acordo com as características morfológicas das colônias e do micro-organismo quando submetido à coloração de Gram. Posteriormente, procedeu-se com provas bioquímicas (Triple sugar iron, motilidade, indol, Lisina, e citrato) para a identificação do gênero e espécie bacteriana, segundo Quinn (10).

RESULTADOS

Das nove (09) amostras analisadas, cinco apresentaram crescimento de micro-organismos da família das Enterobacteriaceae, representando 55,5% dos isolamentos. As demais culturas, 44,5% apresentaram crescimento exuberante de múltiplas colônias em associação, caracterizando por crescimento maciço de contaminantes, não sendo possível o isolamento e a identificação de micro-organismos. As espécies de maior ocorrência foram *Escherichia coli*, apresentando crescimento puro e exuberante em 100%, das amostras, seguida pela *Klebsiella oxytoca* com 20% dos isolados. Os resultados demonstraram uma totalidade de bactérias Gram negativas fermentadoras ($P < 0,05$) em todas as amostras consideradas.

DISCUSSÃO

A popularidade de diferentes répteis criados como animais de estimação vem crescendo e tem causado preocupação quanto ao seu impacto na saúde pública. Segundo Johnson-Delaney (9), répteis criados em domicílios podem apresentar risco potencial de transmissão de diferentes micro-organismos.

Um estudo realizado por Pessoa (11), em estabelecimentos comerciais credenciados pelo IBAMA, durante o período de 12 meses, constatou que os jabutis (*C. carbonaria*) representaram 31,13% das principais espécies vendidas, o que mostra ser uma espécie cativante e de interesse para animal de estimação.

Os dados obtidos no presente estudo concordam com os resultados de Pessoa (12), que ao analisar a microbiota bacteriana presente na cloaca de 100 jabutis criados em domicílio, encontrou as maiores prevalências para *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp. com 67% e 54%, respectivamente. Semelhantemente, aos apresentados por Benites et al. (13), onde os autores isolaram *E. coli* (67%) e *Klebsiella* (57%), além de outros micro-organismos a partir de suabes cloacais. Diferentemente dos resultados encontrados por Meyer-Junior et al. (14) quando *E. cloacae* foi o micro-organismo de maior frequência (27,45%), seguido por *Klebsiella pneumoniae* com 17,65% de 116 amostras de tartarugas da amazônia.

A *Escherichia coli* é um dos micro-organismos em que as estirpes são tidas como naturais da flora microbiana intestinal da maioria dos animais, sendo consideradas inofensivas, entretanto, outros tipos podem levar a doenças sérias por serem hemorrágicas, devido a produção de grande quantidade de toxinas, provocando severos danos à mucosa intestinal, principalmente em jovens e imunocomprometidos (15), além da possibilidade de se alcançar as vias urinárias, causarem infecções sérias, por ser um patógeno agressivo no trato urinário (16).

Outro patógeno de grande importância encontrado neste estudo pertencia ao gênero *Klebsiella*, semelhantemente aos resultados apresentados por Meyer-Junior et al. (14) sendo um habitante comum no trato respiratório, intestinal e urogenital, podendo acarretar infecções graves em imunocomprometidos.

Os resultados revelam que geoquelônios podem hospedar micro-organismos patogênicos em suas fezes; podendo, portanto atuar de forma ativa na ecoepidemiologia de doenças infecciosas. Embora, o número de amostras seja pequeno, os resultados revelam uma tendência à homogeneidade microbiana que compõe a microbiota da espécie, já que esses animais dividem o mesmo recinto como habitat e recebem a mesma dieta alimentar. Vale ressaltar, que a falta de cuidados com os animais jovens podem trazer deficiência imunológica, impossibilitando-os de manter um controle suficiente e eficaz contra os agentes patogênicos adquiridos (12). Os resultados ainda nos permite inferir sob os cuidados necessários com o material biológico durante todos os procedimentos, a fim de evitar perdas das amostras, prejudicando o trabalho.

O conhecimento de novos nichos e *habitat* nos permite a elaboração de estratégias que visem inibir a veiculação de determinadas doenças que possam ser consideradas zoonoses. Sendo os geoquelônios animais de sangue frio sua microflora gastrointestinal pode apresentar bactérias com características particulares e adaptadas ao hospedeiro sendo, portanto, necessárias outras pesquisas específicas que nos permitam maior conhecimento.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo possibilitam concluir que os *Chelonoidis*, são hospedeiros de importantes patógenos, o que enfatiza sua relevância na ecoepidemiologia de doenças infecciosas, confirmando, conseqüentemente, a manutenção e a propagação de tais patógenos no ambiente. Principalmente, quando presentes em cativeiro, pois a transmissão entre os animais torna-se facilitada pelo compartilhamento de espaço, muitas vezes restrito, e consorciado a outros animais, possibilitando a transmissão de zoonoses.

AGRADECIMENTOS

Os autores deste trabalho agradecem ao Médico Veterinário Dr. Eustáquio Zacour de Azevedo responsável pelo Zoológico Municipal Dr. Flávio Leite Ribeiro, da cidade de Araçatuba/SP, por permitir a colheita do material biológico.

REFERÊNCIAS

1. Ernst CH, Barbour RW. Turtles of the world. Washington, DC: Smithsonian Institution Press; 1989.
2. Lehrer J. The world of turtles and tortoises. New York: Tetra Press; 1993.
3. Mader DR. Reptile medicine and surgery. St. Louis: Saunders Elsevier; 1996.
4. Schimidt-Nielsen K. Fisiologia animal: adaptação ao meio ambiente. 5a ed. São Paulo: Santos; 1996.
5. Pritchard PCH. Encyclopedia of turtles. New Jersey: TFH Publication; 1979.
6. Levine D, Schafer D. Red-footed tortoise, *Geochelone carbonaria*. Tortuga Gazette. 1992;28(1):1-3.
7. Corrêa SHR, Passos EC. Wild animals and public health. In: Fowler ME, Cuba ZS. Biology, medicine, and surgery of south American wild animals. Ames: Iowa State University Press; 2001. p.493-9.
8. Frye FL. Reptile care. An atlas of diseases and treatments. Neptune City, NJ: TFH Publications; 1991.
9. Johnson-Delaney CA. Reptile zoonoses and threats to public health. In: Mader DR. Reptile medicine and surgery. London: WB Saunders Company; 1996. p.20-33.
10. Quinn PJ. Clinical veterinary microbiology. London: Wolf Publishing; 1994.
11. Pessoa A. Estudo de acompanhamento na venda de animais legalizados por loja legalizada e especializada em espécimes silvestres [Internet]. 2006 [Cited 2013 Jun 10]. Available from: http://www.animalexotico.com.br/index.php?option=com_content&view=article&id=113:estudo-de-acompanhamento-na-venda-de-animais-legalizados-por-loja-legalizada-e-especializada-em-especimes-silvestres&catid=2:geral&Itemid=4
12. Pessoa CA. Avaliação da microbiota bacteriana e fúngica presente na cloaca de jabutis (*Geochelone carbonaria*) criados em domicílio e análise do potencial risco à saúde humana [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2009.
13. Benites NR, Pessoa C, Bandini L, Saldenberg A, Moreno A, Sakata S, et al. Microbiota Bacteriana e fúngica presentes na cloaca de Jabutis-Piranga (*Geochelone carbonaria*) criados em domicílio. Vet Zootec. 2013;20(1):102-10.
14. Meyer-Junior JC, Dias H, Araujo J. Determinação qualitativa das enterobactérias presentes no trato digestivo de tartarugas da Amazônia (Podocnemis expansa) mantidas em cativeiro. In: VII Congresso internacional sobre manejo de animais silvestres na Amazônia e América Latina; 2006; Ilhéus. Ilhéus: Universidade Estadual de Santa Cruz; 2006.

15. Combate a E. coli. Rev Pesq Med [Internet]; 2008 [cited 2010 Fev 11]. Available from: <http://www.revistapesquisamedica.com.br/PORTAL/textos.asp?codigo=11109>.
16. Spindola S. Ocorrência de Escherichia coli em culturas de urina no setor de microbiologia do Ambulatório Pam Antônio Ribeiro Netto. Novo Enfoque Rev Eletron. 2007;5(5):1-12.

Recebido em: 03/07/2014

Aceito em: 01/06/2015

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 Melville 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 Frederico 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 Cunha Lacreata 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
 Eliana Roxo
 Eunice Oba
 Evelise Oliveira Telles
 Fabiano Montiani Ferreira
 Felipe Masiero Salvani
 Fernanda da Cruz L. e Alvarenga
 Fernando Antônio de Avila
 Fernando Ferreira
 Fernando Pandolfo Bortolozzo
 Flávia de Rezende Eugênio
 Francisco Carlos Faria Lobato
 Francisco Leydson Formiga Feitosa
 Frederico Ozanam Papa
 Geder Paulo Herrmann
 Gilson Helio Toniollo
 Gustavo Ferrer Carneiro
 Helenice de Lima González
 Helenice de Souza Spinosa
 Humberto Tonhati
 Iolanda Aparecida Nunes
 Ivan Roque de Barros Filho
 Ivo Wentz
 Jackson Victor de Araújo
 Jane Megid
 Jean Carlos Ramos da Silva
 Jean Guilherme F. Joaquim
 Jener Alexandre S. Zuanon
 João Carlos Pinheiro Ferreira
 João Guilherme P. Filho
 João Luiz Horácio Faccini
 João Pessoa Araújo Júnior
 João Ricardo Dittrich
 José Antônio Viana
 José Augusto B. Afonso
 José Carlos de Andrade Moura
 José Dantas Ribeiro Filho
 José Domingos Guimarães
 José Fernando Machado Menten
 José Juradir Fagliari
 José Laerte Nörnberg
 José Nicolau Prospero Puoli Filho
 José Paes de A. N. Pinto
 José Paes de Oliveira Filho
 José Roberto Kfoury Júnior
 José Roberto Sartori
 José Vasconcelos Lima Oliveira
 Joselito Nunes Costa
 Jovanir I. Müller Fernandes
 Juliany Gomes Quitzan
 Julieta Rodini Engrácia de Moraes
 Júlio César de Freitas
 Kátia Denise Saraiva Bresciani
 Laerte Ferreira
 Lara Borges Keid
 Leandro Rodello
 Lílian Gregory
 Lisiane de A. Martins
 Lissandro Gonçalves Conceição
 Luciana Morganti Ferreira Maselli
 Luciano José da Costa Figueiredo

Luís Carlos Vulcano
 Luís Gustavo Corbellini
 Luiz Alberto do Lago
 Luiz Augusto do Amaral
 Luiz Celso Hygino da Cruz
 Luiz Ernani Henkes
 Luiz Francisco Zafalon
 Luiz Henrique de Araújo Machado
 Magda Alves de Medeiros
 Marcelo Beltrão Molento
 Marcelo George Mungai Chacur
 Marcelo Resende de Souza
 Marcelo Vasconcelos Meireles
 Márcia C. da Sena Oliveira
 Márcia Marinho
 Márcia Valéria Rizzo S. Szabó
 Marcia Oliveira Lopes
 Márcio Machado Ladeira
 Marco A. F. Lopes
 Marco Antonio Alvarenga
 Marco Antonio Lemos de Oliveira
 Marconi Rodrigues de Farias
 Marcos Amaku
 Marcos 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 Roehe
 Paulo Roberto Brandão
 Paulo Roberto de Lima Meirelles
 Paulo Roberto Rodrigues Ramos

Peterson Triches Dornbusch
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. Estafilococis em geral. In: Corrêa MC, Corrêa CNM. Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos. 2^a 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 3^o 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 ZOOTECCIA”

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 pié 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 3^o 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>>.