

Veterinária e Zootecnia

Vet e Zootec.

2015 março; 22(1): 001-142

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

ISSN Impresso 0102-5716

ISSN Eletrônico 2178-3764

Botucatu - SP – Brasil

Veterinária e Zootecnia

ISSN Impresso 0102-5716
ISSN Eletrônico 2178-3764

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

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

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

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

Trimestral
Texto em português/inglês/espanhol
Descrição baseada em: Vol. 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 ZOOTECCIA* são indexados por:
Lilacs, PERIÓDICA – Índice de Revistas Latinoamericanas em Ciências, Cambridge
Scientific Abstracts, CAB Abstracts e GALE- Cengage Learning.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Administração Geral da UNESP

Reitor

Prof. Dr. Julio Cezar Durigan

Vice-Reitor

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

Pró-Reitor de Pesquisa

Prof^a Dr^a Maria José Soares Mendes Giannini

Pró-Reitor de Pós-Graduação

Prof. Dr. Eduardo Kokubun

Pró-Reitor de Graduação

Prof. Dr. Laurence Duarte Colvara

Pró-Reitor de Extensão Universitária

Prof^a Dr^a Mariângela Spotti Lopes Fujita

Pró-Reitor de Administração

Prof. Dr. Carlos Antonio Gamero

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Administração da FMVZ

Diretor

Prof. Dr. José Paes de Almeida Nogueira Pinto

Vice-Diretor

Prof^a Dr^a Maria Denise Lopes

Botucatu
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
FMVZ
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.....	7
ARTIGOS DE REVISÃO/REVIEW ARTICLES/ARTÍCULOS DE REVISIÓN	
IMPLICAÇÕES RENAIAS DO HIPERTIREOIDISMO FELINO – REVISÃO/ FELINE HYPERTHYROIDISM AND CHRONIC KIDNEY DISEASE – REVIEW/ IMPLICACIONES RENALES DEL HIPERTIROIDISMO FELINO – REVISIÓN. Fernanda Chicharo Chacar, Priscylla Tatiana Chalfun Guimarães-Okamoto, Alesandra Melchert.....	8
O USO DA ENDOSCOPIA DIGESTIVA ALTA EM PEQUENOS ANIMAIS/ THE USE OF UPPER ENDOSCOPY IN SMALL ANIMALS/ LA ENDOSCOPIA DIGESTIVA EN PEQUEÑOS ANIMALES. Luciana Carandina da Silva, Vânia Maria de Vasconcelos Machado	15
RELATOS DE CASO/CASE REPORTS/ESTUDIOS DE CASO	
ENDOFTALMITE BACTERIANA SEVERA BILATERAL EM CÃO APÓS FACECTOMIA INTRACAPSULAR - RELATO DE CASO/ BILATERAL BACTERIAL ENDOPHTHALMITIS IN DOG AFTER INTRACAPSULAR SURGERY - CASE REPORT/ ENDOFTALMITIS BACTERIANA GRAVE BILATERAL EN PERRO TRAS FAQUECTOMÍA INTRACAPSULAR – RELATO DO CASO. Cristiane de Abreu Estanislau, Vivian Lima de Souza, Cláudia Valéria Seullner Brandão, Natalie Bertelis Merlini, Natália Rodrigues Rodas, Joice Furtado Fonzar, Cintia Sesso Perches, José Joaquim Tilton Ranzani	26
ACTINOBACILOSE EM BOVINO SECUNDÁRIA A DESCORNA COSMETICA: RELATO DE CASO / BOVINE ACTINOBACILLOSIS SECONDARY TO COSMETIC DEHORNING: CASE REPORT / ACTINOBACILOSIS BOVINA SECUNDARIA DESCUERNE ESTÉTICO: RELATO DEL CASO. Armando de Mattos Carvalho, Hugo Shisei Toma, Tairine Aimara Artmann, Kledir Anderson Hofstaetter Spohr, Jeandra Carla Mattos do Nascimento Pinheiro, Lazaro Manoel de Camargo	32
TERATOMA CONGENITO EM BEZERRA DA RAÇA NELORE/ CONGENITAL TERATOMA IN A NELORE CALF/ TERATOMA CONGENITO EN TERNERA NELORE. Edivaldo Aparecido Nunes Martins, Gisele Fernanda Gregghi, Valéria Maria Lara, Marcelo Bittencourt Contieri.....	37
COMUNICAÇÃO CURTA/SHORT COMMUNICATION/COMUNICACIÓN CURTA	
SOROPREVALÊNCIA DA BRUCELOSE BOVINA E BUBALINA NO ESTADO DO PARÁ/ SERUM PREVALENCE OF BRUCELLOSIS BOVINE AND BUFFALO IN THE STATE OF PARÁ/ SEROPREVALENCIA PARA BRUCELOSIS BOVINA Y BÚFALINA EN EL ESTADO DE PARÁ. Alexandre do Rosário Casseb, Andrea Viana da Cruz, Iroleide Santana de Jesus, Sandro Patroca da Silva, Andréa Maria Negrão, Susiclay Barros Neto, Gláucio Antônio Galindo, Brenda Baker Tavares.....	42
ARTIGOS/ARTICLES/ARTÍCULOS	
ESTUDO RETROSPECTIVO DAS DOENÇAS, RAÇAS E IDADES DE CÃES E GATOS COM DIFICULDADE DE DEAMBULAÇÃO / RETROSPECTIVE STUDY OF THE DISEASES, BREEDS AND AGES OF DOGS AND CATS WITH LOCOMOTION IMPAIRMENT/ ESTUDIO RETROSPECTIVO DE ENFERMEDADES, RAZAS Y EDADES DE PERROS Y GATOS CON DIFICULTAD PARA CAMINAR. Eduardo José Diniz da Gama, Stelio Pacca Loureiro Luna, Jean Guilherme Fernandes Joaquim, Cláudia Oliveira, José Eduardo Corrente, Nuno Oliveira Figueiredo Silva	46

TEMPO NA ATIVIDADE E PERCEPÇÃO DE RISCO DE PRODUTORES DE LEITE NO EMPREGO DE PRODUTOS VETERINÁRIOS/ TIME ACTIVITY AND RISK PERCEPTION OF DAIRY FARMERS IN THE USE OF VETERINARY PRODUCTS/ TIEMPO EN LA ACTIVIDAD Y PERCEPCIÓN DE RIESGO DE LOS PRODUCTORES DE LECHE EN EL USO DE PRODUCTOS VETERINARIOS. Ana Carolina Borsanelli, Antonio Sergio Ferraudo, Samir Issa Samara, Iveraldo dos Santos Dutra	54
QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DE PISCINAS DE CLUBE ESPORTIVO DE BOTUCATU-SP, BRASIL/ MICROBIOLOGICAL QUALITY OF WATER FROM SWIMMING POOLS OF A SPORT CLUB IN BOTUCATU-SP, BRAZIL / CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA DE PISCINAS DE UN CLUB DEPORTIVO DE BOTUCATU-SP, BRASIL. Helio Langoni, Marcella Zampoli Troncarelli, Luiz Carlos de Souza, Rodrigo Costa da Silva.....	61
ANÁLISE DE CRITÉRIOS PARA UTILIZAÇÃO NA SELEÇÃO DE BACTERÍOFAGOS LÍTICOS COM POTENCIAL PARA UTILIZAÇÃO MÉDICA: DADOS PRELIMINARES/ CRITERIA FOR SELECTION OF LYTIC BACTERIOPHAGE FOR USE IN MEDICAL FIELD (SETTING): PRELIMINARY DATA/ ANÁLISIS DE LOS CRITERIOS PARA LA SELECCIÓN DE BACTERÍOFAGOS LÍTICOS CON POTENCIAL PARA USO MÉDICO: DATOS PRELIMINARES. Guilherme Augusto Marietto Gonçalves, Bianca Yuri Borges Suehiro, Luis Felipe Zuccolo Paschoal Costa, José Carlos de Figueiredo Pantoja, Raphael Lucio Andreatti Filho	72
OCORRÊNCIA E ASPECTOS MACRO E MICROSCÓPICOS DA MUCOMETRA EM CADELAS/ OCCURRENCE AND MACRO AND MICROSCOPIC ASPECTS OF MUCOMETRA IN BITCHES/ OCURRENCIA Y LOS ASPECTOS MACRO Y MICROSCÓPICOS DE MUCOMETRA EN PERRAS. Lucien Roberta Valente Miranda de Aguirra, Washington Luiz Assunção Pereira, Eduardo Henrique Marsolla	83
FAUNA DE MORCEGOS (MAMMALIA, CHIROPTERA) E A OCORRÊNCIA DE VÍRUS DA RAIVA NA CIDADE DE SÃO PAULO, BRASIL./ BAT (MAMMALIA, CHIROPTERA) SURVEY AND RABIES VIRUS OCCURRENCE IN SÃO PAULO CITY, BRAZIL./ LA FAUNA DE MURCIÉLAGOS (MAMMALIA, CHIROPTERA) Y OCURRENCIA DEL VIRUS DE LA RABIA EN LA CIUDAD DE SÃO PAULO, BRASIL. Marilene Fernandes de Almeida, Adriana Ruckert da Rosa, Miriam Martos Sodré, Luzia Fátima Alves Martorelli, José Trezza Netto.....	89
SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DO FARELO DE SOJA POR DIFERENTES FONTES NITROGENADAS EM DIETAS A BASE DE CANA DE AÇÚCAR NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS/ PARTIAL REPLACEMENT OF SOYBEAN MEAL BY DIFFERENT NITROGEN SOURCES IN DIETS BASED ON SUGARCANE AS FORAGE TO FEEDING OF DAIRY COWS / SUSTITUCIÓN PARCIAL DE LA HARINA DE SOJA POR DIFERENTES FUENTES DE NITRÓGENO EN DIETAS A BASE DE CAÑA DE AZÚCAR EN LA ALIMENTACIÓN DE LAS VACAS LECHERAS. Juliane de Rezende Naves, Elmeson Ferreira de Jesus, Juliana Regina Barreiro, Marcos André Arcari, Cristian Marlon de Magalhães Rodrigues Martins, Marcos Veiga dos Santos.....	101
IDENTIFICAÇÃO E PERFIL DE SENSIBILIDADE DE <i>Enterobacter</i> spp. ISOLADOS DE LEITE BOVINO CRU/ IDENTIFICATION AND SENSITIVITY PROFILE OF <i>Enterobacter</i> spp. ISOLATED FROM RAW COW MILK/ IDENTIFICACIÓN Y PERFIL DE LA SENSIBILIDAD DE <i>Enterobacter</i> spp. AISLADOS DE LECHE CRUDA DE VACA. Taila dos Santos Alves, Amanda Keller Siqueira, Mirtis Maria Giaciani Ferraz, Domingos da Silva Leite.....	114
RESULTADOS DA ADMINISTRAÇÃO COM PRODUTO À BASE DE GLUCONATO DE ZINCO EM CÃES MACHOS NO MUNICÍPIO DE IBIUNA – SP./ RESULTS OF APPLICATION WITH PRODUCT ZINC GLUCONATE-BASED IN MALE DOGS IN THE CITY OF IBIÚNA-SP./ RESULTADOS DE LA ADMINISTRACIÓN CON PRODUCTO A BASE DE GLUCONATO DE ZINC DE PERROS MACHOS EN LA CIUDAD DE IBIÚNA-SP. Francisco Rafael Martins Soto.....	1223

EDITORIAL

A DENGUE FORA DE CONTROLE

Quem transmite a Dengue é um mosquito, o *Aedes aegypti*, e é causada por um RNA vírus do grupo dos arbovírus, gênero Flavivirus. Esse mosquito pode transmitir ainda o vírus da febre amarela urbana e o vírus Chikungunya. O período de incubação é variável de 4 a 10 dias, em média de 5 a 6 dias. A doença cursa com febre alta (39 a 40°C), com início abrupto. O paciente apresenta cefaleia, mialgia, artralgia, prostração, astenia, dor retro-orbital e erupção cutânea. São comuns, ainda, náuseas e vômitos.

O meio ambiente desempenha um papel relevante na manutenção dos mosquitos transmissores, que são os vetores, e são elos importantes da cadeia epidemiológica de transmissão da enfermidade aos humanos. A principal forma de evitar a doença é o combate aos criadouros do mosquito, principalmente, fontes de água parada, como latas, pneus e outros objetos que possibilitem o acúmulo de água da chuva que é uma fonte para a deposição de ovos do vetor que completam o seu ciclo evolutivo, contribuindo para com a disseminação da doença. Outra importante medida é a prática individual contra picadas por meio da utilização de repelentes e roupas que minimizem a exposição da pele durante o dia, quando os mosquitos estão mais ativos, proporcionando proteção às picadas. Uso de mosquiteiros, de inseticidas domésticos sob a forma de aerosol, além da utilização de telas protetoras em janelas e portas contribuem para reduzir a exposição do ser humano, pela redução das picadas dos vetores.

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: Implicações renais do hipertireoidismo felino-Revisão; O uso da endoscopia digestiva alta em pequenos animais. Os relatos de caso: Endoftalmite bacteriana severa bilateral em cão após facectomia intracapsular- Relato de caso; Actinobacilose em bovino secundária a descorna cosmética: Relato de caso; Teratoma congênito em bezerra da raça nelore. Comunicação curta: Soroprevalência da brucelose bovina e bubalina no estado do Pará. Os artigos originais: Estudo retrospectivo das doenças, raças e idades de cães e gatos com dificuldade de deambulação; Tempo na atividade e percepção de risco de produtores de leite no emprego de produtos veterinários; Qualidade microbiológica da água de piscinas de clube esportivo de Botucatu-SP, Brasil; Análise de critérios para utilização na seleção de bacteriófagos líticos com potencial para utilização médica: dados preliminares; Ocorrência e aspectos macro e microscópicos da mucometra em cadelas; Fauna de morcegos (Mammalia, Chiroptera) e a ocorrência de vírus da raiva na cidade de São Paulo, Brasil.; Substituição parcial do farelo de soja por diferentes fontes nitrogenadas em dietas a base de cana de açúcar na alimentação de vacas leiteiras; Identificação e perfil de sensibilidade de *Enterobacter spp* isolados de leite bovino cru; Resultados da administração com produto à base de gluconato de zinco em cães machos no município de Ibiuna-SP.

Prof. Helio Langoni
Editor-Chefe

IMPLICAÇÕES RENAIIS DO HIPERTIREOIDISMO FELINO – REVISÃO

Fernanda Chicharo Chacar¹
Priscylla Tatiana Chalfun Guimarães-Okamoto²
Alessandra Melchert³

RESUMO

O hipertireoidismo e a doença renal crônica (DRC) são as enfermidades mais frequentes em felinos idosos. O excesso dos hormônios tireoidianos leva ao aumento da perfusão renal e, conseqüentemente, da taxa de filtração glomerular (TFG). Em longo prazo, o estado hiperdinâmico induzido pela tireotoxicose culmina em lesão renal progressiva, caracterizada por proteinúria, estresse oxidativo e glomeruloesclerose. Além disso, 40% dos gatos hipertireoideos possuem DRC preexistente, não diagnosticada. Os valores de ureia e creatinina, marcadores rotineiros de função renal, encontram-se dentro do intervalo de referência, devido à alta TFG induzida pelos hormônios tireoidianos. Os gatos hipertireoideos com DRC concomitante constituem, portanto, um desafio diagnóstico. Desta forma, novos estudos sobre as implicações renais do hipertireoidismo felino são necessários.

Palavras-chave: tireotoxicose, doença renal crônica, gatos, tiroxina.

FELINE HYPERTHYROIDISM AND CHRONIC KIDNEY DISEASE – REVIEW

ABSTRACT

Hyperthyroidism and chronic kidney disease are the most common diseases in older cats. The excess of thyroid hormones increases renal perfusion and thus the glomerular filtration rate (GFR). In the long term, hyperdynamic state induced by thyrotoxicosis culminates in progressive renal injury, characterized by proteinuria, oxidative stress and glomerulosclerosis. In addition, 40% of hyperthyroid cats have undiagnosed pre-existing chronic kidney disease. The values of urea and creatinine remains within the reference range due to high GFR caused by thyroid hormones. The hyperthyroid cats with underlying chronic kidney disease constitute a diagnostic challenge. Thus, further studies on the renal implications of feline hyperthyroidism are needed.

Keywords: thyrotoxicosis, chronic kidney disease, cats, thyroxine.

IMPLICACIONES RENALES DEL HIPERTIROIDISMO FELINO – REVISIÓN

RESUMEN

El hipertiroidismo y la enfermedad renal crónica son las enfermedades más comunes en los gatos ancianos. El exceso de hormonas tiroideas provoca un aumento de la perfusión renal y por lo tanto la tasa de filtración glomerular (TFG). En largo plazo, es estado hiperdinámico inducido por tirotoxicosis culmina en la lesión renal progresiva, caracterizada por proteinuria, estrés oxidativo y la glomeruloesclerosis. Además, 40% de los gatos con hipertiroidismo tienen enfermedad renal crónica preexistente, sin diagnosticar. Los valores de urea y

¹ Residente da Clínica Médica Veterinária - Departamento de Clínica Veterinária - FMVZ-Unesp-Botucatu

² Departamento de Clínica Veterinária de Pequenos Animais, Área - Nefrologia de Pequenos Animais. FMVZ-Unesp-Botucatu. Contato principal para correspondência

³ Departamento de Clínica Veterinária de Pequenos Animais. FMVZ-Unesp-Botucatu

creatinina, marcadores de rotina de la función renal, se encuentran dentro del rango de referencia, debido a la alta TFG inducidas por las hormonas tiroideas. Los gatos hipertiroideos con enfermedad renal crónica subyacente, por lo tanto, constituyen un desafío diagnóstico. Por lo tanto, se necesitan más estudios sobre las repercusiones renales de hipertiroidismo felino.

Palabras clave: tirototoxicosis, enfermedad renal crónica, gatos, tiroxina.

INTRODUÇÃO

A doença renal crônica (DRC) e o hipertireoidismo representam os distúrbios metabólicos mais frequentes em medicina felina. Aproximadamente 30% dos gatos com mais de 15 anos são acometidos por DRC, ao passo que o hipertireoidismo é considerado a endocrinopatia mais comum em felinos acima de oito anos. Atualmente, sabe-se que ambas as enfermidades podem coexistir em um mesmo paciente, no entanto, somente a partir da década de 90 foi demonstrada uma interação clinicamente importante entre o hipertireoidismo e a DRC em gatos (1,2).

Estudos recentes apontam a influência dos hormônios tireoidianos sobre os rins desde a embriogênese, ao exercerem efeitos diretos sobre os canais iônicos, absorção ou secreção de substâncias pelos túbulos renais e sobre a taxa de filtração glomerular (TFG). Os hormônios tireoidianos também influenciam indiretamente a perfusão renal, ao atuarem no sistema cardiovascular. Desta forma, o hipertireoidismo promove um estado hiperdinâmico, com aumento do débito cardíaco, bem como da perfusão renal, a qual, por sua vez, culmina em hipertrofia/hiperplasia tubular e TFG aumentada. A falência renal pode ocorrer devido à proteinúria e ao estresse oxidativo, com consequente progressão para a glomerulosclerose. As manifestações clínicas causadas pelas altas concentrações dos hormônios tiroxina (T4) e triiodotironina (T3) são conhecidas como tireotoxicose (2). Se não controlada, a tireotoxicose pode ser deletéria, especialmente para os rins (3).

Por outro lado, estudos demonstraram que logo após o tratamento do hipertireoidismo, os felinos apresentam azotemia, atribuída à redução na taxa de filtração glomerular (2,3). Desta forma, as alterações metabólicas associadas ao hipertireoidismo não somente podem causar lesão renal, mas também mascaram a doença renal preexistente (3).

Os gatos hipertiroideos com doença renal crônica preexistente constituem, portanto, um desafio diagnóstico (1). Diante disso, o presente trabalho objetivou revisar os aspectos fisiopatológicos e clínicos da doença renal crônica e do hipertireoidismo felino.

REVISÃO DE LITERATURA

Hipertireoidismo e doença renal crônica em felinos

O hipertireoidismo pode aumentar o fluxo plasmático renal e, consequentemente a TFG (1,2,3). A TFG é capaz de se manter constante, mesmo em uma ampla faixa de pressões arteriais médias, no entanto, nos gatos hipertiroideos esta autorregulação não é observada (1).

Os humanos com hipertireoidismo e os animais tratados com excesso de hormônio tireoidiano apresentam aumento da TFG, porém nestes casos não se verifica a ocorrência de DRC após a resolução da tireotoxicose ou após a suspensão da suplementação hormonal (1). A espécie felina constitui, portanto, um modelo para os estudos relacionados às interações hormonais e patologias da tireoide e dos rins (2).

A coexistência destas duas enfermidades em gatos é de difícil diagnóstico. A DRC pode levar à supressão dos hormônios tireoidianos, condição clínica conhecida como “síndrome do

eutireoideo doente”, ao passo que o hipertireoidismo, ao aumentar a TFG, pode consequentemente, reduzir os níveis sanguíneos de ureia e creatinina, mascarando, desta forma, a DRC (4). 40% dos felinos hipertireoideos podem apresentar DRC preexistente não diagnosticada (2).

O diagnóstico do hipertireoidismo felino deve ser baseado no histórico, sinais clínicos e achados laboratoriais, especialmente nos testes de função tireoidiana. Cerca de 80 a 90% dos gatos hipertireoideos possuem um ou os dois lobos tireoidianos palpáveis. A concentração de T4 total, na maioria dos casos, pode estar 20 vezes acima do limite superior. No entanto, 10% dos pacientes apresentam níveis sanguíneos deste hormônio dentro do valor de referência (5). Nestes casos, recomenda-se o descarte de outras afecções concomitantes e a realização de uma segunda dosagem de T4 total, acrescida de T4 livre por diálise. O aumento destes dois hormônios confirma o diagnóstico de hipertireoidismo (6).

Quanto a DRC, o diagnóstico precoce é de suma importância por se tratar de uma enfermidade de caráter progressivo. A ureia e a creatinina, rotineiramente utilizadas como marcadores de função renal, são insensíveis como indicadores precoces. No entanto, estudos mostraram que gatos hipertireoideos com concentrações séricas de ureia e creatinina dentro dos valores de referência, além de densidade urinária maior que 1.035, possuem risco reduzido de desenvolverem DRC após o tratamento desta endocrinopatia. Pesquisas recentes também avaliaram a TFG como um indicador precoce de lesão renal no hipertireoidismo, porém até o momento, os resultados tem sido controversos (7).

A presença de *urinary retinol binding protein* (uRBP), um marcador precoce de lesão tubular renal, foi mensurada na urina de gatos hipertireoideos, com o objetivo de avaliar se este marcador seria capaz de detectar a presença de lesão renal nestes animais, antes da terapia com o iodo radioativo e, desta forma, identificar os felinos que potencialmente poderiam se tornar doentes renais crônicos após o tratamento. Foi observada a presença de uRBP tanto nos gatos hipertireoideos que desenvolveram azotemia semanas após o tratamento e, portanto, provavelmente possuíam DRC preexistente, quanto nos gatos hipertireoideos não azotêmicos, que após a terapia com iodo radioativo tornaram-se eutireoideos e, assim, passaram a ser considerados animais normais (2).

Desta forma, neste estudo, o uRBP não se mostrou um marcador precoce de lesão renal eficaz em felinos hipertireoideos, conforme esperado. No entanto, por outro lado, a presença deste marcador na urina de gatos hipertireoideos não azotêmicos e que retomaram o estado eutireoideo após o tratamento, foi capaz de demonstrar que o hipertireoidismo pode realmente induzir à lesão renal e ainda, que a lesão pode ser reversível naqueles casos nos quais não haja DRC concomitante (2).

O *N-acetyl-B-D-glucosaminidase* (NAG), uma enzima presente nas células epiteliais dos túbulos contorcidos proximais, é considerado um outro marcador de lesão tubular, altamente sensível. Porém, assim como o uRBP, não se mostrou eficaz em identificar precocemente a ocorrência de lesão renal em felinos hipertireoideos, em um estudo semelhante ao previamente descrito. O NAG foi mensurado na urina antes do tratamento com metimazol, e não foi observada diferença significativa quanto à presença deste marcador entre os gatos que apresentaram azotemia e que mantiveram a função renal normal, após a referida terapia (8).

É importante prever o desenvolvimento de DRC nos felinos hipertireoideos, uma vez que após o tratamento para esta endocrinopatia pode ocorrer azotemia e, desta forma, piora da condição clínica do animal. O uso do metimazole, ou a realização da tireoidectomia, ou ainda, da terapia com iodo radioativo, considerada a terapia de eleição, podem causar hipotireoidismo iatrogênico. Diante disto, a suplementação com L-tiroxina deve ser considerada, objetivando-se manter um leve estado hipertireoideo, a fim de minimizar a lesão renal (3).

As implicações renais do hipertireoidismo felino suscitam questões problemáticas, no que diz respeito ao diagnóstico e tratamento. Faz-se necessário, então, a compreensão da fisiopatologia e das interações hormonais entre a tireoide e os rins, nesta espécie (9).

Mecanismos fisiopatológicos

Os hormônios tireoidianos influenciam o funcionamento renal desde a embriogênese, seja indiretamente, atuando no sistema cardiovascular e conseqüentemente na perfusão renal, ou diretamente, interferindo na função glomerular, na secreção/absorção tubular, além de atuar na regulação eletrolítica (2).

Quanto aos efeitos cardiovasculares, o hipertireoidismo causa redução da resistência vascular periférica devido à dilatação das arteríolas periféricas, de forma a ativar o sistema renina-angiotensina-aldosterona, com conseqüente retenção de sódio. A redução da resistência vascular periférica, por sua vez, acarreta o aumento da frequência cardíaca, da contração ventricular e da fração de ejeção, levando ao aumento do débito cardíaco, e em muitos casos, à hipertensão arterial sistêmica (9).

O monitoramento da hipertensão é um aspecto importante da abordagem clínica de gatos com DRC aparente, após o tratamento do hipertireoidismo. Tanto o aumento da pressão arterial sistêmica, quanto à proteinúria decorrente da hipertensão renal são prejudiciais, e quando controladas, são associadas com maior sobrevida em felinos doentes renais crônicos (1).

Em relação aos efeitos diretos sobre os rins, o hipertireoidismo pode ocasionar alterações nos parâmetros clínicos renais, tais como TFG, densidade urinária específica (DUE), relação proteína-creatinina urinária (RPC) e marcadores de função tubular (2).

A TFG está frequentemente aumentada nos pacientes hipertireoideos, devido ao aumento do débito cardíaco e da elevação da pressão intraglomerular, decorrente das mudanças na resistência das arteríolas aferentes e eferentes. A DUE está baixa em gatos com hipertireoidismo e ela se mantém, ou até mesmo reduz, após o tratamento desta endocrinopatia (2). Pode ocorrer discreta proteinúria devido ao aumento da TFG, especialmente se também houver hipertensão arterial sistêmica ou hipertensão glomerular. Após o tratamento do hipertireoidismo, a proteinúria tende a diminuir (9).

Por outro lado, a DRC pode causar redução da concentração dos hormônios tireoidianos circulantes, o que é definido como a “síndrome do eutireoideo doente”. Alterações centrais, bem como no metabolismo hormonal e proteico, são as possíveis causas. A conversão de T3 para T4 está reduzida nestes casos, pois ocorre menor disponibilidade do T4 para a deiodinização, em nível celular, bem como menor atividade das deiodinases. Nos tecidos, há diminuição da captação do T4 e T3, devido à ação reduzida dos receptores nucleares para T3. A produção de proteínas carreadoras dos hormônios tireoidianos (tireoglobulina e albumina), e sua afinidade pelos hormônios, estão diminuídas, o que explica as concentrações normais de T4 livre na síndrome do eutireoideo doente (2).

Algumas drogas, cujos efeitos foram avaliados em cães e humanos, também podem levar à redução das concentrações séricas dos hormônios tireoidianos, mimetizando um estado hipotireoideo. Os glicocorticoides, por exemplo, inibem a secreção de TSH, e quando administrados em dose imunossupressora, causam rápida diminuição do T4 total, T4 livre e T3. As sulfonamidas, por sua vez, bloqueiam a iodinação da tireoglobulina, enquanto o fenobarbital leva à redução do T4 total e do T4 livre. Em felinos, os efeitos destas medicações não foram avaliados, sendo necessários novos estudos, no entanto, é importante estar atento à possível influência das drogas no metabolismo dos hormônios tireoidianos (10).

Tratamento dos felinos hipertireoideos com doença renal crônica

Atualmente, todos os tratamentos disponíveis para o hipertireoidismo podem comprometer a função renal, pois nesta endocrinopatia, a TFG se mantém aumentada. Porém, logo após o tratamento, ocorre queda do débito cardíaco, com conseqüente redução da perfusão renal, e desta forma, da TFG, que pode cair em até 50% (4).

Devido à redução da TFG, os gatos com DRC prévia, mascarada pelo estado hiperdinâmico da endocrinopatia, desenvolvem sinais de uremia após o tratamento para o hipertireoidismo (11). Por isto, o conhecimento da predisposição do paciente para desenvolver a DRC pós-terapia é de grande valor clínico (1).

Estudos mostraram que os felinos hipertireoideos com $DUE > 1.035$ e valores sanguíneos de ureia e creatinina normais antes do tratamento, possuem menor risco de comprometimento renal. A TFG, quando menor do que $2,25 \text{ ml/kg/min}$, pode ser considerada um indicador 100% sensível e 78% específico de doença renal pós-tratamento, e azotemia já pode ser observada 30 dias após a terapia. O valor preditivo da DUE quanto ao desenvolvimento de doença renal após o tratamento do hipertireoidismo também é duvidoso. Cerca de 50% dos felinos com $DUE < 1.035$ cursaram com DRC pós-terapia (1,2,7).

Para avaliar o impacto do hipertireoidismo sobre a função renal, recomenda-se a terapia medicamentosa com metimazole, por pelo menos 30 dias, antes mesmo do iodo radioativo ou da tireoidectomia. Na terapia definitiva, tanto o iodo radioativo, quanto a tireoidectomia, apesar de curativos, implicam no declínio irreversível da função renal, e exigem, portanto, maior acompanhamento clínico (7).

Atualmente, o iodo radioativo é o tratamento de escolha para o hipertireoidismo felino, embora o hipotireoidismo iatrogênico possa ocorrer em 30% dos casos. Outra complicação frequente é que 39% dos pacientes felinos apresentam DRC após o tratamento (12).

Os efeitos sobre a função renal de gatos medicados com metimazole são frequentemente reversíveis, por isto há indicação para sua prescrição no início do tratamento. Após sete dias, deve-se realizar a dosagem de T4 total, objetivando atingir a metade inferior da faixa de referencia. Caso necessário, a dose deve ser aumentada e o paciente deve ser reavaliado nos próximos 30 dias (7).

Caso o gato não se torne azotêmico ou mostre sinais clínicos de doença renal quando o estado de eutireoideo for alcançado utilizando-se o metimazole, outros tratamentos podem ser então sugeridos, embora o risco de lesão renal ainda exista (1). Por outro lado, caso o paciente desenvolva doença renal e sinais de uremia, a terapia medicamentosa deve ser mantida, em dose mais baixa, e a recomendação para a terapia com iodo radioativo, ou para a tireoidectomia deve ser avaliada com cautela, estando contraindicada nos casos mais graves. Nestes pacientes, a suplementação com L-tiroxina pode ser sugerida, com o objetivo de manter um leve estado hipertireoideo, afim de minimizar a azotemia (11,3). No entanto, estudos mostraram que a suplementação com tiroxina exógena resultou no aumento previsível do T4 total, mas não na redução da concentração de creatinina e dos sinais clínicos associados à doença renal (1).

Não há protocolo estabelecido nestes casos. Cabe ao clínico decidir se permite que o paciente permaneça relativamente em estado tireotóxico, com o objetivo de preservar o fluxo sanguíneo renal e suportar a TFG, ou que tolere um certo grau de azotemia, com o intuito de evitar sinais clínicos e as conseqüências do excesso de hormônio tireoideo. São necessários estudos adicionais para determinar a estratégia mais adequada para a abordagem terapêutica de tais casos (1).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O hipertireoidismo e a DRC são as afecções mais comuns em pacientes felinos geriátricos. O estado hiperdinâmico induzido pela tireotoxicose culmina em lesão renal progressiva devido à glomerulosclerose, proteinúria e estresse oxidativo. A semelhança de seus sinais clínicos, a carência de estudos relacionados aos marcadores precoces de lesão renal associada ao hipertireoidismo em gatos, bem como o estado eutireoideo provocado pela DRC, dificulta o diagnóstico destas enfermidades, que quando concomitantes, é realizado tardiamente. Desta forma, encontram-se maiores dificuldades na abordagem terapêutica do paciente, prejudicando, inclusive, sua sobrevivência. Portanto, maiores estudos sobre as implicações renais do hipertireoidismo felino são necessários, objetivando, desta forma, precocidade diagnóstica e melhoria da qualidade de vida do paciente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Graves TK. Hyperthyroidism and the kidney. In: August JR. Medicina interna de felinos. Rio de Janeiro: Elsevier; 2011.
- 2- Van Hoek I, Daminet S. Interactions between thyroid and kidney function in pathological conditions of these organ systems: A review. *Gen Comp Endocrinol*, 2009;160:205-215.
- 3- Broome MR. Feline hyperthyroidism: avoiding further renal injury. 2012 [cited 2012 nov 30]. Available from: <<http://www.avsg.net/documents/FelineHyperthyroidismAvoidingFurtherRenalInjuryMichaelBroomeDVMDABVP.pdf>>
- 4- Scherk M. Managing the cat with concurrent and chronic diseases – hyperthyroidism and chronic kidney disease. In: Little SE. The cat: clinical medicine and management. Ottawa: Elsevier; 2012. p.1099-101.
- 5- Peterson ME. Diagnostic tests for hyperthyroidism in cats. *Clin Tech Small Anim Pract*. 2006;21:2-9.
- 6- Pittari J, Rodan I, Beekman G, Moore Gunn D, Polzin D, Taboada J, et al. American association of feline practitioners. Senior care guidelines. *J Feline Med Surg*. 2009;11:763-78.
- 7- Riensche MR, Graves TK, Schaeffer DJ. An Investigation of predictors of renal insufficiency following treatment of hyperthyroidism in cats. *J Feline Med Surg*. 2008;10:160-6.
- 8- Lapointe C, Bélanger MC, Dunn M, Moreau M, Bédard C. N-Acetyl-b-D-Glucosaminidase Index as an Early Biomarker for Chronic Kidney Disease in Cats with Hyperthyroidism. *J Vet Intern Med*. 2008;22:1103-10.
- 9- Langston CE, Reine NJ. Hyperthyroidism and the kidney. *Clin Tech Small Anim Pract*. 2006;21:17-21.
- 10- Scott-Moncrieff, JC. Thyroid disorders in the geriatric veterinary patient. *Vet Clin Small Anim*. 2012;42:707-25.

- 11- Gunn-Moore D. Feline endocrinopathies. Clin Tech Small Anim Pract. 2005;35:171-210.
- 12- Van Hoek IM, Vandermeulen E, Peremans K, Daminet S. Thyroid stimulation with recombinant human thyrotropin in healthy cats, cats with non-thyroidal illness and in cats with low serum thyroxin and azotaemia after treatment of hyperthyroidism. J Feline Med Surg. 2010;12:117-21.

Recebido em: 24/02/2013

Aceito em: 09/02/2015

O USO DA ENDOSCOPIA DIGESTIVA ALTA EM PEQUENOS ANIMAIS

Luciana Carandina da Silva¹
Vânia Maria de Vasconcelos Machado²

RESUMO

A endoscopia digestiva alta, apesar de ser um exame recente na Medicina Veterinária, já está entre os meios de diagnóstico mais fidedignos para a avaliação do trato gastrointestinal. Sua utilização tem auxiliado clínicos e cirurgiões no tratamento e diagnóstico precoce de doenças antes pouco diagnosticadas. Por ser um método minimamente invasivo, os prognósticos de recuperação do paciente são favoráveis. No presente trabalho, foi realizada uma revisão de literatura sobre as principais indicações do exame, assim como as afecções mais encontradas durante a realização da endoscopia digestiva em cães e gatos.

Palavras-chave: endoscopia, cães, gatos, trato digestório.

THE USE OF UPPER ENDOSCOPY IN SMALL ANIMALS

ABSTRACT

Upper endoscopy, although is a recent survey in Veterinary Medicine, is already among the most reliable diagnostic tools for the evaluation of the gastrointestinal tract. Its use has helped clinicians and surgeons in the treatment and diagnosis of diseases before underdiagnosed. Being a minimally invasive method, predictions of patient recovery are favorable. In this study, a literature review of the main indications of the examination was performed, as well as the conditions most commonly found during the performance of endoscopy in dogs and cats.

Keywords: endoscopy, dogs, cats, digestive tract.

LA ENDOSCOPIA DIGESTIVA EN PEQUEÑOS ANIMALES

RESUMEN

La endoscopia superior, aunque una encuesta reciente en Medicina Veterinaria, está entre las herramientas de diagnóstico más confiables para la evaluación del tracto gastrointestinal. Su uso ha ayudado a los médicos y cirujanos en el tratamiento y diagnóstico de enfermedades antes de infra diagnosticada. Al ser un método mínimamente invasivo, las predicciones de la recuperación del paciente son favorables. En este estudio, se realizó una revisión bibliográfica de las principales indicaciones del examen, así como las condiciones que se encuentran con mayor frecuencia durante la realización de la endoscopia en perros y gatos.

Palabras clave: endoscopia, perros, gatos, tracto digestivo.

¹ Mestranda do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Câmpus de Botucatu. Contato principal para correspondência.

² Professora Assistente Doutor do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Câmpus de Botucatu.

INTRODUÇÃO

A endoscopia é uma técnica de recente aplicação na Medicina Veterinária, que permite uma visualização direta do órgão analisado, com o objetivo de diagnóstico e até mesmo terapêutico de diversas afecções que acometem cães e gatos. O uso da endoscopia digestiva alta, a qual inclui a avaliação de esôfago, estômago e duodeno, tem sido de suma importância na clínica médica e cirúrgica de pequenos animais, auxiliando aos clínicos e cirurgiões a diagnosticar e tratar, de forma minimamente invasiva, as doenças do trato gastrointestinal de cães e gatos. O presente trabalho teve como objetivo abordar a aplicabilidade da endoscopia digestiva alta, bem como seus benefícios e possíveis limitações dentro da Medicina Veterinária, com ênfase em pequenos animais.

REVISÃO DE LITERATURA

O surgimento da endoscopia digestiva alta ocorreu em 1868, onde eram utilizados aparelhos rígidos para a avaliação do trato gastrointestinal, sendo assim, as dificuldades sobrepunham-se aos benefícios do exame, e somente em 1932 foi criado o primeiro gastroscópio flexível, tornando-se assim possível o reconhecimento da endoscopia digestiva como meio diagnóstico (1).

Atualmente, a endoscopia digestiva já é considerada como o melhor e mais utilizado método de avaliação do trato gastrointestinal na Medicina Veterinária (2).

O exame endoscópico possibilita a visualização direta do lúmen de diversas partes do trato gastrointestinal, incluindo esôfago, estômago e duodeno (3). A possibilidade de observação direta, juntamente com a obtenção de amostras teciduais de maneira minimamente invasiva, incrementou o diagnóstico clínico e aumentou a acurácia do tratamento das doenças do sistema digestório (2). Usualmente, a endoscopia é um exame muito seguro e efetivo como diagnóstico e tratamento das doenças gastrointestinais, porém deve ser precedida de um completo histórico do paciente, exame físico e exames laboratoriais apropriados (3).

Considerando-se que os proprietários dos animais estão cada vez mais cientes dos benefícios desta técnica diagnóstica, e os médicos veterinários têm a oportunidade de estabelecer um diagnóstico precoce, a endoscopia digestiva em pequenos animais tende a ter um crescimento importante nos próximos anos (4).

A indicação da endoscopia deve ser considerada sempre a critério do médico veterinário, e está geralmente relacionada a sintomas persistentes (1).

Recomenda-se o uso da endoscopia digestiva alta na investigação de sinais e sintomas inespecíficos como sensibilidade em região epigástrica; êmese crônica, disfagia, melena ou hematêmese, histórico de ingestão de corpos estranhos, pesquisa de *Helicobacter pylori* e emagrecimento (5).

A endoscopia também é indicada como procedimento terapêutico em algumas circunstâncias como: ingestão de produtos corrosivos, controle clínico de doenças ulcerosas e pépticas, ressecção de tumores e em casos de hemorragias digestiva aguda (4). Podem-se indicar endoscopias seriadas com o intuito de avaliar e tratar úlceras, nos acidentes com ingestão de substâncias corrosivas ou retirada de corpos estranhos para avaliar possíveis pontos de formação de estenose, e para a realização de dilatação esofágica ou pilórica quando necessário (2).

A principal vantagem da endoscopia digestiva consiste em ser um exame minimamente invasivo, porém requer anestesia e um preparo adequado para a sua realização (3,2,1). As taxas de morbidade e mortalidade durante este exame são muito baixas (3).

O melhor exemplo do potencial terapêutico da endoscopia é a retirada de corpos estranhos (3). Quase todos os objetos ingeridos podem ser retirados endoscopicamente, sendo que a maior ou menor dificuldade em retirá-los dependerá da forma do corpo estranho (6).

A endoscopia também é muito sensível no diagnóstico de doenças da mucosa do esôfago, estômago e duodeno. Outra vantagem é a possibilidade de obtenção de citologias, material para exames histopatológico, microbiológico e parasitológico (3).

Uma das principais desvantagens do uso desse exame é que ele não é capaz de detectar doenças funcionais do trato gastrointestinal, nem estimar o diâmetro luminal como outras técnicas (7). Somente alterações de mucosa e doenças intraluminais podem ser detectadas (3). O uso da radiografia simples e contrastada pode ser superior para detectar diâmetro luminal e motilidade do trato gastrointestinal (3).

Doenças que primeiramente envolvam a camada submucosa, muscular ou serosa também não são detectadas por endoscopia, visto que as biópsias possuem uma profundidade de aproximadamente 3 milímetros. Portanto, para se realizar uma biópsia mais profunda, é necessária a realização de biópsia sobre biópsia, o que aumenta o risco de perfuração do órgão (3).

Em cães de grande porte, o endoscópio alcança até a porção descendente do duodeno (8). Na maioria dos cães, as porções distal do duodeno e a porção proximal de jejuno são normalmente visibilizadas (2).

O preparo do paciente deve ser realizado adequadamente, respeitando o tempo de jejum prévio de oito a doze horas alimentar e quatro horas hídrico, caso contrário, a realização do exame endoscópico torna-se inviável devido a não visibilização correta da mucosa gástrica (3). A endoscopia não deve ser realizada logo após a realização do exame contrastado com Sulfato de Bário, pois o total esvaziamento gástrico pode levar até 10 horas em alguns pacientes (2).

Em casos de rupturas ou perfurações de um dos órgãos analisados, não é indicado o uso da endoscopia digestiva, pois a insuflação de ar e água que ocorre durante a endoscopia, pode contaminar a cavidade peritoneal (3).

O uso da endoscopia digestiva é muito seguro, porém complicações como a perfuração do trato gastrointestinal podem ocorrer, principalmente durante retirada de corpo estranho (9). O risco de perfuração do trato gastrointestinal também pode ocorrer devido a uma força excessiva realizada pelo operador com o aparelho endoscópico, e também quando são realizadas biópsias muito profundas (3).

Para a realização da endoscopia digestiva alta, o paciente deve se encontrar em decúbito lateral esquerdo (4,1). Neste decúbito os órgãos adjacentes exercem uma menor pressão sobre o estômago, e o duodeno pode ser facilmente acessado (4). Caso o animal esteja posicionado em decúbito lateral direito, a dificuldade de identificar e passar o endoscópio pela incisura angular é maior, assim como identificar o antro pilórico (2).

Inicia-se o exame endoscópico com o posicionamento adequado do paciente e discreta flexão cervical, seguido da introdução do aparelho endoscópico pela cavidade oral em trajeto, sobre a língua até a faringe, onde se alcança o esôfago (1). Deve-se apenas fazer a progressão do aparelho quando o lúmen for visibilizado; para o lúmen ficar visível, é necessário realizar a insuflação do órgão por meio da válvula de ar/água presente no aparelho. Não deve ser realizada pressão sobre o aparelho caso o lúmen não seja visto, evitando assim possíveis perfurações (4).

Examina-se então o esôfago em todo o seu trajeto, sem insuflar demais o órgão, avaliando suas características de coloração de mucosa, calibre, motilidade, com especial atenção ao seu terço distal e transição esofagogástrica, onde se incluem manobras de esforço, para a caracterização de hérnia hiatal ou de refluxo gastroesofágico (1). O esôfago caudal normalmente estará dilatado pela insuflação quando examinado, e o cárdia estará normalmente fechado, porém, quando se abre, a sua mucosa é de coloração rosa acinzentado (10).

Após passar o cárdia, inicia-se a avaliação gástrica, e é necessário um pequeno volume de ar para separar as mucosas do estômago. A primeira porção que se visibiliza ao entrar no

estômago é a curvatura maior e o corpo do estômago (Figura 1A) (10). Com manobras de curva para esquerda e para cima, evidencia-se o lago mucoso e corpo gástrico em uma primeira inspeção; progredindo o aparelho com curva à direita e para cima, alcança-se a região de antro pilórico e orifício pilórico (Figura 1B) (1). Aspectos de distensibilidade das paredes, relevo mucoso e coloração das mucosas devem ser avaliados (1).

Ao menos que o estômago esteja pouco insuflado, o endoscópio acessa facilmente a região de antro pilórico, onde o piloro deverá ser avaliado (10).

Transpassando o orifício pilórico, alcança-se o bulbo duodenal, onde deverá ser avaliada a mucosa e sua morfologia (Figura 1C). Quando possível, progredir o aparelho e avaliar a segunda porção do duodeno (1).

Na retirada do aparelho, nova visibilização do bulbo duodenal e antro pilórico permite que seja realizada a manobra de retrovisão, também chamada de retroflexão (Figura 1D). Esta manobra permite a avaliação do fundo gástrico e cárdia (1)

O cárdia e o fundo podem ser examinados quando o aparelho está em retroflexão. Para a realização desta manobra, o aparelho deve ser rotacionado para cima totalmente, alcançando um ângulo de 180 graus (10).

Deve-se em seguida à avaliação, retificar o aparelho, desinsuflar o estômago, e retirar com cuidado, fazendo uma nova avaliação das mucosas. A realização de biópsias e material para citologia são complementos do exame endoscópico, para adequada caracterização de patologias que tenham sido encontradas (1).

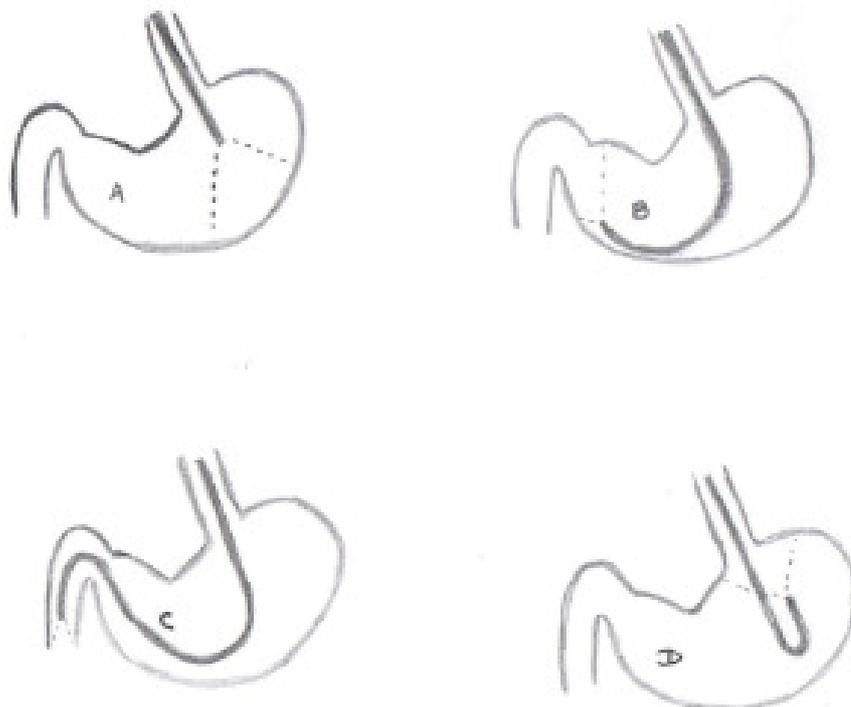


Figura 1. Posicionamento endoscópico. A – Visibilização de corpo gástrico; B – Visibilização de antro pilórico; C- Visibilização de duodeno; D- Retrovisão para avaliação de fundo gástrico e cárdia. Fonte: Arquivo pessoal.

Biópsias realizadas por meio da endoscopia são usualmente muito seguras, e é muito comum sua realização, mesmo que não haja anormalidades presentes e a mucosa esteja íntegra, principalmente quando o paciente apresenta sinais de doenças do trato gastrointestinal (2; 11). O propósito da realização das biópsias é confirmar a natureza da lesão ou elucidar outras doenças que apresentam um aspecto similar na endoscopia. Muitos pacientes com o diagnóstico de gastrite moderada a severa na avaliação histopatológica não apresentam lesões em mucosa gástrica quando vistas pela endoscopia, porém pacientes com alterações de

motilidade podem apresentar enantema de mucosa, e não apresentar alterações no exame histopatológico (12).

A biópsia ocupa lugar de destaque entre os métodos complementares de diagnóstico por oferecer vários dados do material analisado, permitindo a avaliação da extensão das lesões, o estabelecimento do grau de malignidade de lesões neoplásicas, a verificação dos resultados de terapêuticas instituídas, a identificação de agentes etiológicos infecciosos e parasitários, a análise histoquímica do material e outras análises específicas (13).

Para a realização das biópsias, existem diversas pinças com formas e tamanhos diferentes; as pinças são de aço, flexíveis e descartáveis. As colheres das pinças podem ser ovais, solidas, fenestradas, serreadas, denteadas, com ou sem agulha, de vários tamanhos disponíveis (13). Os fragmentos obtidos possuem aproximadamente 2 a 4 milímetros cada, por isso, o número de fragmentos deve ser suficiente para que haja representatividade da lesão para o correto exame histopatológico. Lesões em camadas mais profundas raramente podem ser identificadas com segurança pela biópsia endoscópica (13).

Outra aplicabilidade muito importante da endoscopia é a retirada de corpos estranhos. A procura dos serviços de emergência devido à ingestão ou aspiração de corpos estranhos é muito frequente (6). Existem inúmeras vantagens relacionadas à remoção endoscópica de corpos estranhos em comparação a outros tipos de procedimentos. Geralmente é uma técnica minimamente invasiva e que possibilita uma intervenção rápida (2), porém há alguns corpos estranhos em que a retirada por meio endoscópico não é possível (6).

Para a retirada de um corpo estranho deve-se levar em consideração o tipo de corpo estranho, o local e o tempo de impactação e o formato do corpo estranho, para prever os riscos de perfuração durante sua retirada (14).

É muito frequente a ocorrência de corpos estranhos alojados no esôfago de cães e gatos. Os sinais clínicos relacionados à impactação por corpo estranho geralmente são agudos e incluem anorexia, vômito e anorexia (4). Uma vez localizado o corpo estranho, deve-se tomar a decisão de aguardar sua passagem ou removê-lo endoscopicamente ou cirurgicamente. A intervenção cirúrgica raramente é necessária. A impactação do corpo estranho ou o esforço para sua remoção sempre causará lesão em mucosa (2).

A incidência de complicações provocadas pela retirada endoscópica de corpos estranhos é baixa, e a sua ocorrência está ligada às características dos corpos estranhos, à experiência do endoscopista, à disponibilidade do material adequado e a demora na retirada. Corpos estranhos pontiagudos são as causas mais prováveis de perfuração, enquanto os corpos estranhos rombos, somente provocam complicações se deixados no seu local de impactação por um tempo prolongado (6).

PRINCIPAIS ALTERAÇÕES ESOFÁGICAS

Na avaliação esofágica, o esôfago normal possui coloração rósea em cães e gatos. Há exceções raciais, como por exemplo, o Chow-chow, que tem a mucosa pigmentada naturalmente. O esôfago do gato é discretamente diferente ao do cão, apresentando anéis circulares na mucosa, predominantemente em esôfago distal (4).

As doenças esofagianas mais comuns observadas na rotina clínica são megaesôfago, esofagite, estenoses esofágicas e corpos estranhos. Doenças de hiato, perfurações esofágicas, anomalias vasculares e neoplasias esofagianas podem ocorrer, mas não são comuns em cães e gatos (2).

MEGAESÔFAGO

O megaesôfago é uma síndrome caracterizada por dilatação e hipoperistaltismo generalizados do esôfago, e pode ser congênito ou adquirido. Há uma predisposição racial

para esta patologia, sendo usualmente encontrado em Pastor Alemão, Setter Irlandês, Golden Retriever, Labrador e Schnauzer miniatura (2). Os sinais clínicos mais comumente encontrados são regurgitação e perda de peso (4). Na maioria dos pacientes com megaesôfago, a endoscopia não é necessária para o diagnóstico (2).

ESOFAGITE

As doenças inflamatórias de esôfago ocorrem com maior frequência do que são reconhecidas (2). As alterações inflamatórias podem variar de discreta (não evidente macroscopicamente), a ulceração grave com envolvimento transmural (2). Toda doença que cause vômito frequente pode causar esofagite. As principais causas de esofagite são refluxo gastroesofágico, corpo estranho, retenção de comida (comum em megaesôfago), vômitos recorrentes, lesão cáustica, agentes infecciosos como a cândida, e lesão térmica (Figura 2) (4).

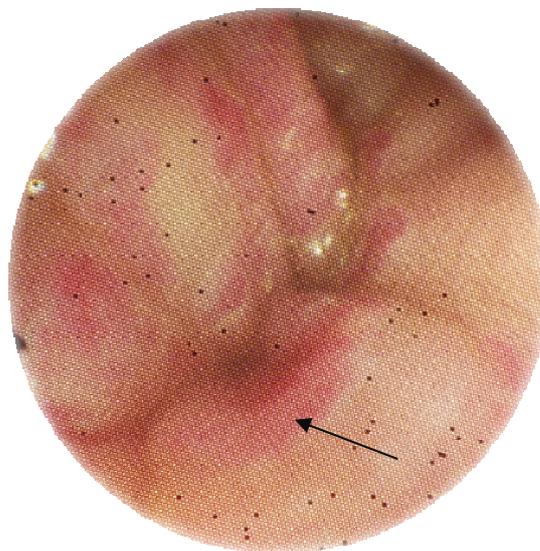


Figura 2. Aparência endoscópica da esofagite. Mucosa enantemática, friável, com discreta irregularidade e erosões (seta), decorrente de ingestão de substância corrosiva. Fonte: Arquivo pessoal.

ESTENOSE ESOFÁGICA

A estenose esofágica pode ocorrer devido a refluxo gastroesofágico, corpos estranhos, trauma, neoplasias, após cirurgias esofágicas, após ingestão de substâncias corrosivas ou devido a uma severa esofagite (4). Os sinais clínicos mais comuns são regurgitação e o apetite voraz (2). O diagnóstico pode ser realizado por endoscopia ou exames radiográficos contrastados (2).

PRINCIPAIS ALTERAÇÕES GÁSTRICAS

A gastroscopia é o método diagnóstico de maior valia para avaliar distúrbios gástricos e de mucosa gástrica. É uma técnica muito superior ao exame radiográfico por possibilitar a realização de biópsias, e promover o tratamento de muitas patologias gástricas de forma rápida e eficiente (2). Os achados mais comuns durante a gastroscopia são as gastrites, as erosões e ulcerações, a presença de corpos estranhos, neoplasias e estenose pilórica (2).

GASTRITE

A gastrite pode ser aguda ou crônica (Figura 3). A aguda ocorre comumente em cães e gatos e existem diversos fatores que podem levar a erosões ou ulcerações gástricas, como o uso de antiinflamatório não esteroidal, a ingestão de substâncias corrosivas ou corpos estranhos e a hipotensão por choque ou sepse (2,4). A gastrite crônica provém de infecções bacterianas, parasitárias ou fúngicas. Em especial, a infecção pela bactéria *Helicobacter pylori* tem se demonstrado causa importante de gastrite crônica em cães e gatos (2,4). A mucosa pode apresentar-se irregular, friável e enantemática; dependendo do grau de severidade, podemos encontrar presença de úlceras recobertas por fibrina e hematina, erosões e até focos de hemorragia em diversas regiões do estômago (2).

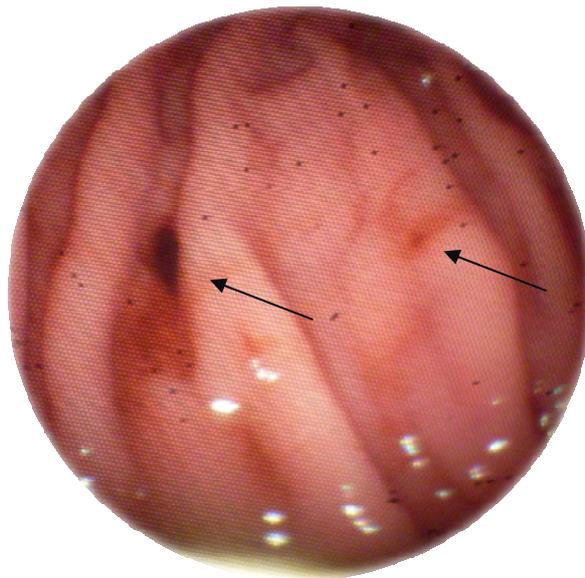


Figura 3. Aparência endoscópica da gastrite erosiva. Setas evidenciando erosões. Mucosa apresentando-se enantemática. Fonte: Arquivo pessoal.

EROSÕES GÁSTRICAS

As erosões (Figura 3) podem ser encontradas em qualquer parte do estômago, podendo ser únicas ou múltiplas. As erosões são uma lesão da mucosa gástrica, que não se estende para a porção submucosa ou muscular (2). As causas das erosões são diversas, entre elas estresse, trauma por corpo estranho ou vômitos crônicos, ingestão de substâncias corrosivas, ingestão de medicamentos, isquemia e erosões crônicas idiopáticas (1). Tipicamente são planas ou apresentam uma depressão mínima e focal. A base pode ser avermelhada, amarelada ou preta (2).

ÚLCERAS GÁSTRICAS

Diferentemente das erosões, as úlceras gástricas apresentam um comprometimento da porção muscular do estômago (2). As úlceras estão principalmente relacionadas ao uso de antiinflamatórios e a infecção por *Helicobacter pylori* (15). As úlceras aparecem como soluções de continuidade da mucosa gastrointestinal, estendendo-se pela camada mucosa, atingindo a camada muscular. Na maioria das vezes são únicas. É importante fazer a diferenciação de lesões neoplásicas ulceradas por biópsia. Usualmente apresentam bordos lisos, regulares e bem delimitados, com elevação em relação à base. A maioria das úlceras se localiza na curvatura menor do estômago, na incisura angular (15). Podem estar apresentando um sangramento ativo durante o exame (4).

PÓLIPOS E NEOPLASIAS

Os pólipos gástricos normalmente são achados de exame. Em raros casos, pode ocasionar obstrução pilórica quando são encontrados no antro e apresentam grandes dimensões (2). São pouco diagnosticados em cães e gatos, mas devem ser biopsiados sempre que encontrados, para a confirmação histológica de sua natureza (2). As neoplasias gástricas (Figura 4) podem causar obstrução da eliminação gástrica, impedimento do peristaltismo normal decorrente da infiltração neoplásica à parede gástrica, ulcerações e inflamação da mucosa gástrica. Há sinais clínicos como vômito, perda de peso e anorexia. Quase todas as neoplasias gástricas são primárias (16), sendo que a neoplasia mais comum gástrica é o adenocarcinoma (2). Os pólipos aparecem como uma protuberância séssil ou pedunculada, que não desaparece com o máximo de insuflação; já as neoplasias malignas podem aparecer em forma de placa rasa, ou como lesões polipóides que se projetam para dentro do lúmen gástrico, podendo também ser massas infiltrativas que invadem inclusive a parede gástrica (2).

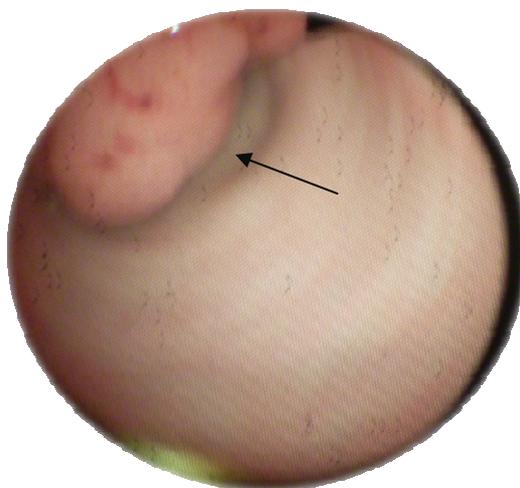


Figura 4- Neoplasia em antro pilórico de cão (seta). Fonte: Arquivo pessoal.

ESTENOSE PILÓRICA

A estenose pilórica, também conhecida como síndrome hipertrófica antral pilórica ou gastropatia pilórica hipertrófica crônica, pode ser congênita ou adquirida. Causas comuns são neoplasias pilóricas, gastrite hipertrófica crônica e gastrite urêmica (2). Há um retardo no esvaziamento gástrico, dilatação gástrica e quadros eméticos recorrentes. Os exames laboratoriais são normais (16). A endoscopia de um paciente com estenose pilórica revela uma mucosa pilórica espessada, geralmente com presença de erosões. Muitas vezes não é possível o acesso ao duodeno (2).

PRINCIPAIS ALTERAÇÕES DUODENAIS

O duodeno é de difícil acesso, principalmente em animais pequenos. O cuidado ao avançar o aparelho endoscópico é fundamental. A perfuração duodenal pode ocorrer principalmente em áreas fragilizadas. Os principais sinais de alteração duodenal consistem em vômito, diarreia, melena e perda do apetite (2).

O achado mais comum em duodeno são as doenças inflamatórias. A duodenoscopia também é utilizada nos casos de suspeita de linfangectasia; lesões macroscópicas podem ser encontradas, tais como a presença de focos brancos granulares multifocais na mucosa e a presença de fluido linfático mucoide acumulado em lúmen intestinal. Para um diagnóstico definitivo de linfangectasia, biópsias são necessárias (2).

DOENÇAS INFLAMATÓRIAS

As doenças inflamatórias intestinais são muito comuns em cães e gatos. Somente o diagnóstico histopatológico pode concluir o caso. A mucosa intestinal pode apresentar-se normal durante o exame endoscópico, e ainda assim, apresentar um processo inflamatório no histopatológico (2). A mucosa pode apresentar-se normal, ou com irregularidades. A presença de enantema também é um achado usual. Podem-se encontrar erosões e úlceras em porção bulboduodenal (2).

NEOPLASIAS / LINFOMA

As neoplasias intestinais são menos comuns que os processos inflamatórios. O linfossarcoma e o adenocarcinoma são os tumores mais frequentemente encontrados em cães. O linfoma também é comumente encontrado, principalmente em felinos, sendo que o linfoma generalizado é o que apresenta maior facilidade de diagnóstico por exame endoscópico (2). A identificação endoscópica das neoplasias (Figura 5) está diretamente relacionada com a área intestinal afetada e se a mucosa também está alterada. Pode-se encontrar irregularidade de mucosa e mudança focal de sua coloração de rosa para branco. Focos hemorrágicos são comuns. A visibilização de massas também é usual (2).

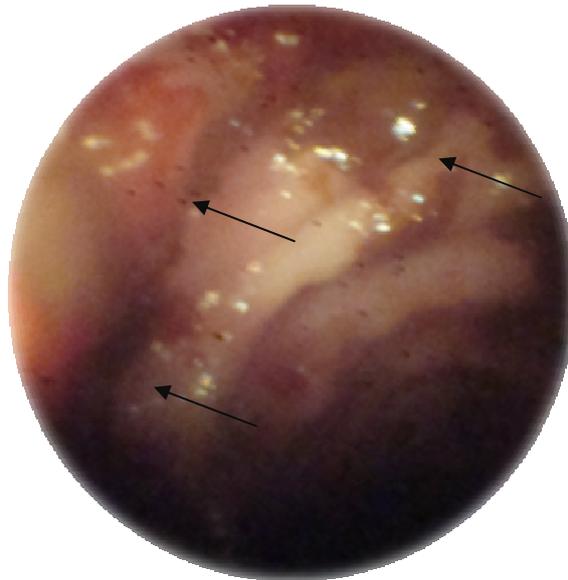


Figura 5. Neoplasia intestinal em um cão. Setas evidenciam lesão vegetativa, com alteração da coloração da mucosa e focos hemorrágicos. Fonte: Arquivo pessoal.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que o uso da endoscopia digestiva alta na Medicina Veterinária tem se tornado de grande aplicabilidade. Diversos casos que previamente seriam encaminhados para cirurgia com o intuito de realização de biópsias ou retirada de corpos estranhos e pequenas neoplasias, são solucionados com o uso da endoscopia, tendo o paciente uma melhor e mais rápida recuperação.

A endoscopia ainda possibilita o diagnóstico de diversas patologias, antes pouco diagnosticadas, também proporcionando aos pacientes um tratamento mais específico para cada enfermidade.

REFERÊNCIAS

1. Foigel EK, André EA, de Marco EK. Esofagogastroduodenoscopia. In: Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva. Endoscopia digestiva alta. 3a ed. Rio de Janeiro: Medsi; 2000.
2. Tams TR, Clarence AR. Small Animal Endoscopy. 3rd ed. St. Louis: Elsevier; 2011.
3. Moore LE, Dacvim-Saim DVM. The advantages and disadvantages of endoscopy. Clin Tech Small Anim Pract. 2003;18: 250-3.
4. Sum S, Ward CR. Flexible endoscopy in small animals. Vet Clin North Am Small Anim. 2009; 39: 881-902.
5. Costa Junior AB. Endoscopia Digestiva de Urgência. Santos: Santos; 2009.
6. Ribeiro KT. Corpo Estranho. In: Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva. Endoscopia digestiva alta. 3a ed. Rio de Janeiro: Medsi; 2000.p. 104- 117.
7. Guilford WG. Gastrointestinal endoscopy. In: Guilford WG, Center SA, Strombeck DR, Williams DA, Meyer DJ. Strombeck's Small Animal Gastroenterology. 3rd ed. Philadelphia: Saunders; 1996.
8. 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; 1995.
9. Schunk CM. Remoção de corpos estranhos esofágicos. In: Bojrab MJ. Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais. 3a ed. São Paulo : Roca; 1996.
10. Brearley MJ, Cooper JE, Sullivan M. Color Atlas of Small Animal Endoscopy. St. Louis: Mosby-Year Book; 1991
11. Mansell WJ, Mansell J, Fosgate GT, Gualtieri M, Olivero D, Lecoindre P, et al. Effect of sample quality on the sensitivity of endoscopic biopsy for detecting gastric and duodenal lesions in dogs and cats. J Vet Intern Med. 2008; 22:1084-9
12. Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. Tratado de anatomia veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1990.
13. Ohana WO, Almeida AC. Esofagogastroduodenoscopia. In: Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva. Endoscopia digestiva alta. 3a ed. Rio de Janeiro: Medsi; 2000.p. 38- 39.
14. Souza FO, Aita JF, Schmidt MK. Ingestão de corpo estranho. Rev Col Bras Cir. 1999; 26: 246-8.

15. Eisig JN, Silva AP, Zaterka S. Úlcera Péptica. In: Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva. Endoscopia digestiva alta. 3a ed. Rio de Janeiro: Medsi; 2000.
16. Ettinger SJ, Feldman C. Afecções do estômago. In: Tratado de Medicina Interna Veterinária: doenças do cão e do gato. 5a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.

Recebido em: 26/02/2013

Aceito em: 11/02/2015

ENDOFTALMITE BACTERIANA SEVERA BILATERAL EM CÃO APÓS FACECTOMIA INTRACAPSULAR - RELATO DE CASO

Cristiane de Abreu Estanislau¹
Vivian Lima de Souza¹
Cláudia Valéria Seullner Brandão²
Natalie Bertelis Merlini¹
Natália Rodrigues Rodas¹
Joice Furtado Fonzar¹
Cintia Sesso Perches¹
José Joaquim Tilton Ranzani³

RESUMO

A Endoftalmite é um processo inflamatório grave que acomete o interior do bulbo ocular, podendo levar à cegueira e até mesmo à enucleação. Vários micro-organismos estão envolvidos na sua etiopatogenia, tais como bactérias, vírus, protozoários e outros. Estes podem ser inoculados no olho após cirurgias oftálmicas, traumas não cirúrgicos ou mesmo por via hematogênica decorrente de uma infecção sistêmica. O objetivo deste trabalho foi relatar um caso de endoftalmite bacteriana bilateral em um cão, apresentando hipópio severo, secreção purulenta e úlcera em *melting*. O diagnóstico microbiológico foi realizado por meio da cultura e antibiograma após enucleação bilateral.

Palavras-chave: *E. coli*, resistência bacteriana, luxação anterior do cristalino.

BILATERAL BACTERIAL ENDOPHTHALMITIS IN DOG AFTER INTRACAPSULAR SURGERY - CASE REPORT

ABSTRACT

Endophthalmitis is a severe inflammatory process that affects the eye, which can lead to blindness and even enucleation. Several microorganisms are involved in their pathogenesis, such as bacteria, viruses, protozoa and others. It can be inoculated in the eye postoperative following intraocular surgery, nonsurgical trauma or by hematogenous dissemination due to a systemic infection. The aim of this study was to report a case of bilateral bacterial endophthalmitis in a dog, with hypopyon, severe purulent secretion and melting ulcer. The microbiological diagnosis was made by culture and antibiogram after bilateral enucleation.

Keywords: *E. coli*, bacterial resistance, anterior lens luxation.

ENDOFTALMITIS BACTERIANA GRAVE BILATERAL EN PERRO TRAS FAQUECTOMÍA INTRACAPSULAR – RELATO DO CASO

RESUMEN

Endoftalmitis es un proceso inflamatorio grave que afecta el interior del globo ocular, lo que puede conducir a la ceguera y incluso la enucleación. Varios microorganismos están

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho. Correspondência

² Professora Adjunta da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"

³ Professor da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"

implicados en su patogénesis, tales como bacterias, virus, protozoos y similares. Estos pueden ser inoculados en el ojo después de la cirugía intraocular, del trauma quirúrgico o por vía hematogénea debido a una infección sistémica. El objetivo de este trabajo es presentar un caso de endoftalmite bacteriana bilateral en un perro, con hipopión severo, secreción purulenta y úlcera en melting. El diagnóstico microbiológico fue hecho por cultivo y antibiograma después de la enucleación bilateral.

Palabras clave: *E. coli*, resistencia bacteriana, luxación anterior del cristalino.

INTRODUÇÃO

Endoftalmite bacteriana é uma inflamação intraocular decorrente da introdução de um agente bacteriano no segmento posterior do bulbo ocular. É uma condição rara, mas potencialmente destrutiva para o olho, e gera lesão irreversível à delicada camada de células fotorreceptoras da retina; mesmo com intervenção terapêutica e cirúrgica, frequentemente resulta em perda parcial ou completa da visão após poucos dias de evolução (1). Constitui uma das complicações mais graves e de pior resultado funcional entre as afecções oftalmológicas (2), além de ser a complicação mais grave da cirurgia de catarata (1).

É classificada quanto à via de infecção em endógena ou exógena. A endoftalmite exógena ocorre como uma complicação após cirurgia intraocular, traumatismo ocular penetrante, úlcera corneal ou secundárias a infecção periocular que rompe a barreira ocular externa permitindo o acesso de agentes infecciosos aos espaços intraoculares (3). Comumente, a forma exógena é subsequente à cirurgia de catarata e, na grande maioria dos casos, é causada por micro-organismos provenientes da microbiota ocular que acometem o olho após o procedimento cirúrgico (4). Qualquer micro-organismo pode ser potencial causador de endoftalmite; dentre os agentes etiológicos incluem-se bactérias, fungos, vírus e protozoários (3). Na endoftalmite pós-operatória aguda, os principais micro-organismos causadores são *Staphylococcus coagulase-negativos*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* grupo *viridans* e, em menor proporção, outros cocos gram-positivos e bacilos gram-negativos. Na endoftalmite pós-operatória tardia, os patógenos envolvidos são de baixa virulência, como *Propionibacterium acnes*, algumas espécies de *Streptococcus sp* e fungos (5). A endoftalmite endógena, também chamada de metastática, corresponde de 2 a 6% dos casos de endoftalmite (1); nesta, os principais agentes causadores são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Clostridium perfringens*, *Moraxella spp*, *Neisseria meningitidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp* (3).

O tratamento eficaz inclui identificação correta e precoce do agente etiológico por meio da cultura do humor vítreo e/ou aquoso para uma pronta instituição da antibioticoterapia (2). Desta forma, a escolha do agente antimicrobiano é feita inicialmente de forma empírica, mas deve possuir atividade contra os patógenos mais relevantes e amplo espectro de ação (6).

Ressalta-se que na oftalmologia veterinária, poucos relatos são descritos apresentando endoftalmia pós cirurgias intraoculares, em detrimento ao observado na medicina humana. Assim, este trabalho tem por objetivo relatar um caso de endoftalmite bacteriana bilateral, pós facectomia intracapsular, em um cão, apresentando hipópion severo, secreção purulenta e úlcera em *melting*.

RELATO DE CASO

Relata-se o caso de um Cocker americano, macho, pesando 13,2 Kg e 14 anos de idade, o qual foi encaminhado ao Serviço de Oftalmologia, apresentando hipópion severo nos dois bulbos oculares, com intensa hiperemia, blefaroespasma, secreção purulenta no olho direito

(Figura 1), bem como hipópio moderados e úlcera em *melting* no bulbo ocular esquerdo (Figura 2). O proprietário relatou que há 15 dias, o cão tinha sido submetido à cirurgia de facectomia intracapsular bilateral por outro veterinário devido à luxação anterior e subluxação da lente, respectivamente nos bulbos direito e esquerdo. No pós-operatório foram utilizados, bilateralmente, colírios de Moxifloxacina (cinco vezes ao dia), Timolol (duas vezes ao dia), Acetato de Prednisolona (quatro vezes ao dia), Brimonidina (duas vezes ao dia) e Pilocarpina (uma vez ao dia). Após nove dias de pós-operatório, o animal começou apresentar hipópio no bulbo ocular direito sendo então acrescentado Gatifloxacina.



Figura 1. Olho direito do animal. Observa-se hiperemia, secreção purulenta e hipópio moderado.



Figura 2. Olho esquerdo do animal. Observa-se intensa hiperemia conjuntival, acentuada secreção purulenta e hipópio e úlcera em *melting*.

Neste Serviço de Oftalmologia foi instituída terapia com ceftriaxona sistêmica (30mg/kg/BID) e Tobramicina tópica a cada 2 horas durante 24 horas, porém, devido ao agravamento do quadro oftalmológico e clínico do cão e riscos a sua vida, foi realizada a enucleação bilateral. Imediatamente após o procedimento, foram realizadas secções sagitais

dos bulbos oculares, confirmando-se a presença de endoftalmite com hipópio em ambos, quando foram coletadas amostras para cultura e antibiograma. O tratamento pós-cirúrgico instituído foi Ceftriaxona (30mg/kg/BID), Meloxicam (0,1mg/kg/SID), pomada oftálmica de Cloranfenicol (TID).

Após três dias do pós-operatório, mesmo considerando ter sido dotado os critérios de assepsia e antissepsia, o animal retornou apresentando abscesso bilateral e celulite periorbitária, havendo a necessidade de soltura de alguns pontos para drenagem da secreção e realizar tratamento com lavagem tópica. O resultado da cultura e antibiograma revelou *Escherichia coli*, resistente aos antibióticos: amoxicilina + ácido clavulônico, ampicilina, cefalexina, ceftazidima, cefotaxime, ceftiofur, ciprofloxacina, clindamicina, cloranfenicol, enrofloxacin, eritromicina, gentamicina, lincomicina, nitrofurantoína, norfloxacina, penicilina G, polimixina B, rifampicina, teicoplanina, tobramicina e vancomicina, sendo sensível apenas a imipenem e a amicacina. Nesse momento foi administrado o Imipenem (7mg/kg/TID/SC), e após 3 dias da instituição do protocolo terapêutico, o animal apresentou melhora do quadro e diminuição evidente da secreção purulenta. Verificou-se reparação completa da ferida cirúrgica e alta médica após 21 dias de antibioticoterapia.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os principais fatores desencadeantes de endoftalmite em pacientes humanos são traumas e cirurgias oculares, representando igualmente 39,45% (2), enquanto Bohigian et al. (7) descrevem predominância de casos pós-cirúrgicos, entre 60 a 66%; portanto as cirurgias oculares, de acordo com a literatura, apresentam uma alta prevalência para o desenvolvimento da endoftalmite corroborando assim o presente relato.

Os sinais clínicos oftalmológicos encontrados neste relato estão de acordo aos encontrados na literatura médica, sendo eles: hiperemia conjuntival (81,03%), hipópio (56,89%), edema de córnea (57,17%), secreção conjuntival (39,45%), quemose conjuntival (56%) e edema palpebral (31,03%), diminuição da acuidade visual (96%) (2, 8), além de febre (2%) e dor (84%) (8).

Em um estudo retrospectivo, Bispo et al. (6) destacaram a importância da identificação correta do agente etiológico por cultura, bem como da instituição da pronta antibioticoterapia; nesse mesmo estudo observaram que os micro-organismos gram-positivos foram isolados em maior frequência, seguidos dos gram-negativos. Ng et al. (9) também relataram que a frequência de micro-organismos gram-positivos foi maior que a dos gram-negativos, 63,8% - 86,3% e 11,8% - 31,4%, respectivamente; no entanto, Chee e Jap (10) descreveram maior virulência dos gram-negativos, especialmente *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, sendo estes os de pior prognóstico.

O envolvimento bilateral ocorre em 12 a 25% dos casos e está associado com certos micro-organismos, como *E. coli* e *Klebsiella spp* (1); o mesmo foi observado neste relato, pois trata-se de uma endoftalmite bilateral secundária à *E.coli*.

O exame microbiológico é fundamental na identificação e auxílio do tratamento frente ao micro-organismo responsável (3) e a cultura das amostras oculares proporciona um resultado positivo em 36 a 73% dos casos (11).

Bispo et al. (6) observaram que todos os micro-organismos gram-positivos isolados foram sensíveis à vancomicina, e ainda obtiveram 100% de sensibilidade à ciprofloxacina e levofloxacina em micro-organismos Gram-negativos, com exceção de *P. aeruginosa*. Dados semelhantes foram encontrados na literatura médica que também descrevem 100% de sensibilidade à vancomicina dos micro-organismos gram-positivos isolados de endoftalmite (2, 9). Guerra et al. (8) avaliaram 45 casos de endoftalmite pós cirurgia de catarata, e obtiveram no antibiograma uma resistência à ampicilina, cefoxitina e cefalotina, e

sensibilidade à amicacina, gentamicina, imipenem, sulfa-trimetoprim. Em nosso relato notou-se no antibiograma resistência a grande maioria dos antimicrobianos testados, sendo sensível apenas para dois tipos deles (Imipenem e Amicacina).

A instituição de terapia correta inicial é essencial para aumentar as chances de salvar o olho, e foi o que Guerra et al. (8) relataram em seu estudo, em que os pacientes humanos com endoftalmite submetidos a tratamento, obtiveram sua acuidade visual preservada, não tendo sido realizada nenhuma evisceração ou enucleação, o que infelizmente não foi possível neste caso, frente a virulência do patógeno envolvido.

CONCLUSÃO

A enucleação bilateral e posterior associação com o antibiótico adequado foram ações radicais primordiais para a qualidade e preservação de vida do animal. Neste relato, reforça-se a necessidade de atenção total a todos os critérios de assepsia e antisepsia em cirurgia intra-ocular, bem como detecção precoce dos sinais de endoftalmite no pós cirúrgico.

Destaca-se, adicionalmente a alta patogenicidade da *E. coli* que induziu a endoftalmite severa, levando o animal à cegueira e celulite intra-orbitária bilateral, bem como a importância da cultura e antibiograma para a administração do antimicrobiano correto, a fim de se controlar e eliminar o processo patogênico e preservar a vida do animal.

REFERÊNCIAS

1. Jackson TL, Eykyn SJ, Graham EM, Stanford MR. Endogenous bacterial endophthalmitis: a 17-year prospective series and review of 267 reported cases. *Surv Ophthalmol.* 2003;48:403-23.
2. Schirimbek T, Romão E, Rodrigues MLV, Figueiredo JFC. Endoftalmite – uma análise de 58 casos. *Arq Bras Oftalmol.* 2000;63:39-44.
3. Valle L, Camba M, Fernández F, Paz J, Sanjurjo A, Aguado JF. Endoftalmite Bacteriana Endógena. *Acta Med Port.* 2010;23:1127-32.
4. Han DP, Wisniewski SR, Wilson LA, Barza M, Vine AK, Doft BH, et al. Spectrum and susceptibilities of microbiologic isolates in the Endophthalmitis Vitrectomy Study. *Am J Ophthalmol.* 1996;122:1-17.
5. Read, R.W. Endophthalmitis. In: Yanoff M, Duker JS, editors. *Ophthalmology.* 3ªed. St Louis: Mosby; 2011. p.1552.
6. Bispo P J M, Melo GB, d'Azevedo PA, Höfling-Lima AL, Yu MCZ, Pignatari ACC. Endoftalmite bacterianas com culturas positivas: uma revisão de 6 anos. *Arq Bras Oftalmol.* 2008;71:617-22.
7. Bohigian GM, Olk RJ. Factors associated with a poor visual result in endophthalmitis. *Am J Ophthalmol.* 1986;101:332-41.
8. Guerra RLL, Freitas BP, Parcero CMFM, Maia Júnior OO, Marback RL. An outbreak of forty five cases of *Pseudomonas aeruginosa* acute endophthalmitis after phacoemulsification. *Arq Bras Oftalmol.* 2012;75:344-47.

9. NG JQ, Morlet N, Pearman JW, Constable IJ, McAllister IL, Kennedy CJ, et al. Management and outcomes of postoperative endophthalmitis since the endophthalmitis vitrectomy study: the Endophthalmitis Population Study of Western Australia (EPSWA)'s fifth report. *Ophthalmol.* 2005;112:1199-206.
10. CHEE SP, JAP A. Endogenous endophthalmitis. *Curr Opin Ophthalmol.* 2001;12:464-70.
11. Wong JS, Chan TK, Lee HM, Chee SP. Endogenous bacterial endophthalmitis: an east Asian experience and a reappraisal of a severe ocular affliction. *Ophthalmol.* 2000;107:1483-91.

Recebido em: 07/01/2014

Aceito em: 15/10/2014

ACTINOBACILOSE EM BOVINO SECUNDÁRIA A DESCORNA COSMÉTICA: RELATO DE CASO

Armando de Mattos Carvalho¹
Hugo Shisei Toma²
Tairine Aimara Artmann³
Kledir Anderson Hofstaetter Spohr⁴
Jeandra Carla Mattos do Nascimento Pinheiro⁵
Lazaro Manoel de Camargo¹

RESUMO

A actinobacilose bovina ou “língua de pau” é uma enfermidade esporádica que resulta na glossite granulomatosa dos animais acometidos. A enfermidade comumente é secundária a traumas da cavidade oral pela ingestão de alimentos grosseiros, embora também há relatos de actinobacilose atípica após a realização de procedimentos cirúrgicos. Relata-se a doença em uma novilha da raça girolanda, 15 meses de idade, apresentando sialorréia, protrusão e edema da língua após 20 dias de submetida ao procedimento de descorna cosmética. O diagnóstico foi baseado no histórico clínico e nos achados de cultura bacteriana com isolamento de *Actinobacillus lignieresii*. O animal foi submetido ao tratamento com antimicrobiano de amplo espectro, além de lavagem bucal com solução antisséptica até completa resolução do quadro clínico.

Palavras-chave: novilha, descorna, *Actinobacillus lignieresii*, “língua de pau”.

BOVINE ACTINOBACILLOSIS SECONDARY TO COSMETIC DEHORNING: CASE REPORT

ABSTRACT

The bovine actinobacillosis or "wooden tongue" is a sporadic disease that results in granulomatous glossitis of affected animals. The disease is commonly secondary to trauma of the oral cavity by the ingestion of stemmy forage. However there are also reports of atypical actinobacillosis after surgical procedures. It is reported a heifer of Girolanda breed, 15 months old, presenting drooling, tongue protrusion, tongue edema after undergoing the dehorning procedure. The diagnosis was based on clinical history and on bacterial culture for *Actinobacillus lignieresii*. The animal was subjected to therapy with broad-spectrum antibiotic plus mouthwash with antiseptic solution until complete resolution of the clinical status.

Keywords: heifer, dehorning, *Actinobacillus lignieresii*, “wooden tongue”.

¹ Professor e Pesquisador pela Universidade de Cuiabá. Programa de pós-graduação em Biociência Animal. Contato principal para correspondência

² Professor de Clínica de Grandes Animais Universidade de Cuiabá (UNIC).

³ Residente de Clínica e Cirurgia de Grandes Animais Universidade de Cuiabá (UNIC).

⁴ Professor de Doenças Infecciosas da Universidade de Cuiabá UNIC.

⁵ Mestranda do Programa de Mestrado em Biociência Animal Universidade de Cuiabá (UNIC).

ACTINOBACILOSIS BOVINA SECUNDARIA DESCUERNE ESTÉTICO: RELATO DEL CASO

RESUMEN

Actinobacilosis bovina o "lengua de madera" es una enfermedad esporádica que se traduce en glositis granulomatosa de los animales afectados. La enfermedad es comúnmente secundaria a trauma de la cavidad oral por la ingestión de forraje, sin embargo también hay informes de atípica actinobacilosis después de procedimientos quirúrgicos. Se informa de una novilla de raza girolanda, 15 meses de edad, con sialorrea, protuberancia y edema de lengua, edema después de 20 días de haber sido sometido al procedimiento de descuerne cosmética. El diagnóstico se basa en la historia clínica y los hallazgos en el cultivo bacteriano como *Actinobacillus lignieresii*. El animal se sometió a terapia con antibióticos de amplio espectro más enjuague bucal con solución antiséptica hasta la resolución completa del cuadro clínico.

Palabras clave: vaquilla, descornado, *Actinobacillus lignieresii*, "lengua de madera".

INTRODUÇÃO

A actinobacilose é uma enfermidade infecciosa, não contagiosa, caracterizada pela reação inflamatória piogranulomatosa que acomete bovinos e menos comumente ovinos, suínos e equinos (1). Há relato da infecção humana por *Actinobacillus lignieresii* após mordedura por cavalo, evidenciando possível implicação zoonótica da bactéria (2). A actinobacilose bovina é uma doença de distribuição mundial que se apresenta de forma esporádica afetando principalmente os tecidos moles e a cadeia linfática da cabeça. Em bovinos, afeta principalmente a língua, mas pode atingir outros órgãos como rúmen, retículo e menos frequentemente o fígado e músculos esqueléticos (3).

O agente etiológico da actinobacilose em bovinos é *Actinobacillus lignieresii*, bactéria gram negativa aeróbia que habita a cavidade bucal e o rúmen destes animais. O quadro clínico clássico da actinobacilose bovina é caracterizado pela glossite granulomatosa. Inicialmente há inchaço da língua com consistência firme, sensível e dolorosa a manipulação, sialorréia e ocasionalmente, protrusão da língua. A sintomatologia clássica desta enfermidade também é denominada "língua de pau" (4, 5). Embora esta evolução clínica seja a mais frequente, também há descrição de lesões cutâneas, linfadenites e rinites (5-8).

O principal fator de risco associado à manifestação clínica típica da doença é a ingestão de alimentos grosseiros, duros e fibrosos. Entretanto, também há relato de manifestações atípicas relacionadas a lacerações, injeções intravenosas, linfadenite disseminada, além de procedimentos cirúrgicos como implante de argola nasal e descorna cosmética. O diagnóstico de rotina é baseado nos achados clínicos, e na avaliação histopatológica da lesão. Entretanto, para a confirmação, é necessário o isolamento e identificação de *Actinobacillus lignieresii* (9).

O tratamento da actinobacilose com iodeto de sódio e iodeto de potássio foi descrito como eficaz. Entretanto, há indícios que estes fármacos apresentam pouco efeito bactericida sobre *Actinobacillus lignieresii*, sugerindo mecanismo de ação ainda desconhecido destes fármacos no combate à infecção. Também há relatos da sensibilidade da bactéria aos antimicrobianos ceftiofur, ampicilina, penicilina, florfenicol, sulfas, aminoglicosídeos e tetraciclina (10).

Relata-se caso clínico de actinobacilose em bovino após procedimento de descorna cosmético, enfatizando o diagnóstico e tratamento instituído.

RELATO DE CASO

Foi encaminhado para o Hospital Veterinário da Universidade de Cuiabá – UNIC, MT, bovino da raça girolanda, fêmea, 210 kg de peso, e 15 meses de idade com queixa principal de hiporexia, sialorréia excessiva e exposição da língua. Há histórico de realização de descorna cosmética no animal na propriedade localizada no município de Cuiabá, MT, três semanas antes do início da manifestação clínica da doença.

Durante a visita a propriedade, foram realizadas descornas cosméticas em quatro bovinos saudáveis e todos foram tratados com três aplicações de penicilina benzatina (20.000 U.I./Kg), intramuscular, em dias alternados. Foi realizada também uma aplicação de flunixin meglumine (2,2 mg/Kg), por via intramuscular, e soro antitetânico (5.000 U.I.) via subcutânea. Além disso, foi realizado curativo diário das feridas cirúrgicas com polivinilpirrolidona-iodo tópico seguido de uso tópico de unguento como repelente. Após doze dias da intervenção cirúrgica foi realizada a remoção dos fios de sutura e não foi notada inflamação ou infecção em nenhum dos animais.

Decorridas três semanas da intervenção cirúrgica, o proprietário relatou que um dos animais submetidos à cirurgia apresentou hiporexia, sialorréia, inquietação, disfagia, e protrusão de língua. Após o início da manifestação clínica, foi administrado no animal penicilina benzatina e antitóxico (Mercepton®, Laboratório Bravet LTDA). Todos os fármacos administrados em dose única. Como não houve melhora clínica, o animal foi encaminhado para o hospital veterinário.

Na anamnese constatou-se que o animal era mantido em piquete com *Brachiaria decumbens*, e alimentado diariamente com cana-de-açúcar picada manualmente e ração farelada produzida na propriedade. No exame físico o animal apresentou sialorréia excessiva, edema na região da glote, descamação de toda mucosa oral (língua, palato e gengiva) e protrusão da língua (Figura 1), além de aumento de volume dos linfonodos submandibulares.



Figura 1. Lesões ulcerativas na base da língua em bovino causadas por *Actinobacillus lignieresii*. Cuiabá, MT, 2014.

Após minucioso exame físico do animal, foi realizado hemograma completo e cultura seguida de antibiograma do material coletado por suabe estéril das lesões ulcerativas encontradas na base da língua.

No hemograma, foi detectado leucocitose com aumento de segmentados. A cultura fúngica não revelou isolamento de nenhum micro-organismo. O cultivo microbiológico foi realizado em ágar sangue ovino 5% e ágar MacConckey, por 24-72 horas, em condições de aerobiose. As colônias isoladas foram identificadas por testes bioquímicos convencionais e coloração de Gram que permitiu a caracterização de *Actinobacillus lignieresii* na cultura

bacteriana (11). O teste de sensibilidade “in vitro” realizado com base no método de difusão com discos padronizado pelo Clinical Laboratory Standards Institute-CLSI (CLSI, 2010) (12), mostrou que o isolado foi sensível a enrofloxacin (5 mcg), amoxicilina (10 mcg) e cefalexina (30 mcg), e sensibilidade intermediária a gentamicina (10 mcg) e clindamicina (2 mcg). O isolado foi resistente a metronidazol (50 mcg), penicilina (10 UI), sulfametazol+trimetoprim (23,75/1,25 mcg) e ciprofloxacina (5 mcg).

Antes do resultado da cultura e do antibiograma, optou-se pelo tratamento imediato no primeiro dia com fluidoterapia utilizando solução de ringer com lactato (16 litros) via intravenosa. Também foi administrado ceftiofur (4,0 mg/Kg), via intramuscular, uma vez ao dia, flunixin meglumine (2,2 mg/Kg), via intramuscular, duas vezes ao dia, além de lavagem bucal com solução tópica de clorexidina 0,12% (60 mL), duas vezes ao dia. Todos estes medicamentos foram administrados por oito dias. Após dez dias do início do tratamento, o animal mostrou melhora do quadro clínico e recebeu alta.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A denominação de “língua de pau” é oriunda da sintomatologia clássica da actinobacilose, caracterizada pelo edema da língua, sialorréia, disfagia e, ocasionalmente, protrusão da língua (10). No presente caso, todos estes sinais clínicos supracitados também foram observados, reforçando que são sugestivos do diagnóstico clínico da actinobacilose bovina.

O diagnóstico de rotina da actinobacilose é baseado nos achados clínicos e na avaliação histopatológica da lesão. Entretanto, para a confirmação é necessário o isolamento e identificação de *Actinobacillus lignieresii* (9), como realizado no presente relato, em que foi procedido o isolamento do agente etiológico.

Há indicação terapêutica do uso de penicilina para a terapia da actinobacilose (3, 9). O insucesso da terapia administrada inicialmente na propriedade pode ser justificado pela resistência “in vitro” de *Actinobacillus lignieresii* a penicilina observada no antibiograma do isolado. Resultados semelhantes quanto a resistência desta bactéria a penicilina também já foram descritos em casos anteriores em bovinos (5, 6).

O histórico do procedimento cirúrgico realizado e a evolução clínica clássica da actinobacilose com manifestações típicas como glossite, edema da língua, sialorréia, disfagia, e protrusão de língua, além do isolamento de *Actinobacillus lignieresii* após a cultura de material proveniente da base da língua, indica que a descorna cosmética provavelmente está associada à instauração da infecção, visto que já foi relatada manifestação atípica desta enfermidade após procedimentos como o implante de argola nasal e descorna cosmética (9). Também há descrição da formação de lesões granulomatosas na ferida cirúrgica após cesariana em vacas (13). Não há descrição de nenhum caso com evolução clínica clássica de actinobacilose relacionada a procedimentos cirúrgicos prévios, ao contrário do que se observou no presente caso clínico. Assim, é provável que a descorna cosmética possa ter papel secundário na instauração da actinobacilose, e o estabelecimento da doença possivelmente está relacionado à imunossupressão causada pelo estresse pós-cirúrgico.

A infecção tecidual mais comum em bovinos se inicia com a invasão do agente etiológico em lesões ou abrasões produzidas por alimentos abrasivos ou pontiagudos ingeridos pelo animal (3), como plantas cactáceas. Neste contexto, é possível que o animal do presente relato tenha sofrido alguma lesão na cavidade oral durante a ingestão da cana de açúcar picada manualmente, que era fornecida para todos os animais da propriedade.

Há pouco conhecimento sobre os fatores predisponentes para a instauração da actinobacilose bovina, tampouco sobre a relação do desenvolvimento desta afecção secundária aos procedimentos cirúrgicos prévios, como a descorna cosmética. O diagnóstico específico baseado nos sinais clínicos, cultura e identificação do agente etiológico se mostrou

viável. O início da terapia com antimicrobiano de amplo espectro, aliado ao uso de produtos tópicos, mostraram-se efetivos na resolução do quadro clínico.

REFERÊNCIAS

1. Andrezza D, Wouters ATB, Watanabe TNT, Boabaid FM, Wouters F, Souza FS, et al. Caracterização patológica e imuno-histoquímica das lesões de actinobacilose em bovinos. *Pesq Vet Bras.* 2013;33:305-309.
2. Benaoudia F, Escande F, Simonet M. Infection due to *Actinobacillus lignieresii* after a horse bite. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1994;13:439-440.
3. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. *Veterinary Medicine. A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats.* 10th ed. St. Louis: Saunders Elsevier; 2007.
4. Riet-Correa F, Schild AL, Mendez MC, Lemos RAA. *Doenças de Ruminantes e Equinos.* 2ª ed. São Paulo: Varela; 2001.
5. Margineda CA, Odriozola E, Moreira AM, Cantón G, Micheloud JF, Gardey P, et al. Atypical actinobacillosis in bulls in Argentina: granulomatous dermatitis and lymphadenitis. *Pesq Vet Bras.* 2013;33:1-4.
6. Milne MH, Barrett DC, Mellor DJ, O'Neill R, Fitzpatrick JL. Clinical recognition and treatment of bovine cutaneous actinobacillosis. *Vet Rec.* 2001;148:273-274.
7. Cahalan SD, Sheridan L, Akers CR, Lorenz I, Cassidy J. Atypical cutaneous actinobacillosis in young beef cattle. *Vet Rec.* 2012;171:375.
8. Wessels M, Harwood D, Welchman D, Isaacs A. Rhinitis due to actinobacillosis in a UK suckler cow herd. *Vet Rec.* 2012;170:599.
9. Roussel PJ. Actinomycosis and Actinobacillosis. In: Anderson DE, Rings DM, organizers. *Current Veterinary Therapy: Food Animal Practice.* 5ª ed. Missouri: Saunders, 2009. p.6-8.
10. Smith BP. *Medicina Interna de Grandes Animais.* 3ª ed. Barueri: Manole; 2006.
11. Markey B, Leonard F, Archambault M, Cullinane A, Maguire D. *Clinical Veterinary Microbiology.* 2ª ed. Filadélfia: Elsevier; 2013.
12. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twentieth Information Supplement. Wayne: Clinical Laboratory Standards Institute; 2010.
13. de Kruif A, Mijten P, Haesebrouck F, Hoorens J, Devriese L. Actinobacillosis in bovine caesarean sections. *Vet Rec.* 1992;131:414-419.

Recebido em: 31/12/2013

Aceito em: 29/10/2014

TERATOMA CONGENITO EM BEZERRA DA RAÇA NELORE

Edivaldo Aparecido Nunes Martins¹
Gisele Fernanda Gregghi²
Valéria Maria Lara³
Marcelo Bittencourt Contieri⁴

RESUMO

O teratoma é uma neoplasia composta por tecidos derivados de mais de um dos três folhetos embrionários e tem sido observado nos testículos e ovários dos grandes animais. O objetivo deste trabalho foi descrever um caso de teratoma na região cervical dorsal de uma bezerra da raça Nelore. O tratamento escolhido foi a ressecção cirúrgica da neoformação. O material foi analisado por exame histopatológico e era composto por osso, adipócitos, colágeno, pele e pêlo, sugerindo um teratoma. No período de 70 meses após a intervenção cirúrgica não foi observado sequela decorrente da má formação.

Palavras-chave: bovino, defeito congênito, neoplasia, teratoma.

CONGENITAL TERATOMA IN A NELORE CALF

ABSTRACT

Teratoma is a neoplasy composed of tissues from one of the three parts of embryo and are observed on testis and ovaries of large animals. The aim of this paper is to report one rare case of teratoma on cervical dorsal area in a Nelore calf. The chosen treatment was the surgical resection. The material was analyzed by histopathologic examination and was composited with bone, adipocytes, collagen, skin and hair, suggest a teratoma. The calf recovered satisfactorily from surgery, showed no complications during 70 months of follow up.

Keywords: bovine, congenital defect, neoplasia, teratoma.

TERATOMA CONGENITO EN TERNERA NELORE

RESUMEN

El teratoma es un tumor compuesto de tejidos derivados de más de una de las tres capas germinales y se ha observado en los testículos y los ovarios en animales grandes. El objetivo de este estudio fue describir un caso raro de teratoma cervical dorsal de una ternera Nelore. La resección quirúrgica del tejido recién formado fue el tratamiento elegido y el material se analizó por histopatología. El resultado reveló la presencia de hueso, adipocitos, colágeno, piel y cabello, lo que sugiere un teratoma. Dentro de los 70 meses después de la intervención quirúrgica no se ha observado secuelas como resultado del mal formación.

Palabras clave: ganado vacuno, defectos congénitos, neoplasia, teratoma.

¹ Instituto Federal do Sul de Minas Gerais - Câmpus Muzambinho. Contato principal para correspondência

² Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - USP. Campus de Pirassununga

³ Docente da Universidade Camilo Castelo Branco, Descalvado-SP

⁴ Docente da Anhanguera Educacional, Leme-SP

INTRODUÇÃO

Os defeitos congênitos apresentam distribuição mundial e podem causar aborto ou morte neonatal, gerando consideráveis perdas econômicas para a bovinocultura (1). A prevalência de más formações congênitas é variável entre raças, áreas geográficas e estações do ano e, dependente da origem do defeito (2).

Para Radostits et al. (3) o neonato com defeito congênito é um sobrevivente adaptado de um evento interrompido em uma interação de diferentes origens, em um ou mais estágios sequenciais do desenvolvimento embrionário e fetal.

Diversos agentes foram identificados como causadores dos defeitos congênitos, podendo ser de origem infecciosa ou não. No grupo dos agentes infecciosos foram diagnosticadas doenças virais (4) e as bacterianas (5). Para o grupo dos agentes não infecciosos se incluem agentes associados com o ambiente fetal, alterações genéticas e plantas tóxicas (5). A grande maioria desses defeitos ocorre esporadicamente, mas podem se apresentar em surtos e decorrente de etiologia múltipla (6). Não foram encontradas citações da ocorrência de teratoma em bezerros recém-nascidos, apenas em novilhas (6,7) e vacas (8). O teratoma é uma neoplasia composta por tecidos derivados de mais de um dos três folhetos embrionários e observado com maior frequência nos testículos e ovários (9).

O objetivo deste trabalho foi relatar o diagnóstico, tratamento cirúrgico e evolução de um caso de teratoma localizado na região atlanto-occipital, em uma bezerra da raça Nelore.

RELATO DE CASO

Uma bezerra Nelore proveniente de parto eutócico, com um dia de vida, apresentou uma estrutura tubular com 20 cm de comprimento e 5 cm de diâmetro, recoberta por pêlos na região cervical dorsal, próxima à articulação atlanto-occipital (Figura 1). O animal pertencia a um rebanho de 450 bovinos. A bezerra foi inicialmente examinada, sendo que os parâmetros fisiológicos se apresentavam normais e nenhuma outra anormalidade foi observada, durante o referido exame.



Figura 1. Detalhe do teratoma em forma de apêndice, na região cervical dorsal.

Optou-se pela ressecção cirúrgica do teratoma. O protocolo anestésico constou do uso de xilazina 2%⁵ (0,1 mg / Kg) IM e, decorrido 10 minutos realizou-se a infusão intravenosa da quetamina 10%⁶ (2 mg/Kg). Procedeu-se anestesia local infiltrativa, com lidocaína 2%, sendo realizada a técnica de infiltração subcutânea em cordão em toda circunferência da base da

⁵ Rompun®, Bayer Saúde Animal

⁶ Dopalen®, Vetbrands

estrutura. A incisão de pele foi realizada em forma elíptica, envolvendo toda a base da estrutura. Posteriormente, executou-se a divulsão roma do tecido subcutâneo. No centro da estrutura excisada, observou-se uma estrutura tubular oca de aproximadamente 2 mm de diâmetro, que aparentava ter comunicação com a primeira vértebra cervical. Logo, realizou-se a síntese do tecido subcutâneo com fio de poliglactina 910⁷, nº 1, padrão Sultan. A mesma sutura foi utilizada na dermorrafia, porém, com fio de náilon⁸ nº 1. No pós-operatório se administrou 20.000 UI/Kg de penicilina benzatina⁹ a cada 48 horas, totalizando três aplicações. A terapia analgésica constou da aplicação de 1,1 mg/Kg de flunixin meglumine¹⁰ a cada 24 horas, durante três dias consecutivos.

Fragmentos do material foram coletados e fixados em solução tamponada de formalina a 10%. Posteriormente, foram inseridos em parafina, seccionados a 5 µm e corados pela técnica de hematoxilina e eosina para a realização do exame histopatológico.

O material encaminhado para exame histopatológico revelou estrutura recoberta por epiderme íntegra, moderada hiperqueratose ortoqueratótica e células da camada basal, apresentando granulação enegrecida, sugestiva de grânulos de melanina (hiperpigmentação). Observou-se ainda na derme papilar e reticular, grande quantidade de estruturas foliculares e anexiais íntegras, distribuídas de forma irregular e rodeadas por um intenso infiltrado inflamatório mononuclear linfoplasmocítico. Abaixo da derme, notou-se hipoderme com adipócitos bem diferenciados, colágeno e tecido ósseo maduro, muitas vezes apresentando porção medular ativa com diferenciação celular (Figuras 2 e 3).

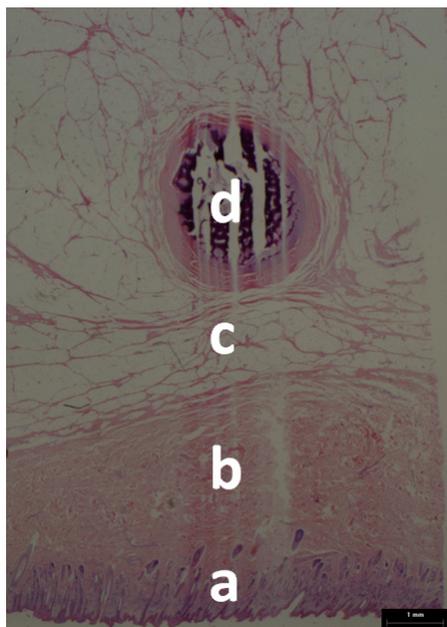


Figura 2 (10X HE). Secção das camadas do teratoma. a. epiderme; b. colágeno; c. hipoderme com adipócitos; d. tecido ósseo.

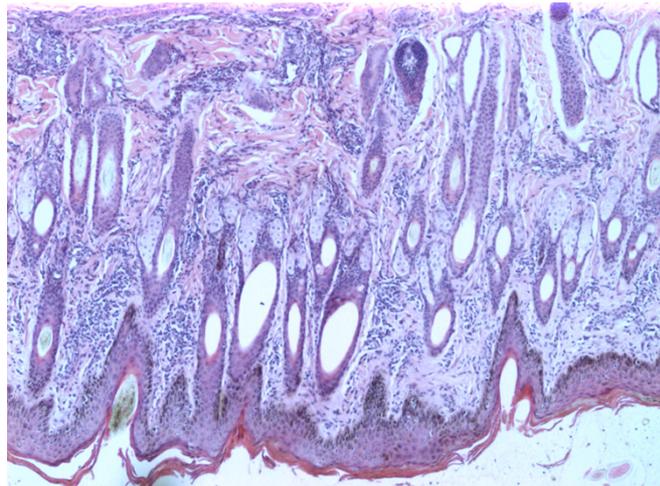


Figura 3 (100X HE). Epiderme com hiperqueratose ortoqueratótica e presença de grande quantidade de folículos e estruturas anexiais pilosas.

A bezerra se recuperou satisfatoriamente da intervenção cirúrgica e após 70 meses do pós-cirúrgico não apresentou complicações, sendo o primeiro e único caso de anormalidade congênita na propriedade, sugerindo um defeito congênito não hereditário.

⁷ Vycril®

⁸ Brasuture®

⁹ Pentabiótico reforçado®, Fort Dodge

¹⁰ Banamine®, Schering- Plough

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

No presente caso, não havia histórico de alterações durante o período gestacional que pudessem sugerir a possível causa. Provavelmente, o agente causador desse defeito era de origem não infecciosa, conforme sugerido por Radostits et al. (3) para os casos isolados de defeitos congênitos em um rebanho. Caso contrário, seria possível a observação de alterações características do agente incitante. Por isso, normalmente a pesquisa da causa de um defeito congênito desconhecido não é realizada, a menos que haja mais de um recém-nascido do rebanho ou de uma área acometidos num curto período de tempo com alterações similares.

Baseado na citação de Cebrián et al. (10), a ocorrência do defeito neste caso está provavelmente, relacionado à propagação errática das células germinativas do embrião, tendo em vista que as células embrionárias definem seu destino durante o estágio de gástrula. Antes desse estágio, todas as células se comportam de maneira semelhante. A partir da gastrulação as células iniciam um caminho geralmente irreversível, começando a transformação influenciada pela posição que ocupam (11).

A exemplo deste caso, Campos et al. (12) reportaram a ocorrência de pedúnculo cutâneo na região atlanto-occipital em um bezerro, entretanto, os autores não fizeram descrição histopatológica do tecido e da evolução do caso, não permitindo comparação para caracterização de semelhança entre os achados e o fator perturbador da embriogênese.

O diagnóstico de teratoma foi baseado exclusivamente nos achados do exame histopatológico, pois na literatura compilada não existem relatos semelhantes da ocorrência deste tumor na região atlanto-occipital de bovinos, bem como da observação deste tipo tumoral em neonatos. Os relatos de teratomas em bovinos restringem-se aos ovários de novilhas (6,7) e vacas (8). Enquanto que nos humanos, o teratoma apresenta implantação gonadal ou extragonadal, sendo a região sacrococcígea a localização extragonadal mais comum (13).

Quanto ao tratamento cirúrgico, em alguns casos os gastos com o serviço veterinário e com a cirurgia não são estimulantes para realização do procedimento. Todavia, considerando que algumas neoplasias cutâneas podem ser excisadas com sucesso (14), a opção pelo tratamento cirúrgico pode se mostrar viável. Essa opção se encontra respaldada pela ausência de complicações e recidiva do teratoma, durante 70 meses após a excisão cirúrgica. Conclui-se que, deve-se considerar o procedimento cirúrgico como tratamento em animais acometidos por teratomas, com origem não hereditária e que possuem elevado valor zootécnico.

REFERÊNCIAS

1. Pimentel LA, Riet-Correa F, Gardner D, Panter KE, Dantas AFM, Medeiros RMT, et al. *Mimosa tenuiflora* as a cause of malformations in ruminants in the Northeastern Brazilian semiarid rangelands. *Vet Pathol.* 2007;44:928-31.
2. Schild AL. Defeitos Congênitos. In: Riet-Correa F, Schild AL, Méndez MC, Lemos RAA. *Doenças de ruminantes.* 2a ed. São Paulo: Varela; 2006. p.19-45.
3. Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. *Doenças do recém-nascido.* In: *Clinica Veterinária: Um tratado de doenças de bovinos, ovinos, suíno, caprinos e equinos.* 9a ed. Rio de Janeiro: Guanabara; 2002. p.111.
4. Ross CE, Dubovi EJ, Donis RO. Herd problem of abortions and malformed calves attributed to bovine viral diarrhea. *J Am Vet Med Assoc.* 1986;188:618-9.
5. Barr BC, Anderson ML. Infectious disease causing bovine abortion and fetal loss. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1993;9:343-68.

6. Mcintosh RA. An enormous ovarian teratoma (Hereford heifer). Rep Ont Vet Coll. 1949;29:128-30.
7. Pau S, Carluccio A, Zedda MT, Allegretto C, Pirino S, Fanti C. Teratoma ovarico in una manza. LARG Anim Rev. 1999;3:21-7.
8. Basile JR, Diniz JMF. Patologia genital de vacas azebuadas abatidas em matadouro: II. Teratomas ovarianos. Rev Bras Reprod Anim. 1982;6:25-31.
9. Jones TC, Hunt RD. The genital system. In: Veterinary pathology. 5a ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1983. p.303-1582.
10. Cebrian LM, Varela E, Ciudad MJ, Ramos JJ. Polimelia en una ternera frisona de ocho días de edad: Tratamiento quirúrgico. Comunicaciones Libres, Asociación Nacional de Especialistas em Medicina Bovina de España, n. 5, 2006. [cited 2009 Jul. 20]. Available from: <<http://www.anembe.com/congresos/indice.cgi?folder=2006>>
11. Buck B, Ulrich R, Kuiper H, Meyer W, Hewicker-Trautwein M, Distl O. Perosomus elumbis in a black and white German Holstein calf. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 2009;122:386-90.
12. Campos KF, Sousa MGS, Silva NS, Oliveira CHS, Duarte MD, Barbosa JD, et al. Doenças congênitas em bovinos diagnosticadas pela Central de Diagnóstico Veterinário (CEDIVET) da Universidade Federal do Pará, no período de 1999 a 2009. 2009; Belo Horizonte. Cienc Anim Bras [Internet]. 2009 [cited 2011 Aug 16];Supl 1:13-8. Available from: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/7706/5468>>
13. Falavigna A, Gandara C, Ferraz FAP, Saciloto B. Teratoma sacrococcígeo: relato de três casos. Arq Neuropsiquiatr [Internet]. 2004 [cited 2013 april 09];62:334-8. Available from: <<http://www.scielo.br/pdf/anp/v62n2a/a26v622a.pdf>.>
14. Khodakaram-Tafti A, Motaghypisheh M, Shirian S. Pathological study of naturally occurring vulvar and vaginal squamous cell carcinoma (SCC) in cattle. Comp Clin Pathol. 2013;22:713-6.

Recebido em: 29/10/2014

Aceito em: 09/03/2015

SOROPREVALÊNCIA DA BRUCELOSE BOVINA E BUBALINA NO ESTADO DO PARÁ

Alexandre do Rosário Casseb¹
Andrea Viana da Cruz²
Iroleide Santana de Jesus¹
Sandro Patroca da Silva¹
Andréa Maria Negrão¹
Susiclay Barros Neto¹
Gláucio Antônio Galindo¹
Brenda Baker Tavares¹

RESUMO

O objetivo do estudo foi determinar a soroprevalência de anticorpos para *Brucella abortus* em bovinos e bubalinos no Estado do Pará no período compreendido entre 2008 a 2012. Os dados contidos neste estudo foram obtidos a partir dos registros do Departamento de Defesa Animal da Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Pará, segundo as notificações realizadas no Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose. Os animais foram testados quanto à sorologia para brucelose (*Brucella abortus*) no teste do antígeno acidificado tamponado. A maior soroprevalência foi observada na mesorregião do Marajó (8,75%). Houve decréscimo de soropositividade nos anos estudados, reduzindo de 4,58 em 2008 para 1,30% no ano de 2012.

Palavras-chave: brucelose, bovinos, bubalinos, Estado do Pará.

SERUM PREVALENCE OF BRUCELLOSIS BOVINE AND BUFFALO IN THE STATE OF PARÁ

ABSTRACT

The aim of the study was to determine the seroprevalence of antibodies to *Brucella abortus* in cattle and buffaloes in the state of Pará in the period 2008 to 2012. The data in this study were obtained from records Department Defence Animal of the Agriculture Defense Agency of State of Pará, according to reports carried in the National Program for the Control and Eradication of Brucellosis and Tuberculosis. The animals were tested as to serology for brucellosis (*Brucella abortus*) in the buffered acidified antigen test. The highest seroprevalence was observed in the mesoregion of Marajó (8.75%). There was a decrease in seropositivity in the years studied, from 4.58 in 2008 to 1.30% in 2012.

Keywords: brucellosis, cattle, buffalo, State of Pará.

SEROPREVALENCIA PARA BRUCELOSIS BOVINA Y BÚFALINA EN EL ESTADO DE PARÁ

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la seroprevalencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* en el ganado bovino y búfalos en el estado de Pará, en el período 2008-2012. Los datos de este estudio se obtuvieron de los registros del Departamento de Sanidad Animal de la

¹ Universidade Federal Rural da Amazônia

² Universidade Federal Rural da Amazônia. Contato principal para correspondência

Agencia Defensa Agrícola Estatal de Pará. De acuerdo a las notificaciones emitidas por el Programa Nacional de Control y Erradicación de la Brucelosis y la Tuberculosis. Los animales se pusieron a prueba frente la serología para brucelosis (*Brucella abortus*) en pruebas de antígeno acidificado tamponado. La seroprevalencia más alta se observó en la mesoregión de Marajó (8,75%). Hubo una disminución de la seropositividad en los años estudiados, lo que reduce de 4,58 en 2008 a 1,30% en 2012.

Palavras clave: brucelosis, bovinos, búfalos, Estado de Pará.

A brucelose bovina é uma zoonose de distribuição mundial, cujo agente etiológico causa problemas sanitários e econômicos, suscitando geral preocupação para a saúde pública, particularmente nos trópicos e em países com pouco investimento nas áreas de produção de leite e carne, onde a incidência da doença é alta (1,2).

Segundo Cottorello et al. (3) a brucelose é uma doença que pode causar perda econômica de até 20% da produção bovina de corte de um país. Além disso, a presença de animais soropositivos compromete a capacidade de exportação para outros países. De acordo com Jardim et al. (4) outras perdas na pecuária causadas pela brucelose são: condenação do leite e da carne, queda de preços da carne, leite e derivados, desvalorização para o mercado externo, e altos custos com programas de controle e erradicação.

Estima-se que a brucelose é uma doença endêmica no Brasil, que causa prejuízos elevados (5), sendo relatada em estudos (6) no qual foi descrita diferenças na prevalência dos focos de brucelose bovina em diversas regiões do país. Mathias et al. (7) afirmou que os programas que têm obtido sucesso no combate a essa enfermidade baseiam-se principalmente na vacinação, realização de provas sorológicas e eliminação dos animais reagentes. O presente estudo investigou a prevalência de anticorpos para a brucelose em bovinos e bubalinos no Estado do Pará, entre 2008 a 2012.

Os dados contidos neste estudo foram obtidos a partir dos registros do Departamento de Defesa Animal (DDA) da Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Pará (ADEPARÁ), segundo as notificações realizadas do Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) do Brasil. Os animais foram testados quanto à sorologia para brucelose (*Brucella abortus*), pelo teste do antígeno acidificado tamponado (AAT) (5), realizado por médicos veterinários do serviço oficial de defesa sanitária animal, e por médicos veterinários autônomos habilitados pelo MAPA junto à ADEPARÁ.

Os municípios testados foram distribuídos de acordo com as seis mesorregiões do Estado, quais sejam: Baixo Amazonas, Marajó, Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense, Sudoeste Paraense e Sudeste Paraense. Estas regiões contemplam 144 municípios, dos quais 113 foram amostrados e testados no período do estudo.

Os resultados foram tabulados e confrontados pelo teste do Qui-quadrado de aderência, cujos escores amostrais foram mensurados admitindo-se nível de significância (α) de 0,05 para rejeição da hipótese de nulidade ($p \leq \alpha$) implementado pelo programa *BioEstat* 5.0 (8).

Foram testados 385.761 animais nos cinco anos de estudo, distribuídos em 10.438 propriedades rurais. Dentre os animais testados, 11.640 (3,01%) foram positivos para brucelose, afetando 1.861 propriedades rurais, o equivalente a 66,39% dos municípios positivos. Foi observado com o decorrer dos anos o decréscimo de animais reagentes, apesar de que essa redução da soroprevalência não foi estatisticamente significativa (Tabela. 1). Este dado mostra que, no período de estudo, a prevalência de brucelose no Estado do Pará foi menor que o percentual médio encontrado para a região Norte (8,45%) do país, em 1993 (6). Em relação aos dados do Brasil, a soroprevalência do Pará encontra-se dentro da média do país, entre 4% e 5% (5).

Durante os cinco anos de estudo foram obtidos dados das seis mesorregiões do Estado. Foram testados, entre 2008 a 2012, 73,33% dos municípios do Baixo Amazonas, 50% dos municípios do Marajó, 54,54% dos municípios da Metropolitana de Belém, 71,42% dos municípios do Nordeste Paraense e 100% dos municípios do Sudoeste e Sudeste Paraense. A análise da prevalência constatou que a Mesorregião do Marajó foi a que apresentou percentual mais elevado (8,75%) de animais reagentes, enquanto a mesorregião Metropolitana de Belém apresentou o menor percentual (3,09%). A diferença da prevalência entre as mesorregiões não mostrou diferença significativa ($p>0,05$). O município de Nova Timboteua (Mesorregião do Nordeste Paraense) foi o que apresentou maior prevalência de animais reagentes para brucelose no Estado, com 17,59% de positividade.

Tabela 1. Prevalência de bovídeos (bovinos e bubalinos) reagentes para brucelose no teste sorológico do antígeno acidificado tamponado. Estado do Pará, 2008 a 2012.

ANOS	MUNICÍPIOS			PROPRIEDADES RURAIS			BOVÍDEOS		
	T	R	%	T	R	%	T	R	%
2008	106	78	73,58	2541	544	21,41	77196	3537	4,58
2009	102	71	69,61	1993	350	17,56	74493	2293	3,08
2010	97	64	66,00	2439	521	21,40	78000	2678	3,40
2011	90	56	62,20	1726	261	15,10	57418	1831	3,20
2012	99	59	59,60	1739	185	10,60	98654	1301	1,30
Total	494	328	66,39	10438	1861	17,83	385761	11640	3,01

Legenda: T= Testados; R= Reagentes; %= Porcentagem.

Fonte: Adaptado de Departamento de Defesa Animal – Agência de Defesa Agropecuária do Estado do PARÁ, 2013.

O presente estudo verificou a redução da soroprevalência da brucelose bovina e bubalina no Estado do Pará entre 2008 a 2012, mostrando que a adoção das ações recomendadas pelo PNCEBT tem contribuído para o controle da doença no Estado.

REFERÊNCIAS

1. Megid J, Ribeiro MG, Marcos-Júnior G, Crocci AJ. Avaliação das provas de soroprecipitação rápida, soroprecipitação lenta, antígeno acidificado e 2-mercaptoetanol no diagnóstico da brucelose bovina. *Braz J Vet Anim Sci*. 2000;37(5):1-13.
2. Acypreste CS, Silva LAF, Mesquita AJ, Fioravanti MCS, Dias Filho FC, Ramos LS. Diagnóstico da frequência da brucelose bovina em vacas em lactação na Bacia leiteira de Goiânia pelas provas do anel do leite e rosa bengala. *Cienc Anim Bras*. 2002;3(1):p.59-65.
3. Cottorello ACP, Nunes K, Marshall M, Ribeiro AFC, Filho FA, Sung W. Brucelose. College of Veterinary Medicine. 2002 [access in April 23, 2012]. Available from: <http://www.vet.uga.edu/VPP/nsep/Brazil2002/brucella/Port/index.htm>
4. Jardim GC, Pires PP, Mathias LA, Ribeiro OC, Kuchembuck MRG. Diagnóstico sorológico da brucelose bovina em animais adultos vacinados com dose reduzida da cepa 19 de *Brucella abortus*. *Pesq Vet Bras*. 2006;26(3):177-82.

5. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Defesa Animal. Manual Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose – PNCEBT: legislação. Brasília; 2006. p.15-49.
6. Ferreira Neto JS, Situação epidemiológica da brucelose bovina no Brasil: bases para as intervenções. In: VIII Congresso Brasileiro de Buiatria; 2009; Belo Horizonte. Revista Ciência animal Brasileira. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2009.
7. Mathias LA, Chaves LF, Chen AA, Girio RJS, Valério Neto W. Estudos dos títulos sorológicos nas provas de soroaglutinação em placa, antígeno acidificado tamponado e fixação do complemento em bezerros Nelore vacinados aos 18 meses de idade com *Brucella abortus* amostra B19. Pesq Vet Bras. 2001;21(4):139-42.
8. Ayres M, Ayres JRM, Ayres DL, Santos AS. BioEstat 5.0: aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Biológicas e Médicas. Belém: Sociedade Civil Mamirauá; 2007. p.44-45.

Recebido em: 07/10/2013

Aceito em: 09/02/2015

ESTUDO RETROSPECTIVO DAS DOENÇAS, RAÇAS E IDADES DE CÃES E GATOS COM DIFICULDADE DE DEAMBULAÇÃO

Eduardo José Diniz da Gama¹
Stelio Pacca Loureiro Luna^{2*}
Jean Guilherme Fernandes Joaquim³
Cláudia Oliveira⁴
José Eduardo Corrente⁵
Nuno Oliveira Figueiredo Silva²

RESUMO

A dificuldade de deambulação é uma alteração comum em cães e gatos, que se manifesta por ataxias, paresias e paralisias, associadas a uma disfunção do sistema nervoso central ou periférico e/ou osteomuscular. Dada a dificuldade de tratamento e a necessidade de informação das causas destas alterações, o objetivo deste estudo retrospectivo foi traçar o perfil demográfico e clínico dos animais que fizeram uso de um aparelho de fisioterapia veterinária (AFV), devido a problemas de locomoção, para suprir informação epidemiológica e facilitar o diagnóstico e as condutas dos médicos veterinários na rotina de atendimento clínico. Foram cadastrados 1203 cães e 47 gatos em fichas de avaliação preenchidas por médicos veterinários, por meio das quais se traçaram os perfis clínicos e físicos dos animais. Os cães e gatos foram acometidos, principalmente, por paresias, 54% parciais e 46% totais, cuja causa principal, em ambas as espécies, foi lesão medular. As lesões medulares inespecíficas causaram maior frequência de dificuldade de deambulação em cães que as afecções medulares por doença do disco intervertebral (DDIV) e as duas foram superiores às demais lesões. Na associação entre as categorias de raça, idade e doenças, os cães da raça Teckel mostraram maior incidência de lesões de medula e de discos intervertebrais. A média das idades de ocorrência de dificuldade de deambulação em cães da raça Teckel e Pastor Alemão se encontrou na faixa de 3 a 9 anos. Os Pastores foram os que apresentaram maior dificuldade de deambulação decorrente de displasia coxofemoral (36.11%), na faixa etária dos 9 aos 12 anos, diferindo das demais categorias. Os cães são mais acometidos por dificuldade de deambulação do que os gatos sendo a principal causa a lesão medular, predominante na idade entre 3 e 9 anos, em animais SRD, seguidos do Teckel.

Palavras-chave: neurologia, ataxia, paralisia, medula espinhal, disco intervertebral.

RETROSPECTIVE STUDY OF THE DISEASES, BREEDS AND AGES OF DOGS AND CATS WITH LOCOMOTION IMPAIRMENT

ABSTRACT

Impaired locomotion is a common disorder in dogs and cats, which is manifested by ataxia, paresis or paralysis, associated with a dysfunction of the central or peripheral nervous and / or musculoskeletal system. Considering that treatment is difficult and the need for information of the causes of these changes, the aim of this retrospective study was to delineate the

¹ Médico Veterinário, VetCar - Aparelho de Fisioterapia Veterinária - Botucatu – SP

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

³ Médico Veterinário, Instituto Bioethicus, Botucatu – SP

⁴ Médica Veterinária autônoma

⁵ Departamento de Bioestatística. IBB – Unesp – Botucatu

*Contato principal para correspondência

demographic and clinical profile of the animals that used an veterinary physiotherapy apparatus, due to problems of locomotion, to supply epidemiological information and facilitate diagnosis and conduct of veterinarians in routine clinical care. A total of 1203 dogs and 47 cats were registered in evaluation sheets filled out by veterinarians, which filled out the clinical and physical profiles of the animals. The animals were affected mainly by paresis, 54% partial and 46% total. The main cause was spinal cord injury in both species. Nonspecific spinal injuries caused greater incidence of impaired locomotion in dogs than medullary affections caused by intervertebral disc disease, and both showed a greater incidence than the other injuries. Teckel dogs showed a higher incidence of spinal cord and intervertebral disc diseases compared to others. The mean age of occurrence of impaired locomotion in Teckel and German Shepherd dogs was between 3 and 9 years. Hip dysplasia was the main cause of impaired locomotion in Shepherd dogs ranging from 9 to 12 years old (36.11%), which was different from other disease categories. Dogs are more affected by impaired locomotion than cats; the main cause was the spinal cord lesions, which was predominant from 3 to 9 years of age in crossbreed animals, followed by the Teckel dogs.

Keywords: neurology, ataxia, paralysis, spinal cord, intervertebral disc.

ESTUDIO RETROSPECTIVO DE ENFERMEDADES, RAZAS Y EDADES DE PERROS Y GATOS CON DIFICULTAD PARA CAMINAR

RESUMEN

La dificultad para caminar es un trastorno común en perros y gatos, que se manifiesta por ataxia, paresia y parálisis, asociadas con una disfunción del sistema nervioso central o periférico y / o musculoesquelético. Dada la dificultad del tratamiento y la necesidad de información de las causas de estas alteraciones, el propósito de este estudio fue definir el perfil demográfico y clínico de los animales que hicieron uso de un dispositivo de fisioterapia veterinaria debido a problemas de locomoción, para suministrar información epidemiológica y facilitar el diagnóstico y modo de actuación de los veterinarios en la atención clínica de rutina. Se registraron 1203 perros y 47 gatos en fichas de evaluación registradas por los veterinarios, a través de las cuales se trazaron perfiles clínicos y físicos de los animales. Los perros y los gatos se vieron afectados principalmente por paresias, 54% parciales y 46% totales, cuya principal causa fue la lesión de la médula espinal en ambas especies. Las lesiones de médula inespecíficas causaron mayor frecuencia de dificultad para caminar en perros que los trastornos medulares por enfermedad del disco intervertebral y ambas fueron superiores al resto de lesiones. En la asociación entre las categorías de raza, edad y enfermedad, los perros de raza Teckel mostraron mayor incidencia de lesiones de médula ósea y de discos intervertebrales. La edad media de aparición de dificultad para caminar en los perros de raza Ovejero Alemán y Teckel se encontró en las etapas de edad de 3-9 años. Los Ovejeros presentaron la mayor dificultad para caminar debido a la displasia de cadera (36.11%), entre 9 a 12 años de edad, a diferencia de las otras categorías. Los perros se ven más afectados por la dificultad para caminar que los gatos, siendo la principal causa la lesión medular, predominante en las edades de 3 a 9 años en animales SRD, seguido del Teckel.

Palabras clave: neurología, ataxia, parálisis, médula espinal, disco intervertebral.

INTRODUÇÃO

As ataxias, paresias e paralisias são alterações de locomoção frequentes na rotina clínica de pequenos animais. Estão associadas a uma disfunção do sistema nervoso central ou

periférico. Lesões do sistema osteomuscular também podem impactar a locomoção causando incapacidade de deambulação. A disfunção motora bilateral dos membros pélvicos é designada paraparesia ou paralisia, dependendo da gravidade da perda motora. A perda da propriocepção dos membros pélvicos resulta em ataxia sensorial. Além disso, a perda da percepção de dor pode acompanhar a disfunção motora (1).

As afecções que mais frequentemente induzem à ataxia são: traumas raquimedulares, cinomose, neoplasias e afecções degenerativas. Entre as doenças mais relevantes que podem causar paresia ou paralisia dos membros torácicos, pélvicos ou ambos, podem ser citadas as: alterações por lesões medulares decorrentes de traumas, doença do disco intervertebral (DDIV), mielopatias inflamatórias e infecciosas, neoplasias, alterações degenerativas e congênitas (2, 3). A prevalência de DDIV em cães é de cerca de 2% e ocorre, principalmente, nas raças condrodistróficas, na idade entre 3 e 7 anos (2). Já as mielopatias inflamatórias são enfermidades menos comuns, que cursam com sinais clínicos semelhantes aos quadros compressivos, porém sem sinais de compressão em imagem. As neoplasias normalmente apresentam dor intensa e somente são diagnosticadas mediante mielografia, tomografia computadorizada ou ressonância nuclear magnética, quando de origem medular (4).

Para a maioria das lesões medulares descritas, em geral, são prescritos tratamentos médicos convencionais, de acordo com cada afecção, como o uso de fármacos anti-inflamatórios, corticoides, antibióticos, entre outros, associados a repouso em local confinado, por questões de custo e indisponibilidade de profissionais qualificados para realizar o tratamento ideal que seria o cirúrgico (2, 3, 5). A fisioterapia (6) e a acupuntura (7) também são tratamentos eficazes, principalmente nos casos de paresias e paralisias. A escolha do tratamento depende principalmente da causa da enfermidade, do tempo do início do problema, da duração e severidade dos sinais clínicos, além de fatores econômicos.

Diante da dificuldade de tratamento de animais com problemas de locomoção e a necessidade de informação das causas destas alterações, o objetivo deste estudo retrospectivo foi traçar o perfil dos animais que fizeram uso do aparelho de fisioterapia veterinária (AFV), devido a problemas de locomoção, para investigação de raças mais acometidas, sexo e idade dos pacientes, histórico de saúde do animal e as principais causas que levaram à dificuldade de deambulação, para suprir informação epidemiológica e facilitar o diagnóstico e as condutas dos médicos veterinários na rotina de atendimento clínico.

MATERIAL E MÉTODOS

O banco de dados para avaliação dos itens propostos originou-se a partir das solicitações dos médicos veterinários para aquisição do AFV, composto por fichas de avaliação padronizadas e previamente elaboradas com questões que traçavam o perfil clínico e físico dos animais. Cadastraram-se 1203 fichas de avaliação de cães e 47 de gatos, oriundas de diversas regiões do Brasil. Os médicos veterinários responsáveis preencheram os dados dos animais com auxílio dos proprietários, após o exame clínico, complementado por radiografia simples e/ou contrastada, para alimentar os dados com vista à confecção do AFV. Analisaram-se as fichas por um período de sete anos, para informação do perfil do animal, no sentido de se indicar ou não o uso do AFV e detalhes do modelo indicado.

Dada à grande variedade das raças dos cães, optou-se por agrupar os animais em cinco diferentes categorias. Para tal, selecionaram-se as raças dos cães com porcentagem de frequência de acometimento a partir de 5%. As categorias foram agrupadas da seguinte forma: 1) Pastor (agrupamento de Pastor Alemão, Pastor Belga e Pastor Canadense); 2) Poodle; 3) Teckel; 4) Sem raça definida (SRD) e 5) Outros (agrupamento das demais raças que não as anteriormente citadas).

Avaliaram-se os seguintes itens: 1) identificação - nome, espécie, raça, sexo, idade e peso; 2) causas de dificuldade de deambulação - lesões medulares (DDIV, trauma, seqüela de

cinomose, neoplasias, discoespondilite, mielopatia degenerativa, entre outras) ou não medulares (espondilose, displasia coxofemoral, amputações, entre outras lesões articulares), cujo diagnóstico foi realizado por exame físico, complementado ou não por diagnóstico de imagem; 3) histórico da saúde do animal - tempo do início do problema, grau de paralisia (parcial ou total), paralisia flácida ou espástica, grau de sensibilidade (superficial ou profunda), reflexos neurológicos e capacidade de assumir e de sustentar a posição quadrupedal e de se locomover de forma independente, evolução do processo (rápida, lenta ou estável), uso concomitante de fármacos, comportamento (calmo ou agressivo), presença ou ausência de iniciativa para se mover, intervenções cirúrgicas, realização ou não de acupuntura, possibilidade do animal voltar a se locomover de forma independente; 4) teste da força dos membros torácicos e outras informações, como por exemplo, se o AFV seria utilizado para fisioterapia dos membros pélvicos.

Exceto para comparação entre as frequências de causas de dificuldade de deambulação, avaliadas pelo teste Qui-Quadrado, avaliaram-se os demais itens por análise de frequência de acometimento. Agruparam-se os animais em sete diferentes faixas etárias: 1) 0-2 anos e 11 meses; 2) 3-5 anos e 11 meses; 3) 6-9 anos e 11 meses; 4) 9-11 anos e 11 meses; 5) 12-14 anos e 11 meses e 6) 15-18 anos. Para se obter a proporção dos animais acometidos, calcularam-se as somatórias de frequências de cada item, a partir da divisão dos valores respectivos pelo total de animais, multiplicado por 100, para a obtenção da porcentagem.

Elaboraram-se tabelas de contingência para sumarizar as ocorrências de cada tipo de lesão, em cães e gatos, e posterior aplicação dos testes de Qui-Quadrado. Realizou-se a comparação estatística dos resultados relativos às causas das dificuldades de deambulação apenas para as três categorias de raças de maior representatividade (Pastor, Poodle e Teckel), uma vez que nas outras duas categorias de menor representatividade (outros e SRD), não havia raças definidas. Efetuaram-se os testes estatísticos com o programa "SAS" (versão 9.1)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De um total de 1250 fichas analisadas, 96.2% correspondiam às ocorrências de dificuldade de deambulação em cães e 3.8% a ocorrências em gatos. Dentre os cães, a categoria SRD foi a mais representativa (28.1%) e, em relação aos gatos, 21.3% eram das raças Angorá, Persa e Siamês e 78.7% de SRD. A tabela 1 contém as cinco diferentes categorias de raças de cães agrupadas para as análises.

Tabela 1. Categorias de raças de cães com dificuldade de deambulação e porcentagem de frequência de acometimento a partir de 5%.

Raças de cães – Categorias	%
Pastor	8,1
Poodle	13,5
Outros	25,9
Teckel	24,4
SRD	28,1

As lesões medulares inespecíficas causaram maior frequência de dificuldade de deambulação em cães que as afecções medulares por DDIV ($X^2 = 10.1026$; $GL = 1$; $p = 0.0015$) e as duas foram superiores às demais lesões ($p < 0.05$). Em gatos, houve uma maior incidência de lesões medulares em comparação às demais ($p < 0.05$) (Tabela 2). A DDIV é rara em felinos, com incidência estimada entre 0.02% e 0.12% (8).

Tabela 2. Porcentagens de ocorrências para cada tipo de lesão responsável pelas dificuldades de deambulação dos cães e gatos que utilizaram o AFV, baseadas em exames físicos e/ou diagnóstico por imagem encaminhados pelos médicos veterinários.

<i>Lesões</i>	<i>Cães</i>	<i>Gatos</i>
Lesão medular	30,97 * ^a	65,85 * ^a
Doença de disco intervertebral	34,26 * ^b	7,14 ^b
Causa desconhecida	15,82 ^c	16,67 ^b
Displasia coxofemoral	9,13 ^d	0
Espondilose	7,61 ^d	0
Sequela de cinomose	6,27 ^d	—
Amputação	1,97 ^d	0
Congênita	1,79 ^d	9,52 ^b

* Diferenças entre cães e gatos para cada tipo de lesão. Letras minúsculas expressam diferenças entre os tipos de lesões dentro de cada espécie, onde a > b > c > d.

Os Pastores foram acometidos por DDIV dos 3 aos 6 (50%) e dos 6 aos 9 anos de idade (41.67%), compartilhando com os cães da raça Teckel, as diferenças significativas em relação às demais categorias de raças. Os Pastores foram os que apresentaram maior dificuldade de deambulação decorrentes de displasia coxofemoral (36,11%), na faixa etária dos 9 aos 12 anos, diferindo das demais categorias.

Não houve diferença significativa na associação entre as raças e o sexo dos animais ($X^2 = 0.92$; GL = 4; p = 0.9), tal como em outra pesquisa (2). Quanto à ocorrência de dificuldade de deambulação, a média das idades ao considerar todas as raças de cães estudadas, foi de 3 a 9 anos (Tabela 3).

Tabela 3. Porcentagem da média de ocorrências das diferentes lesões que causaram dificuldade de deambulação, para as categorias de raças de cães nas seis faixas etárias.

<i>Lesões</i>	<i>Outros</i>	<i>P. Alemão</i>	<i>Poodle</i>	<i>SRD</i>	<i>Teckel</i>
Lesão medular	28,83	11,56	30,34	32,00	16,64
DDIV	20,26	22,18	21,74	13,83	41,51
Causa desconhecida	25,99	12,78	13,16	19,90	4,84
Calcificação de disco	7,25	6,83	2,00	14,70	20,82
Displasia coxofemoral	12,50	34,97	8,02	11,80	2,25
Fusão de vértebras	9,41	17,54	5,25	10,52	15,43
Sequela de cinomose	3,87	0	5,54	6,30	7,08
Amputação	1,65	0,72	3,50	2,78	0,16
Congênita	1,14	2,38	3,20	1,73	0,82

Os dados deste estudo demonstram que no Brasil, (7, 9-12), de forma similar à outros países (5, 13-15), as lesões medulares e as DDIV predominaram significativamente em relação às demais afecções causadoras de dificuldade de deambulação em cães e gatos. A lesão medular como maior causa de dificuldade de deambulação pode ser sugestiva de traumatismos, apesar de outras enfermidades, como discopatia, tromboembolismo fibrocartilaginoso, sequelas de cinomose, mielopatias inflamatórias e neoplasias também serem possíveis causadores de lesões medulares.

O vírus da cinomose canina é causa frequente de sequelas neurológicas como ataxia sensorial, paresia ou paralisia (16). No presente estudo, as dificuldades de deambulação decorrentes de sequela de cinomose representaram apenas 6% dos casos, o que pode sugerir pouca adesão ao uso do AFV nestes casos e não necessariamente à pequena influência da cinomose como causa de alterações de locomoção. Talvez, da mesma forma com o que ocorre nas discopatias, no caso da sequela de cinomose também há um grande estímulo por parte dos

médicos veterinários em buscar alternativas de tratamento clínico, cirúrgico (17, 18) fisioterápico e por acupuntura (16, 19-21), com perspectiva de melhora do quadro e consequente adesão ao tratamento, manutenção e enfermagem do animal com o uso do AFV.

Vários autores ressaltam que a degeneração do disco intervertebral pode ocorrer precocemente em raças condrodistróficas, como é o caso do Dachshund, Pequinês, Bulldog Francês, Beagle, Basset Hound, e Poodle, mas também pode ser encontrada em outras raças de cães, como o Cocker Spaniel, Lhasa apso, Poodle e Maltês (2). Tal como observado em estudo recente (22), as raças sem condrodistrofia foram afetadas com menos frequência e mais tardiamente.

A faixa etária na qual os animais são mais acometidos por dificuldades de deambulação está compreendida entre os 3 e 7 anos, achado raro em animais mais jovens que 3 anos (2). Em média, os sinais aparecem aos 6 anos (2).

Corroborando estudos anteriores (2, 23), a DDIV acometeu as raças de pequeno porte na faixa etária entre 3 e 6 anos e ocorreu tardiamente nos cães de porte maior. Por outro lado, os Poodles não apresentaram diferença significativa para DDIV ou outra doença que levou à dificuldade de deambulação, comparado com as demais categorias de raças (outros SRD e Pastores Alemães).

Deve-se salientar que uma limitação deste estudo foi a possível dificuldade de diagnóstico e a variabilidade da experiência profissional por parte dos médicos veterinários no que concerne à interpretação dos exames clínicos, e de diagnóstico por imagem, para respectiva classificação das doenças e seus agentes etiológicos, principalmente no que concerne aos casos neurológicos. Por outro lado, os dados correspondem a um grande número de animais, o que minimizaria esta limitação e, desta forma, podem ser úteis como dados demográficos para estudos futuros, bem como para fins de avaliação geral do conhecimento das lesões do sistema nervoso, com repercussão no sistema locomotor, por parte dos clínicos veterinários e pesquisas futuras.

CONCLUSÕES

Os cães foram mais acometidos por dificuldade de deambulação que os gatos, cuja principal causa é a lesão medular, predominante na idade entre 3 e 9 anos, em animais SRD, seguido do Teckel.

COMITÉ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

O artigo foi aprovado pela comissão de Ética em Experimentação Animal, sob o protocolo CEUA 50/2005.

REFERÊNCIAS

1. Lorenz MD, Coates J, Kent M. Handbook of Veterinary Neurology. 5th ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2011.
2. Brisson BA. Intervertebral Disc Disease in Dogs. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2010;40(5):829-58.
3. Webb AA, Ngan S, Fowler D. Spinal cord injury II: Prognostic indicators, standards of care, and clinical trials. Can Vet J. 2010;51(6):598-604.
4. Fernández VL, Bernardini M. Neurologia em Cães e Gatos. São Paulo: MedVet; 2010.

5. Ruddle TL, Allen DA, Schertel ER, Barnhart MD, Wilson ER, Lineberger JA, et al. Outcome and prognostic factors in non-ambulatory Hansen Type I intervertebral disc extrusions: 308 cases. *Vet Comp Orthop Traumatol*. 2006;19(1):29-34.
6. Speciale J, Fingerroth JM. Use of physiatry as the sole treatment for three paretic or paralyzed dogs with chronic compressive conditions of the caudal portion of the cervical spinal cord. *J Am Vet Med Assoc*. 2000;217(1):43-7.
7. Joaquim JGF, Luna SPL, Torelli SR, Angeli AL, Gama ED. Acupuncture as a treatment of neurological diseases in dogs. *Rev Acad Cienc Agrar Ambient-Curitiba*. 2008;6:327-34.
8. Marioni-Henry K. Feline spinal cord diseases. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2010;40(5):1011-28.
9. Angeli AL, Joaquim JGF, Gama ED, Luna SPL. Outcome of 119 dogs and cats treated at the acupuncture unit of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science of the University of São Paulo State, Botucatu city, Brazil. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2005;42(1):68-74.
10. Mendes DS, Arias MVB. Traumatismo da medula espinhal em cães e gatos: estudo prospectivo de 57 casos. *Pesq Vet Bras*. 2012;32(12):1304-12.
11. Silva NEOF. Estudo retrospectivo de 98 felinos submetidos à Acupuntura no Ambulatório da FMVZ São Paulo: Faculdade de Jaguarúna; 2013.
12. Ueda MY, Luna SPL, Joaquim JGF, Scognamillo-Szab MVR. Estudo retrospectivo de 1.137 animais submetidos à Acupuntura na FMVZ, UNESP, Botucatu. *Ars Vet*. 2010;26(1):6-10.
13. Besalti O, Ozak A, Pekcan Z, Tong S, Eminaga S, Tacal T. The role of extruded disk material in thoracolumbar intervertebral disk disease: a retrospective study in 40 dogs. *Can Vet J*. 2005;46(9):814-20.
14. Bruce CW, Brisson BA, Gyselinck K. Spinal fracture and luxation in dogs and cats - A retrospective evaluation of 95 cases. *Vet Comp Orthop and Traumatol*. 2008;21(3):280-4.
15. Kranenburg H-JC, Grinwis GCM, Bergknut N, Gahrman N, Voorhout G, Hazewinkel HAW, et al. Intervertebral disc disease in dogs – Part 2: Comparison of clinical, magnetic resonance imaging, and histological findings in 74 surgically treated dogs. *Vet J*. 2013;195(2):164-71.
16. Santos BPCR. Efeito da acupuntura no tratamento de animais com sequelas neurológicas decorrentes de cinomose [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2013.
17. Davis GJ, Brown DC. Prognostic indicators for time to ambulation after surgical decompression in nonambulatory dogs with acute thoracolumbar disk extrusions: 112 cases. *Vet Surg*. 2002;31(6):513-8.

18. Levine JM, Levine GJ, Johnson SI, Kerwin SC, Hettlich BF, Fosgate GT. Evaluation of the success of medical management for presumptive cervical intervertebral disk herniation in dogs. *Vet Surg.* 2007;36(5):492-9.
19. Joaquim JGF, Luna SPL, Brondani JT, Torelli SR, Rahal SC, de Paula Freitas F. Comparison of decompressive surgery, electroacupuncture, and decompressive surgery followed by electroacupuncture for the treatment of dogs with intervertebral disk disease with long-standing severe neurologic deficits. *J Am Vet Med Assoc.* 2010;236(11):1225-9.
20. Cole EF. Avaliação dos efeitos terapêuticos obtidos com a alopatia e a acupuntura no tratamento de distúrbios neurológicos decorrentes da cinomose canina [dissertação]. Recife: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pernambuco; 1996.
21. Hayashi AM, Matera JM, de Campos Fonseca Pinto ACB. Evaluation of electroacupuncture treatment for thoracolumbar intervertebral disk disease in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2007;231(6):913-8.
22. Smolders LA, Bergknut N, Grinwis GCM, Hagman R, Lagerstedt A-S, Hazewinkel HAW, et al. Intervertebral disc degeneration in the dog. Part 2: Chondrodystrophic and non-chondrodystrophic breeds. *Vet J.* 2013;195(3):292-9.
23. Santos TCC, Vulcano LC, Mamprim MJ, Machado VMV. Principais afecções da coluna vertebral de cães: estudo retrospectivo (1995-2005). *Vet Zootec.* 2006;13(2):144-52.

Recebido em: 08/10/2014

Aceito em: 14/11/2014

TEMPO NA ATIVIDADE E PERCEPÇÃO DE RISCO DE PRODUTORES DE LEITE NO EMPREGO DE PRODUTOS VETERINÁRIOS

Ana Carolina Borsanelli¹
Antonio Sergio Ferraudo²
Samir Issa Samara³
Iveraldo dos Santos Dutra⁴

RESUMO

A livre aquisição e emprego de produtos veterinários pelos produtores rurais no Brasil tem como consequência o aumento provável dos riscos para a saúde pública, saúde animal e para o meio ambiente. Nesse contexto, é importante conhecer as atitudes e os comportamentos dos produtores rurais de leite e a sua percepção de risco sanitário. O presente estudo teve por objetivo avaliar a correspondência entre o tempo na atividade de 171 produtores de leite de 96 municípios do Estado de São Paulo, e a percepção de risco no emprego de produtos veterinários, pela análise de correspondência múltipla. Produtores de leite com tempo na atividade inferior a cinco anos tendem a não observar o período de carência e vermifugar vacas em lactação. Nesse enfoque, são necessários entre 5 e 10 anos para que produtores de leite passem a declarar que observam o período de carência de produtos veterinários e produtores com mais de 20 anos na atividade ainda tendem a ordenhar normalmente animais tratados com carrapaticidas.

Palavras-chave: produtos veterinários, percepção de risco, análise de correspondência, saúde pública.

TIME ACTIVITY AND RISK PERCEPTION OF DAIRY FARMERS IN THE USE OF VETERINARY PRODUCTS

ABSTRACT

The free acquisition and the use of veterinary products by rural producers in Brazil have as consequence the likely increase risks to public health, animal health and for the environment. In this context, it is important to know the attitudes and behaviors of milk rural producers and their sanitary risk perception. The present study aimed to evaluate the correspondence between time in activity of 171 milk producers of 96 towns in the state of São Paulo, and the risk perception in the use of veterinary products through multiple correspondence analysis. Producers with less than 5 years in activity tend not to observe the lack period and use vermifuge in lactating cows. This way, it takes between 5 and 10 years for milk producers start to declare that observe the lack period of veterinary products and producers with more than 20 years in activity still tend to milk animals treated with acaricides.

Keywords: veterinary products, risk perception, correspondence analysis, public health.

¹ Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), UNESP, Jaboticabal, SP.

² Departamento de Ciências Exatas da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), UNESP, Jaboticabal, SP.

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária (FCAV), UNESP, Jaboticabal, SP

⁴ Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA), UNESP, Araçatuba, SP

TIEMPO EN LA ACTIVIDAD Y PERCEPCIÓN DE RIESGO DE LOS PRODUCTORES DE LECHE EN EL USO DE PRODUCTOS VETERINARIOS

RESUMEN

La adquisición libre y el uso de productos veterinarios para los agricultores en Brasil tiene como consecuencia el probable aumento de los riesgos para la salud pública, la sanidad animal y el medio ambiente. En este contexto, es importante conocer las actitudes y comportamientos de los productores de leche rurales y su percepción de riesgo sanitario. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la correlación entre el tiempo en la actividad de 171 productores de leche en 96 municipios del estado de São Paulo, y la percepción de riesgo en el uso de productos veterinarios a través del análisis de correspondencia múltiple. Productores de leche con el tiempo en la actividad inferior a cinco años tienden a no notar el período de espera y vermifugar vacas lactantes. En este enfoque, se necesitan entre 5 y 10 años para que los productores de leche comienzan a declarar que observan el período de espera de productos veterinarios y productores con más de 20 años en la actividad aún tienden a ordeñar normalmente los animales tratados con garapaticidas.

Palabras clave: produtos veterinários, percepção del riesgo, análisis de correspondencia, salud pública.

INTRODUÇÃO

A bovinocultura de leite no Brasil tem importância econômica e social expressiva e destaca-se pelo seu potencial de crescimento, pela magnitude do seu rebanho e pela produção anual de mais de 32,3 bilhões de litros (1).

A pecuária de leite tem contrastes acentuados entre as propriedades rurais; na maioria há predominância de baixos índices e, em uma minoria os valores encontrados são semelhantes aos dos países desenvolvidos e com pecuária tecnificada (2, 3). Como resultado, ocorre um aumento dos riscos sanitários, com reflexos em toda a cadeia produtiva e na qualidade do leite ofertado à indústria e aos consumidores. Um indicador que revela essa situação é o da dificuldade dos sistemas de produção atender às metas estabelecidas pelas autoridades sanitárias por meio da Instrução Normativa nº 62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (4).

De acordo com os resultados do Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC) de 2008, aproximadamente 4,4% das 114 amostras de leite testadas continham resíduos de avermectinas (5). No Programa Nacional de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo (PAMVet), é comum evidenciar a presença de resíduos de antibióticos e avermectinas nas amostras de leite avaliadas (6).

A livre comercialização de produtos veterinários, o uso indiscriminado de defensivos empregados na saúde animal (antibióticos, quimioterápicos, mosquicidas, carrapaticidas, vermífugos, etc.), como permitida atualmente no Brasil, e a não observação do período de carência dos mesmos contribuem para o aumento dos riscos à saúde animal, pública e ao meio ambiente (7).

Descrever e avaliar a percepção de risco, definida aqui como sendo a “habilidade de interpretar uma situação de potencial dano à saúde ou à vida da pessoa, ou de terceiro, baseada em experiências anteriores e sua extrapolação para um momento futuro, habilidade esta que varia de uma vaga opinião a uma firme convicção” (8), é fundamental para as cadeias agroalimentares e para a saúde pública. Borsanelli (9) evidenciou que o grau de escolaridade e

o volume de produção diário de leite influenciam na percepção de risco de produtores de leite no emprego de produtos veterinários.

A percepção de risco de trabalhadores na pecuária leiteira tem implicações diretas na sua própria saúde, na de seus familiares, na dos consumidores e pode revelar perigos potenciais para a saúde animal e para o meio ambiente. Segundo dados mencionados por Silva et al. (10), existem atualmente 7.222 produtos de uso veterinário autorizados para a comercialização no país e diversos deles são regulados exclusivamente pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Dentre esses produtos, uma questão levantada pelos autores é a de que os mesmos são formulados à base de princípios ativos considerados como agrotóxicos (ou pesticidas), portanto, agentes químicos prejudiciais à saúde humana e para o ambiente.

Ainda segundo Silva et al. (10), um dos principais determinantes da percepção de risco em trabalhadores rurais da pecuária leiteira decorre da carência de orientação técnica; a pouca orientação que recebem está ligada a vendedores de casas comerciais. Assim, a invisibilidade de riscos associados ao manejo de agrotóxicos de uso veterinário, como denominam os autores, aumenta a exposição de trabalhadores da pecuária leiteira a esses agentes químicos e pode acarretar graves problemas de saúde. Essa mesma invisibilidade de riscos leva ao negligenciamento do período de carência entre a aplicação de agrotóxicos de uso veterinário no gado e retirada do leite para consumo humano; as consequências são os riscos para outro grupo populacional, os consumidores de leite (10).

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado por meio de abordagem qualitativa, com a colheita dos dados obtida por meio de entrevista pessoal, a partir de questões estruturadas e não estruturadas. Foram entrevistados 171 produtores rurais com atividade na pecuária leiteira, durante o ano de 2011, de 96 municípios do Estado de São Paulo. Somente foram entrevistados produtores que se prontificaram espontaneamente a colaborar. Em todas as etapas foram consideradas e respeitadas as recomendações da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (11).

Para agrupamento e análise dos dados relacionados à percepção de risco, práticas sanitárias e atitudes no uso de produtos veterinários e recebimento de bonificação por qualidade foi considerado o tempo na atividade e esta variável foi relacionada com os fatores de risco: observação do período de carência, conhecimento do período de carência de dois produtos veterinários em uso na propriedade, vermifugação das vacas em lactação, descarte do leite com resíduos, uso de carrapaticida em vacas em lactação e práticas relacionadas ao controle de mastite.

A partir dos resultados das entrevistas buscou-se explorar as associações entre o tempo na atividade e os fatores de percepção de risco selecionados por meio da análise de correspondência múltipla, que é uma técnica estatística multivariada de caráter exploratório e permite verificar associações entre variáveis qualitativas ou variáveis contínuas categorizadas (12).

A associação entre as categorias das variáveis é feita sem que se precise designar uma estrutura causal ou uma distribuição de probabilidades, sendo apropriada no estudo de dados populacionais. Ela é útil no estudo de fatores de risco que podem estar associados a determinadas características que se deseja analisar, bem como permite identificar grupos que possuem os mesmos fatores de risco (13).

Por meio de representação gráfica, as posições das categorias de cada variável no plano multidimensional podem ser interpretadas como associações. A importância de cada categoria de variável na construção dos eixos é medida por meio da contribuição absoluta do qui-quadrado.

O software utilizado para a análise de correspondência foi o Statistica 7. Para a realização de cada análise foram selecionadas no máximo sete variáveis. Cada variável foi dividida em categorias e para cada categoria foi descrito o número equivalente e o seu valor percentual.

RESULTADOS

Dos 171 produtores entrevistados, sessenta (35%) declararam ter iniciado a atividade há menos de cinco anos, 34 (19,9%) entre 5 e 10 anos, 51 (29,9%) entre 10 e 20 anos, 26 (15,2%) mais de 20 anos.

Verificou-se que 139 (81,3%) produtores declararam observar o período de carência dos produtos veterinários. No entanto, quando questionados sobre qual o período de carência de dois produtos veterinários empregados rotineiramente na propriedade, 121 (70,8%) responderam incorretamente, 35 (20,4%) acertaram um e apenas 15 (8,8%) mencionaram corretamente o período de carência de dois produtos.

A prática declarada pelos produtores de observação do período de carência dos produtos veterinários empregados na bovinocultura leiteira indicou associação com proprietários que estão na atividade entre 5 e 10 anos. Já a prática de não observar o período de carência dos produtos veterinários mostrou associação com produtores com tempo na atividade menor do que 5 anos (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados da análise de correspondência do tempo na atividade e percepção de risco relacionado ao período de carência de produtos veterinários, tendo como referência o resultado da entrevista de 171 produtores de 96 municípios do Estado de São Paulo, no ano de 2011.

Variáveis		Observa período de carência dos produtos veterinários	Não observa período de carência dos produtos veterinários
Tempo na atividade (anos)	Menor que 5	0,46689	2,0281*
	Entre 5 e 10	0,68863*	2,9912
	Entre 10 e 20	0,05115	0,2222
	Maior que 20	0,16466	0,7153

*Valores cujos resultados foram significativos no teste do qui-quadrado.

Observou-se que 91 (53,2%) proprietários declararam vermifugar vacas em lactação. Desses, 58 (33,9%) não descartam o leite quando realizam a operação. Houve associação entre o hábito declarado de vermifugar vacas em lactação e não descartar o leite desses animais com produtores que estão na atividade há menos de 5 anos.

O emprego de carrapaticidas em vacas em lactação, sem que ocorra descarte do leite, foi prática comum declarada por 117 (68,4%) proprietários rurais e 155 (90,6%) afirmaram descartar o leite de vacas em tratamento para mastite. A prática de descartar o leite de animais tratados com carrapaticidas indicou associação com os produtores que estão na atividade há menos de 5 anos (Tabela 2).

As associações entre o tempo na atividade e a percepção de risco de produtores de leite no uso de produtos veterinários ou no recebimento de bonificação revelaram atitudes comuns e foram agrupadas entre duas tendências; uma em que o perigo é mais visível e outra em que é menos visível (Tabela 3).

Tabela 2. Resultados da análise de correspondência dos fatores socioeconômicos e percepção de risco relacionado ao uso de carrapaticidas em animais em lactação tendo como referência o resultado da entrevista de 171 produtores de 96 municípios do Estado de São Paulo, no ano de 2011.

	Variáveis	Animais em tratamento com carrapaticidas são ordenhados normalmente	Animais em tratamento com carrapaticidas não são ordenhados normalmente
Tempo na atividade (anos)	Menor que 5	0,22699	0,4918*
	Entre 5 e 10	0,12967	0,2810
	Entre 10 e 20	0,10288	0,2229
	Maior que 20	0,57941*	1,2554

*Valores cujos resultados foram significativos no teste do qui-quadrado.

Tabela 3. Práticas sanitárias de produtores de leite no emprego de produtos veterinários e suas tendências, reveladas pela análise de correspondência múltipla e resultante da entrevista de 171 produtores, de 96 municípios do Estado de São Paulo.

Variável	Categoria	Perigo mais visível	Perigo menos visível
Tempo na atividade (ano)	Menor que 5		Não observa período de carência Vermifuga animais em lactação
	Entre 5 e 10	Observa período de carência	Não descarta leite de vacas em tratamento para mastite
	Maior que 20		Ordenha animais tratados com carrapaticida

DISCUSSÃO

Com forte conotação social e indicadores que revelam contrastes extremos a bovinocultura de leite é uma atividade primária das mais relevantes, complexas e com exigências crescentes para o atendimento às demandas e diretrizes da segurança alimentar e de mercados com agroindústria, varejo e consumidores cada vez mais exigentes.

As políticas públicas e privadas de fomento à produção animal no país enfatizam parcialmente a questão sanitária, que se restringem, geralmente, aos poucos programas sanitários oficiais e em ações voluntárias dos produtores rurais, geralmente desprovidos em sua maioria de assistência técnica (14), com baixa escolaridade (2) e sob influência de comerciantes dos mais de 7.200 produtos veterinários registrados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (10). Nesse cenário, são reais e crescentes os perigos decorrentes do uso indiscriminado de produtos veterinários como os antibióticos (5, 6) e de princípios ativos classificados também como agrotóxicos (10) e empregados no controle de endo e ectoparasitas dos bovinos.

No Brasil, Pereira e Dutra (15) descreveram situações críticas em que práticas sanitárias na pecuária de corte, e relacionadas ao uso de produtos veterinários, colocam em risco a saúde animal e a pública. Da mesma forma, enfatizaram ainda a necessidade de mudanças de comportamento dos produtores, que avaliam seus negócios pelos indicadores de produção, produtividade e lucratividade, mas com atitudes que revelam percepções de riscos sanitários aquém do desejável como produtores de alimentos. A percepção de produtores e especialistas sobre pontos importantes para melhorar a segurança alimentar em fazendas de gado de leite em país com pecuária tradicional e consolidada como a Holanda, evidenciou que não há grandes diferenças entre ambos no que se relaciona aos perigos químicos e biológicos (8).

Em seu estudo, Borsanelli (9) avaliou a associação entre fatores socioeconômicos e a percepção de risco de produtores de leite no uso de produtos veterinários e evidenciou que há categorias ou grupos de produtores para os quais o perigo sanitário é mais visível e outros para os quais o perigo é menos visível. Produtores rurais de leite com grau de escolaridade fundamental e/ou que produzem menos de 50 litros de leite por dia se encontram em situações críticas de vulnerabilidade e tendem a adotar práticas que colocam em risco a sua própria saúde, a da sua família, a dos consumidores e a saúde dos seus animais. Por outro lado, produtores rurais com grau de escolaridade superior e/ou que produzem mais de 500 litros de leite por dia tendem a reconhecer algumas das que seriam consideradas boas práticas, mas ainda aquém do seria desejável.

A análise de correspondência, apesar de não estabelecer a significância estatística das associações e não avaliar o efeito independente de cada fator combina vantagens de métodos não lineares e de métodos multidimensionais (12), o que permitiu a descrição das associações que ocorrem na população selecionada, e a identificação de perfis diferenciados de produtores de leite.

Assim, novos produtores de leite, com tempo na atividade inferior a cinco anos, tendem a não observar o período de carência e vermifugar vacas em lactação. São necessários entre 5 e 10 anos para que produtores de leite passem a declarar que observam o período de carência de produtos veterinários e produtores com mais de 20 anos na atividade ainda tendem a ordenhar normalmente animais tratados com carrapaticida.

A associação de práticas consideradas de risco entre produtores de leite no uso de produtos veterinários é uma realidade resultante do processo tradicional de fomento à produção animal, da carência de assistência técnica e da ausência de políticas públicas de educação sanitária. Embora a agroindústria tenha programas de incentivo à qualidade, essas questões sanitárias aqui tratadas seriam de responsabilidade exclusiva dos produtores rurais, que devem fornecer produtos com qualidade assegurada, cuidando da sua saúde, da saúde da sua família, da saúde animal, do meio ambiente e da saúde coletiva. É necessária e urgente a execução de programas sanitários contemporâneos nas unidades rurais de produção de leite, a atualização dos serviços de assistência técnica e extensão rural (público e privado), com enfoque distinto, inovador e complementar ao atual, e o desenvolvimento de ações efetivas de educação sanitária.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Produção da Pecuária Municipal. Brasília; 2012 [acesso 9 Jul 2014]. Disponível em <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2012/ppm2012.pdf>.
2. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Censo Agropecuário 2006. Brasília; 2006 [acesso 9 Jul 2014]. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/agropecuário.pdf>.
3. Pinatti E. Produtividade da bovinocultura de corte paulista em 2005. *Inf Econ.* 2007;37(6):17-25.

4. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa Nº 62, de 29 de Dezembro de 2011. Aprovar o regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, o regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado, o regulamento técnico de identidade e qualidade de leite pasteurizado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. Brasília: MAPA; 2011.
5. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa Nº 7, de 27 de Março de 2013. Resultados do acompanhamento do Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes. Brasília: MAPA; 2013.
6. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal (PAMVet): Relatório 2006-2007. Brasília: Anvisa; 2009.
7. Dutra IS. Medicina veterinária preventiva como instrumento para segurança alimentar e nutricional sustentável. Anais do 5o Simpósio de Produção de Gado de Corte; 2006 15-16 Jun; Viçosa, Brasil. Viçosa: V SIMCORTE; 2006. p.543-53.
8. Valeeva NI, Meuwissen MPM, Bergevoet RHM, Oude Lansink AGJM, Huirne RBM. Improving food safety at the dairy farm level: farmers' and experts' perceptions. Rev Agr Econ. 2005;27(4):574-92.
9. Borsanelli AC. Fatores socioeconômicos e percepção de risco de produtores de leite no uso de produtos veterinários [dissertação]. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista; 2013.
10. Silva TPP, Moreira JC, Peres F. Serão os carrapaticidas agrotóxicos? Implicações na saúde na percepção de riscos de trabalhadores da pecuária leiteira. Cienc Saude Colet. 2012;17(2):311-25.
11. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução 196, de 10 de outubro de 1996. Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos. Brasília: Ministério da Saúde; 1996.
12. Aranha RN, Faerstein E, Azevedo GM, Werneck G, Lopes CS. Análise de correspondência para avaliação do perfil de mulheres na pós menopausa e o uso de terapia de reposição hormonal. Cad Saude Publica. 2004;20(1):100-8.
13. Mota JC, Vasconcelos AGG, Assis SG. Análise de correspondência como estratégia para descrição do perfil da mulher vítima do parceiro atendida em serviço especializado. Cienc Saude Colet. 2007;12(3):799-809.
14. Peixoto M. Extensão rural no Brasil. Uma abordagem histórica da legislação. Brasília: Consultoria Legislativa do Senado Federal; 2008.
15. Pereira FB, Dutra IS. Diagnóstico de situação das práticas de manejo sanitário em sistemas de produção de bovinos de corte. Vet Zootec. 2012;19(4):522-30.

Recebido em: 26/06/2014

Aceito em: 11/02/2015

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DE PISCINAS DE CLUBE ESPORTIVO DE BOTUCATU-SP, BRASIL

Helio Langoni¹
Marcella Zampoli Troncarelli²
Luiz Carlos de Souza³
Rodrigo Costa da Silva²

RESUMO

Considerando a importância epidemiológica em saúde pública de águas recreacionais no Brasil, bem como a escassez de pesquisas realizadas sobre o tema no país, o objetivo do presente estudo foi avaliar a qualidade microbiológica de amostras de água de piscinas aquecida e sem aquecimento em clube esportivo localizado na cidade de Botucatu-SP. Foram estudadas 26 amostras de água, sendo 13 amostras de piscinas aquecidas e 13 de piscinas sem aquecimento. As amostras foram submetidas ao cultivo microbiológico e à técnica do Número Mais Provável (NMP) para a determinação do NMP de coliformes totais e termotolerantes. Todas as amostras provenientes de piscinas aquecidas e 38,5% de piscinas sem aquecimento apresentaram-se contaminadas por coliformes totais, enquanto que 54% e 15,4%, respectivamente, estavam contaminadas por coliformes termotolerantes. O cultivo microbiológico permitiu o isolamento de enterobactérias, *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. O estudo, apesar de local, representa um alerta sobre a necessidade de constante monitoramento sanitário de águas recreacionais nas mais diferentes regiões brasileiras, especialmente considerando suas características climáticas, que predispõem à intensa multiplicação de micro-organismos. Tais estudos poderão contribuir para a compreensão da situação epidemiológica de águas recreacionais no país e a tomada de medidas sanitárias com vistas à proteção à saúde pública.

Palavras-chave: água, piscinas, saúde pública, enterobactérias, coliformes.

MICROBIOLOGICAL QUALITY OF WATER FROM SWIMMING POOLS OF A SPORT CLUB IN BOTUCATU-SP, BRAZIL

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the microbiological quality of thermal and non-thermal swimming pool water of sport club from Botucatu-SP, Brazil. Twenty-six samples of water were collected from 13 samples thermal and 13 non-thermal swimming pools. Samples were evaluated for the probable number of total and fecal coliforms, by multiple tube fermentation technique. From 100% water samples of thermal and 38.5% of non-thermal swimming pools the contamination by total coliforms was verified. In 54% and 15.4% samples obtained from thermal and non-thermal swimming pools, respectively, the contamination by fecal coliforms was confirmed. Enterobacteria, *Staphylococcus* spp. and *Streptococcus* spp. were isolated from samples. These results reinforce that a constant sanitary

¹ Docente do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública. Área de Medicina Veterinária Preventiva. Universidade Estadual Paulista. Contato principal para correspondência

² Pós-doutorando do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública. Área de Medicina Veterinária Preventiva. Universidade Estadual Paulista

³ Professor aposentado do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública. Área de Medicina Veterinária Preventiva. Universidade Estadual Paulista.

monitoring of the recreational water to control the contamination levels is needed, especially in tropical countries, in order to protect public health.

Keywords: water, swimming pool, public health, enterobacteria, coliforms.

CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA DE PISCINAS DE UN CLUB DEPORTIVO DE BOTUCATU-SP, BRASIL

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la calidad microbiológica del agua de piscinas, de dos tipos (convencional y climatizada), en un club deportivo localizado en la ciudad de Botucatu-SP, Brasil. Fueron obtenidas 26 muestras de agua, siendo 13 de piscinas convencionales y 13 de piscinas climatizadas. Para la determinación del número más probable de coliformes totales y fecales se realizó la técnica de fermentación en tubos múltiples. 100% de las muestras provenientes de piscina climatizada y 38,5% de las piscinas convencionales estaban contaminadas por coliformes totales, mientras que para coliformes fecales se verificó positividad en 54% y 15,4% de las muestras, respectivamente. En el cultivo microbiológico, fueron aisladas algunas enterobacterias, *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus* spp. Estos resultados refuerzan la necesidad de un constante monitoreo sanitario de aguas recreacionales, especialmente en países tropicales, a fin de controlar los niveles de contaminación, para la protección a la salud pública.

Palabras clave: agua, piscinas, salud pública, enterobacterias, coliformes.

INTRODUÇÃO

Sendo o Brasil um país de clima tropical, a prática de frequentar clubes esportivos, especialmente no verão, é bastante comum entre as pessoas. Nesta estação, a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar permanecem elevadas, estabelecendo condições propícias à proliferação de inúmeras espécies de micro-organismos, como bactérias, fungos, algas, entre outros; em diversos ambientes, inclusive na água de piscinas. Esta situação é agravada especialmente em clubes esportivos, onde um grande número de pessoas de idades variáveis frequenta as piscinas, aumentando o risco da ocorrência de infecções (1).

Em diferentes países, o controle higiênico-sanitário de águas recreacionais está marcadamente definido, e são estabelecidos padrões para um monitoramento constante e eficiente da qualidade microbiológica da água (2,3). Inúmeras espécies de micro-organismos potencialmente patogênicos, tais como *Escherichia coli* (4), *Mycobacterium marinum* (5,6,7), *Legionella* spp. (8) e *Staphylococcus aureus* (9) têm sido isoladas a partir de amostras de água de piscinas públicas, balneários, lagos, entre outros, com níveis de contaminação superiores aos determinados pela legislação (10). Em um grande número de casos, há correlação do isolamento destes micro-organismos com surtos de enterotoxemias, dermatoses bacterianas ou micóticas, meningoencefalites, acometendo usuários de piscinas ou de águas recreacionais não tratadas (4-10). Por outro lado, no Brasil ainda são escassos os estudos referentes a este tema (11-13), o que evidencia a importância da presente pesquisa, e ressalta a necessidade de contínuo monitoramento da qualidade de águas recreacionais nas diferentes regiões brasileiras, para o direcionamento estratégico de controle sanitário, de modo a garantir a proteção à saúde pública.

A análise microbiológica da água utilizada para fins recreacionais tem sido relatada como importante método auxiliar no controle dos níveis de contaminação (14). Fezes de gaiivotas contribuem para a contaminação das águas dos Grandes Lagos norte-americanos,

onde banhistas realizam atividades esportivas e recreacionais. Os principais patógenos, presentes nas fezes dessas aves, e envolvidos neste processo são *E. coli* (10^5 a 10^9 UFC/g) e *Enterococcus* spp. (10^4 a 10^8 UFC/g) (4). Estudos microbiológicos em amostras de água que apresentavam aspecto turvo, colhidas de piscinas e banheiras, revelaram isolamento de várias espécies de enterobactérias, que apresentavam populações significativamente superiores às determinadas pela legislação (1). Surtos de enterotoxemia em crianças que frequentavam piscinas públicas foram relatados (15), bem como ocorrência de febre (4), dermatites (5), leptospirose (16), micobacterioses (17) e outras enfermidades (10) em usuários de piscinas ou águas recreacionais não tratadas. Com a evolução e adaptação de *Escherichia coli* O157:H7, vários pesquisadores passaram a comprovar a resistência da bactéria, tanto em produtos alimentares como em águas recreacionais, reforçando o risco epidemiológico para a ocorrência de infecções e surtos (4,15).

Em 12 piscinas da cidade de Bolonha, Itália, verificou-se risco de se contrair infecções causadas por *Legionella* spp., principalmente a *L. pneumophila*, que é frequentemente isolada de sistemas de distribuição de águas térmicas, de torres de resfriamento de condicionadores de ar. Este patógeno está relacionado à ocorrência de infecções pulmonares graves, sendo mais frequentemente isolado em água de chuveiros (27/48 – 56,25%) que em água de piscinas (2/48 – 4,17%), em concentrações que variaram de 10 a $19,25 \times 10^3$ UFC. 100mL⁻¹ (8). *Pseudomonas aeruginosa*, outro micro-organismo relacionado a infecções pulmonares severas, também foi isolado em amostras de água de piscinas (22/48 – 45,83%), com populações variando de 1,5 a 2×10^3 UFC. 100mL⁻¹, seguido de *Acinetobacter junii*, *Comamonas testosteroni*, *P. alcaligenes*, entre outros. *Staphylococcus aureus* foi isolado em cinco amostras, em concentrações que variaram de 1 a 10 UFC. 100mL⁻¹ (9).

P. aeruginosa é um indicador de qualidade da água de banho, caracterizado como patógeno oportunista, podendo se disseminar na água e provocar surtos causados por contato com águas de piscinas, assim como *S. aureus*. Portanto, a qualidade das águas das piscinas serve como indicador tradicional de poluição fecal. Em piscinas cobertas, são de grande importância os micro-organismos eliminados em grandes quantidades pelos próprios banhistas. Já em piscinas não cobertas, associa-se ainda a contaminação por agentes potencialmente patogênicos provenientes de excrementos de animais (18).

Centenas de milhões de bactérias são eliminadas pela pele durante a prática da natação. Outras fontes são a saliva, assim como a microbiota intestinal e as genitálias, podendo causar vários tipos de infecções oculares, auriculares e dermatológicas, além de infecções dos tratos gastrointestinal, respiratório, neurológico e/ou genito-urinário (10).

Em fontes de água corrente ou até mesmo piscinas, traumas de tecidos moles permitem a infecção por *Aeromonas* spp., podendo causar celulite invasiva. Patógenos cutâneos menos invasivos, causadores de lesões nodulares indolores ou ulcerativas, incluem *M. marinum* e *Prototheca* spp. (5-7).

Algumas espécies de micobactérias tais como *M. kansasii*, podem colonizar sistemas de distribuição de água, enquanto *M. xenopi* e *M. avium* estão mais comumente associadas aos sistemas de águas térmicas. Em contraste, *M. marinum* pode causar infecção a partir de abrasões na pele, em piscinas. Tais bactérias podem estar presentes nas fezes de animais infectados contaminando diversas fontes de água, seja para recreação ou ingestão (5-7,17).

M. marinum, uma micobactéria atípica de águas frescas, deve ser considerada importante para a saúde pública, pois apesar da transmissão ser rara em piscinas, e mais comum no mar, pode ser transmitida aos humanos causando infecção granulomatosa localizada na pele, com traumas menores nas mãos, caso a cloração da água não seja realizada adequadamente (5).

O controle preventivo da multiplicação de micro-organismos em águas recreacionais, especialmente piscinas, deve ser realizado com a utilização de desinfetantes adequados, em concentrações específicas, que apresentem ação antimicrobiana satisfatória e segura para os

banhistas (19,20). Verificou-se a inativação total de *P. aeruginosa*, *E. coli*, *L. pneumophila*, *S. aureus* e *Candida albicans*, em águas de piscinas, sob a ação do hipoclorito de sódio a 1ppm, 10, 20 e 30 minutos após exposição, em comparação a resultados inferiores dos produtos baseados em peróxido de hidrogênio, com ou sem íons prata (20). Assim, na desinfecção de piscinas, o hipoclorito apresentou maior eficiência.

Com efeito, considerando os riscos que as diferentes espécies de contaminantes microbiológicos de água representam à saúde pública; bem como a importância epidemiológica da realização de monitoramento constante da qualidade de águas recreacionais, e ainda levando-se em conta a escassez de pesquisas realizadas no Brasil sobre este tema, o objetivo do presente estudo foi a avaliação microbiológica de amostras de água colhidas das piscinas aquecida e sem aquecimento de um clube esportivo de Botucatu-SP, Brasil, por meio de cultivo microbiológico, contagem de unidades formadoras de colônias (UFC. mL⁻¹); determinação do número mais provável (NMP. 100 mL⁻¹) de coliformes totais e termotolerantes, além da pesquisa de *Mycobacterium* spp. e de *Prototheca* spp.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do estudo e amostragem

Foram colhidas 26 amostras de água, sendo 13 de piscinas aquecidas e 13 de piscinas sem aquecimento, em um clube esportivo localizado no município de Botucatu-SP, Brasil. Esse município está localizado à latitude 22°53'09" sul, e longitude 48°26'42" oeste, à altitude de 804m, a 235km da capital São Paulo-SP, na região centro-sul do Estado, ocupando hoje uma área de 1.483 km², e com uma população estimada de 127.328 habitantes, em 2014 (21).

Cada amostra foi colhida semanalmente, durante os meses de setembro a dezembro (verão), em dias e horários aleatórios, de forma a evitar vieses. Foram utilizados frascos estéreis de vidro com tampa plástica rosqueável, contendo 0,2 mL de solução a 1,8% de tiosulfato de sódio para a coleta das amostras (em volume mínimo de 100 mL).

Antes da colheita, a água das piscinas era homogeneizada por sistema mecânico de circulação, durante pelo menos dez minutos. Após isso, os frascos eram imersos manualmente em profundidade aproximada de 50 cm a partir da superfície da água (18), para preenchimento do frasco. As amostras eram mantidas refrigeradas para transporte, sendo que o tempo decorrido entre a colheita e o início do procedimento laboratorial não excedia seis horas. Todos os procedimentos laboratoriais foram realizados no Laboratório de Epidemiologia e Saneamento, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu, SP.

Determinação da contaminação por coliformes totais e termotolerantes

Para a determinação de coliformes, foi realizado o cálculo do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes por 100 mL da amostra, pela técnica de Tubos Múltiplos, que consiste em uma estimativa da densidade média de bactérias do grupo coliforme em uma amostra, calculada a partir da combinação de resultados positivos e negativos (22).

Realizaram-se duas etapas, uma presuntiva e outra confirmatória, devido às reações ácidas e gasosas serem causadas também por outros organismos (não-alvos) (22,23). A primeira etapa foi realizada em tubos de ensaio, contendo tubos de Durham em seu interior, incubados em estufa a 35°C (±2°C), com leituras 24 e 48 horas após. Na etapa confirmatória, as culturas positivas foram transferidas para caldo lactosado bile verde brilhante (CLBVB), incubados em estufa a 35°C (±0,5°C) por 48 horas (20), e para tubos com caldo EC (*Escherichia coli*), incubados em banho-maria a 44,5°C (±0,5°C) por 48 horas (23).

Foram considerados positivos para coliformes totais e termotolerantes, os tubos que revelaram produção de gás, verificada pelo aprisionamento de bolhas de ar nos tubos de Durham, após a incubação. De acordo com os resultados positivos e utilizando a tabela dos NMP (Tabela de Hopkins), determinou-se o NMP. 100 mL^{-1} de coliformes totais e termotolerantes por amostra de água, comparando-se aos padrões oficiais vigentes (22).

Cultivo microbiológico

Para análise microbiológica, procederam-se duas metodologias, de acordo com as técnicas descritas por Quinn et al. (23): cultivo direto e cultivo pós-filtragem.

O cultivo direto consistiu no cultivo microbiológico de 0,1 mL de cada amostra (inóculo “direto”) em Ágar Sangue Bovino a 10%; Ágar MacConkey, e Ágar Sabouraud-dextrose acrescido de cloranfenicol a 1mg/mL (este último especialmente para a pesquisa de *Prototheca* spp.), espalhando-se por toda a placa com auxílio de alça de Drigalski estéril, de modo a permitir a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL).

O cultivo pós-filtragem foi realizado por filtragem de cada amostra, utilizando seringa plástica acoplada a um aparato de inox estéril contendo filtro Millipore de $0,2 \mu\text{m}$. Após o processo de filtragem, o filtro era retirado com auxílio de pinça estéril e imerso em solução salina durante 30 minutos. Após este período, o filtro era retirado, sendo que a solução resultante da lavagem do filtro representava o inóculo “pós-filtragem”, que foi cultivado em volume de 0,1 mL em cada meio de cultura, conforme procedimento descrito para o cultivo direto.

Os materiais eram incubados em estufa bacteriológica a 37°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$), com observações do desenvolvimento microbiano às 24, 48 e 72 horas (± 2 horas) após incubação. Para a pesquisa de *Prototheca* spp., as amostras eram mantidas em incubação a 28°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$), durante 30 dias, com observações diárias.

Das colônias isoladas no meio de MacConkey foi realizada a caracterização bioquímica (EPM, Milli e Citrato), incubando-se a 37°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$), por 24 horas (± 2 horas).

A solução de lavagem do filtro foi submetida posteriormente à descontaminação Petroff, para a pesquisa de *Mycobacterium* spp. (23). Foram inoculados $300 \mu\text{L}$ da suspensão descontaminada em meios de Stonebrink e Löwenstein-Jensen, incubando-se à 37°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) por 16 semanas. Os resultados foram considerados negativos pela ausência de isolamento do micro-organismo alvo durante todo o período de avaliações.

RESULTADOS

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados de contaminação das amostras por coliformes totais e fecais, segundo a técnica do NMP.

Em 100% (13/13) das amostras obtidas de piscina aquecida, houve contaminação por coliformes totais, sendo que, em 54% (8/13) delas houve confirmação da presença de coliformes termotolerantes. Nota-se que as amostras obtidas da piscina sem aquecimento apresentaram reduzidos níveis de contaminação, sendo que 38,50% (5/13) apresentavam contaminação por coliformes totais e 15,40% (2/13) continham populações consideráveis de coliformes termotolerantes. Pode-se observar, além disso, que tanto nas amostras de água da piscina aquecida, quanto da piscina sem aquecimento, houve um aumento na população de coliformes totais e termotolerantes ao longo do tempo, que poderia estar relacionado a diversos fatores, como, por exemplo, a elevação da temperatura e da umidade ao longo dos meses, e acesso de um maior número de pessoas às piscinas.

Tabela 1. Número mais provável de coliformes totais e termotolerantes ($\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$) em amostras de água das piscinas aquecida e sem aquecimento de um clube esportivo de Botucatu, SP, coletadas semanalmente, durante quatro meses. Botucatu, 2013.

Data da colheita	Amostras	Piscina aquecida		Piscina sem aquecimento	
		CTot	CTer	CTot	CTer
16/09	01	20	< 2	< 2	< 2
19/09	02	26	04	04	< 2
26/09	03	14	< 2	< 2	< 2
03/10	04	18	< 2	< 2	< 2
11/10	05	10	< 2	< 2	< 2
21/10	06	12	< 2	< 2	< 2
23/10	07	24	< 2	< 2	< 2
31/10	08	30	04	< 2	< 2
08/11	09	60	10	< 2	< 2
15/11	10	300	240	14	06
21/11	11	80	36	06	< 2
28/11	12	86	20	04	< 2
10/12	13	64	12	08	04

CTot: coliformes totais; CTer: coliformes termotolerantes

Nas Tabelas 2 e 3 estão apresentados os resultados de isolamento microbiológico obtido a partir de amostras de água de piscina aquecidas e sem aquecimento, respectivamente. Em ambas as situações, o isolamento de *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. foi bastante significativo, atingindo níveis superiores ao limite de contagem de unidades formadoras de colônias. Nota-se, além disso, a importante contaminação por enterobactérias, tanto na forma “direta” de cultivo, quanto na “pós-filtragem”; sendo que, nesta última, há um maior número de UFC. mL^{-1} , devido à concentração de micro-organismos obtida pelo método de filtração. Pelo método de cultivo “direto”, foi possível o isolamento de micro-organismos em 46% das amostras de água da piscina aquecida e 30% da piscina sem aquecimento. Já pelo método “pós-filtragem” houve isolamento microbiano em 77% das amostras colhidas da piscina aquecida e 61,50% da piscina sem aquecimento.

Em relação à pesquisa de *Prototheca* spp. e *Mycobacterium* spp., não foram obtidos isolamentos destes agentes em nenhuma das amostras avaliadas.

Tabela 2. Micro-organismos isolados de amostras de água da piscina aquecida de um clube esportivo de Botucatu-SP, pelos métodos de cultivo “direto” e “pós-filtragem”. Botucatu, 2013.

Micro-organismos isolados	Cultivo “direto”			Cultivo “pós-filtragem”		
	UFC. mL^{-1a}	UFC. mL^{-1b}	N	UFC. mL^{-1a}	UFC. mL^{-1b}	N
<i>Enterobacter aerogenes</i>	10	30	01	60	> 300	02
<i>Escherichia coli</i>	00	80	01	00	130	01
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	00	80	01	00	> 300	01
<i>Klebsiella oxytoca</i>	00	00	00	00	40	01
<i>Shigella dysenteriae</i>	20	60	01	0	80	01
<i>Staphylococcus</i> spp.	> 300	0	01	> 300	00	03
<i>Streptococcus</i> spp.	260	0	01	> 300	00	01
Total	> 300	250	06	> 300	> 300	10

^a AS (Ágar Sangue)

^b MC (Ágar MacConkey)

N número de amostras

Tabela 3. Micro-organismos isolados de amostras de água da piscina sem aquecimento de um clube esportivo de Botucatu-SP, pelos métodos de cultivo “direto” e “pós-filtragem”. Botucatu, 2013.

Micro-organismos isolados	Cultivo “direto”			Cultivo “pós-filtragem”		
	UFC. 0,1mL ⁻¹ ^a	UFC. 0,1mL ⁻¹ ^b	N	UFC. 0,1mL ⁻¹ ^a	UFC. 0,1mL ⁻¹ ^b	N
<i>Enterobacter aerogenes</i>	00	00	00	00	160	01
<i>Escherichia coli</i>	10	110	10	00	> 300	01
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	00	00	00	00	> 300	01
<i>Proteus vulgaris</i>	00	00	00	00	40	01
<i>Staphylococcus spp.</i>	> 300	00	30	> 300	00	03
<i>Streptococcus spp.</i>	00	00	00	> 300	00	01
Total	> 300	110	40	> 300	> 300	08

^a AS (Ágar Sangue);

^b MC (Ágar MacConkey); N número de amostras

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram a importância do monitoramento sanitário de águas recreacionais, na medida em que foram constatadas contaminações por coliformes totais e termotolerantes em um significativo número de amostras, além do isolamento de micro-organismos potencialmente patogênicos, como *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* e enterobactérias. Devido às características físico-químicas da água, especialmente quando se considera as piscinas térmicas, são estabelecidas condições favoráveis à proliferação destes micro-organismos, o que aumenta as chances de infecções nos usuários, especialmente nas categorias mais suscetíveis, como crianças, idosos e indivíduos portadores de deficiência imunológica.

No presente estudo ocorreu maior nível de contaminação nas amostras de água colhidas durante o período de temperaturas e de umidade relativas do ar mais altas; com conseqüente maior número de usuários nas piscinas. De maneira semelhante, em estudo realizado em Santa Catarina em 2010, foi constatada maior tendência à procura por termas recreacionais entre os meses de abril a setembro, quando a temperatura ambiente mínima era de 18°C e a máxima de 25°C. Neste período, a contaminação das águas por enterobactérias e outros micro-organismos foi consideravelmente maior do que nos demais meses do ano (18).

As enterobactérias são potencialmente patogênicas, especialmente *Escherichia coli*, cuja variabilidade de cepas pode produzir inúmeros tipos de toxinas. No presente estudo, tanto nas amostras colhidas em piscinas aquecidas, quanto em piscinas sem aquecimento, houve isolamento de *Escherichia coli*, com resultados de contagem bastante relevantes (acima de 300 UFC. mL⁻¹). Resultados similares foram encontrados em análises microbiológicas realizadas para investigar as condições higiênico-sanitárias de piscinas de um complexo aquático situado no Oeste de Santa Catarina (18). *Escherichia coli* esteve presente em 100% das amostras avaliadas e *Enterococcus sp.* em 60%, com contagem de bactérias heterotróficas totais ≥ 300 UFC mL⁻¹, e ≥ 870 UFC mL⁻¹ para bolores e leveduras. Em um estudo mais amplo, realizado em São Carlos-SP, foram avaliadas 160 amostras de água colhidas em 20 piscinas de uso comunitário, sendo 11 aquecidas e nove sem aquecimento, e verificou-se também a marcada identificação de enterobactérias. Doze amostras (7,5%) estavam fora do padrão sugerido para bactérias heterotróficas e 63 (39%) foram consideradas insatisfatórias quanto à presença de coliformes totais (12). *Escherichia coli* foi isolada em duas amostras.

Segundo normas da legislação federal vigente, no que se refere à classificação de águas de balneabilidade (18), todas as amostras analisadas no presente estudo apresentaram-se de excelente qualidade, na medida em que continham populações de coliformes totais e termotolerantes inferiores aos limites máximos permitidos, que são de até 1.250 coliformes totais e de no máximo 250 coliformes termotolerantes em 100 mL de amostra. No entanto,

avaliando criticamente os dados, na presente pesquisa os níveis máximos encontrados foram de 300 coliformes totais e 240 coliformes termotolerantes em 100 mL de amostra. Apesar de estes valores estarem abaixo dos limites especificados pela legislação, deve-se ponderar que a presença de patógenos em números consideráveis como os que foram obtidos, também representa importante risco à saúde pública. Sendo assim, legislações estaduais estabeleceram limites mais rígidos para o controle de águas recreacionais. Em Santa Catarina, por exemplo, o limite estabelecido para coliformes termotolerantes é a ausência dos mesmos em cada 10 mL de amostra (18). Por outro lado, no caso do estado de São Paulo, a norma técnica para o controle de qualidade das águas de piscina entrou em vigor em 1979, e requer revisão (13).

Pesquisadores do Instituto Adolfo Lutz realizaram pesquisa para avaliação das condições sanitárias das águas de piscinas do Município de Praia Grande/SP. Foram colhidas quatro amostras semanais por estabelecimento, sendo duas piscinas públicas e seis particulares, totalizando 32 amostras. Houve isolamento de coliformes totais, corroborando os resultados do presente estudo, além de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* (13).

Resultados microbiológicos semelhantes aos obtidos no presente estudo foram verificados em Portugal (24). A avaliação de 1.886 amostras de água provenientes de 32 piscinas do distrito de Aveiro permitiu detectar a contaminação por micro-organismos heterotróficos em níveis acima dos limites estabelecidos em 3,6% dos casos, enquanto que os estafilococos totais apresentaram-se em níveis superiores aos limites em 4,0% dos casos. Os agentes mais frequentemente isolados foram *Pseudomonas aeruginosa*, estafilococos coagulase positivos, e estafilococos totais. Na presente pesquisa, os estafilococos totais também foram os micro-organismos mais prevalentes, tanto nas amostras de água das piscinas aquecidas quanto naquelas sem aquecimento. Por outro lado, apesar de *Pseudomonas aeruginosa* ser um patógeno importante, frequentemente isolado em amostras de água recreacionais no Brasil e em outros países, na presente pesquisa não houve isolamento desta espécie de micro-organismo nas amostras avaliadas. Outro resultado discordante frente aos reportados na literatura científica foi a elevada frequência de isolamentos de *Streptococcus* spp. no presente estudo, uma vez que este micro-organismo não é comumente isolado de amostras de águas recreacionais.

A ausência de isolamento de *Prototheca* spp. e *Mycobacterium* spp. também representa resultado relevante, tendo em vista a importante patogenicidade destes agentes. No entanto, vale ressaltar que o presente estudo tem caráter local e foi realizado por período de tempo limitado. Com efeito, o monitoramento da qualidade microbiológica das águas recreacionais, aquecidas ou não, deve ser realizado de forma periódica e continuada, para a garantia da balneabilidade e segurança à saúde dos usuários. Como exemplo, em outras regiões brasileiras realizaram-se estudos por períodos de tempo prolongados, e houve isolamento de *Mycobacterium* spp. nas amostras de água recreacionais avaliadas. Em São Carlos-SP, houve isolamento de *Mycobacterium* spp. em 33% das 160 amostras de água colhidas em 20 piscinas de uso comunitário. Houve ainda isolamento de amebas de vida livre em 21% destas amostras, sendo que das 33 amostras positivas para estes protozoários, 18 (54%) demonstraram hospedar *Mycobacterium* spp. (12).

CONCLUSÕES

Apesar da qualidade microbiológica das amostras de água de piscinas avaliadas ter sido satisfatória de acordo com a legislação federal vigente, deve-se atentar ao importante número de micro-organismos potencialmente patogênicos que foram isolados. Tais micro-organismos podem oferecer risco à saúde dos usuários, especialmente em épocas do ano que propiciem condições epidemiológicas favoráveis à multiplicação destes agentes. Ressalta-se, portanto, a

necessidade de monitoramento permanente da qualidade de águas recreacionais no Brasil, para proteção à saúde pública.

Contribuições práticas do estudo

Após a realização do estudo e avaliação dos resultados, elaborou-se um relatório técnico detalhado, o qual foi apresentado à Diretoria do clube esportivo onde a pesquisa foi realizada, de forma a orientar os gestores sobre os riscos à saúde pública decorrentes de patógenos potencialmente zoonóticos que foram isolados nas amostras avaliadas. Os diretores mostraram-se bastante interessados e preocupados, e comprometeram-se a intensificar as medidas higiênico-sanitárias e de monitoramento da qualidade das águas das piscinas do clube.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem todo apoio fornecido pelo clube esportivo do município de Botucatu, SP, permitindo a colheita das amostras com posterior contribuição para a comunidade.

REFERÊNCIAS

1. Bartocha W, Baz G, Bohn H, Seidel K. Bacteriologic studies of very polluted swimming and whirlpool water. *Schriftenr ver Wasser Boden Lufthyg.* 1990;83:171-200.
2. Pokorn I, Talaeva IuG, Dmitrieva RA, Artemova TZ, Deak Zh, Shul'tse E, et al. Microbiological criteria of the quality of recreational waters in COMECON member countries. *Gig Sanit.* 1991;(4):64-7.
3. American Water Works Association. Microbiological examination. In: Standard methods for the examination of water and wastewater. 21 st ed. Washington: AWWA; 2005.
4. Fogarty LR, Haack SK, Wolcott MJ, Whitman RL. Abundance and characteristics of the recreational water quality indicator bacteria *Escherichia coli* and enterococci in gull faeces. *J Appl Microbiol.* 2003;94(5):865-78.
5. Kariniemi AL, Brander E, Huttunen R. Swimming pool granuloma: hand infection caused by *Mycobacterium marinum*. *Duodecim.* 1991;107(17):1437-40.
6. Petrini B. *Mycobacterium marinum*: ubiquitous agent of waterborne granulomatous skin infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2006;25(10):609-13.
7. Kiel RJ. *Mycobacterium marinum* [Internet]. eMedicine [cited 2007 Oct 30]. Available from: <http://emedicine.com/med/topic1538.htm>.
8. Leoni E, Legnani PP, Bucci Sabbatini MA, Righi F. Prevalence of *Legionella* spp. in swimming pool environment. *Water Res.* 2001;35(15):3749-53.
9. Salamah AA. Role of pre-incubation in non-selective medium in recovery of *Staphylococcus aureus* from swimming pools and beaches. *Microbiologica.* 1990;13(3):263-6.

10. Schlossberg D. Infections from leisure-time activities. *Microbes Infect.* 2001;3(6):509-14.
11. Falcão DF, Leite CQ. Microbiological quality of recreational waters in Araraquara, SP, Brazil. *Sci Total Environ.* 1993;128(1):37-49.
12. Sueitt APE. Avaliação ecoepidemiológica e sanitária de piscinas coletivas da cidade de São Carlos-SP. [dissertação]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2009.
13. Pimentel FC, Alonso ACB, Mello ARP, Sousa CV, Tavares DS, Gonzales E, et al. Condições sanitárias das águas de piscinas públicas e particulares. *Rev Inst Adolfo Lutz.* 2010;69(4):446-52.
14. World Health Organization. Microbial hazards. In: Guidelines for safe recreational water environments. Swimming pools and similar environments. Geneva: WHO Press; 2006. p.26-53.
15. Brewster DH, Brown MI. An outbreak of *Escherichia coli* O157 associated with a children's paddling pool. *Epidemiol Infect.* 1994;112(3):441-7.
16. de Lima SC, Sakata EE. Surto de leptospirose humana por atividade recreacional no município de José dos Campos, São Paulo: estudo soroepidemiológico. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1990;32(6):474-9.
17. Nichols G, Ford T, Bartram J, Dufour A, Portaels F. Introduction. In: Pedley S, Bartram J, Rees G, Dufour A, Cotruvo J. Pathogenic mycobacteria in water. A guide to public health consequences, monitoring and management. Londres: IWA Publishing; 2004. p.1-14.
18. Bonatto N, Gelinsky JMLN. Condições higiênico-sanitárias de piscinas em companhia hidromineral conforme análise de indicadores de contaminação fecal. *REB.* 2010;3(3):105-16.
19. Ibarluzea J, Moreno B, Zigorraga C, Castilla T, Martinez M, Santamaria J. Determinants of the microbiological water quality of indoor swimming-pools in relation to disinfection. *Water Res.* 1998;32(3):865-71.
20. Borgmann-Strahsen R. Comparative assessment of different biocides in swimming pool water. *Int Biodeter Biodegrad.* 2003;51(4):291-7.
21. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades [Internet]. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [cited 2014 May 20]. Available from: <http://cidades.ibge.gov.br/painel/painel.php?codmun=350750>.
22. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Secretaria do Meio Ambiente. Governo de São Paulo. Determinação do número mais provável de coliformes fecais pela técnica dos tubos múltiplos. São Paulo: CETESB; 1993. 43p.

23. Quinn PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR. Bacterial pathogens: microscopy, culture and identification. In: Clinical Veterinary Microbiology. 1st ed. Londres: Wolfe; 1994. p.21-66.
24. Meireles SLT. Qualidade microbiológica da água das piscinas do distrito de Aveiro. [dissertação]. Aveiro, Portugal: Universidade de Aveiro; 2011.

Recebido em: 17/11/2014

Aceito em: 09/02/2015

ANÁLISE DE CRITÉRIOS PARA UTILIZAÇÃO NA SELEÇÃO DE BACTERÍOFAGOS LÍTICOS COM POTENCIAL PARA UTILIZAÇÃO MÉDICA: DADOS PRELIMINARES

Guilherme Augusto Marietto Gonçalves¹
Bianca Yuri Borges Suehiro²
Luis Felipe Zuccolo Paschoal Costa²
José Carlos de Figueiredo Pantoja³
Raphael Lucio Andreatti Filho⁴

RESUMO

A fagoterapia é um método de controle de infecções conhecido há mais de cem anos, porém deixou-se de ser utilizada devido à praticidade do uso de antibióticos. No entanto, com o aumento mundial da resistência bacteriana, a fagoterapia ressurge como opção terapêutica, porém os padrões de seleção de amostras utilizados são empíricos. O presente artigo descreve o comportamento *in vitro* de 62 amostras de bacteriófagos líticos isolados de esgoto hospitalar humano usando uma amostra de *Salmonella* Enteritidis de origem avícola. No estudo, foram testados quatro perfis distintos comumente utilizados nas pesquisas com bacteriófagos e observou-se que há uma variância comportamental considerável em que o espectro de atividade lítica, tamanho de halo em gel difusão e índice de proliferação são fatores independentes de virulência, porém amostras prolíferas apresentam maior espectro de atividade lítica.

Palavras-chave: bacteriófagos, *Salmonella*, controle biológico, biotecnologia.

CRITERIA FOR SELECTION OF LYTIC BACTERIOPHAGE FOR USE IN MEDICAL FIELD (SETTING): PRELIMINARY DATA

ABSTRACT

This article analyzed, *in vitro*, the behavior of 62 bacteriophages samples lytic for *Salmonella* Enteritidis. The lytic potential was assessed by analyzing following parameters: proliferation, halo size in gel diffusion, superficial halo size and virulence degree. Proliferation degree of samples was determined by quantifying the amount of plaque forming unit (PFU) using gel diffusion technique. To determine UFP, minor dilution with measurable halos was considered. Lytic spectrum in the gel column was measured with an acrylic precision ruler. For to superficial halo size and virulence degree, the “spot-on-lawn” technique was employed. We observed that lytic activity spectrum, halo size in gel diffusion and proliferation are factors independent of virulence, but prolific samples shown higher spectrum of lytic activity. Prolific samples that present a high degree of virulence demonstrate *in vitro* a good potential for medical application.

Keywords: bacteriophages, *Salmonella*, biologic control, biotechnology.

¹ Médico Veterinário. Docente da Universidade do Oeste de Santa Catarina - UNOESC/Xanxerê-SC. Contato principal para correspondência.

² Graduando em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ/UNESP/Botucatu

³ Docente do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da FMVZ-UNESP/Botucatu

⁴ Docente do Departamento de Clínica Veterinária – Patologia Aviária da FMVZ-UNESP/Botucatu,

ANÁLISIS DE LOS CRITERIOS PARA LA SELECCIÓN DE BACTERIOFAGOS LÍTICOS CON POTENCIAL PARA USO MÉDICO: DATOS PRELIMINARES

RESUMEN

La fagoterapia es un método de control de la infección conocido por más de cien años, sin embargo, su uso se dejó de aplicar debido a la practicidad de los antibióticos. Con el aumento mundial de la resistencia bacteriana, la fagoterapia resurge como una opción terapéutica, pero los patrones de selección de muestras utilizadas son empíricas. En este trabajo, se describe el comportamiento *in vitro* de 62 muestras de los bacteriófagos líticos aislados de aguas residuales del hospital humano utilizando una muestra de *Salmonella* Enteritidis original de productos avícolas. En el estudio, se probaron cuatro diferentes perfiles comúnmente utilizados en la investigación en bacteriófagos y se observó que existe una variación considerable en donde el espectro de comportamiento de actividad lítica, tamaño de halo en gel difusión y el índice de proliferación fueron factores independientes de la virulencia, pero las muestras prolíficas tienen un mayor espectro de acción.

Palabras clave: bacteriófagos, *Salmonella*, control biológico, biotecnología.

INTRODUÇÃO

A bacteriofagia é um processo biológico conhecido há quase um século, tendo sido descrito inicialmente por Frederick W. Twort em 1915 e em paralelo por Félix d'Herelle em 1917, sendo melhor compreendido por André Gratia em 1921 (1,2). Bacteriófagos, ou simplesmente fagos, são vírus que predam bactérias e no processo final de sua replicação podem até matar seu hospedeiro. São parasitas espécie-específicos, ou seja, não infectam outras bactérias que não seja o seu hospedeiro habitual (3,4).

A utilização terapêutica de bacteriófagos (também chamada de fagoterapia) foi proposta e efetuada inicialmente com sucesso por d'Herelle, mas com a descoberta dos antibióticos acabou sendo esquecida (1,3). No entanto, com o avanço da resistência bacteriana aos antibióticos a fagoterapia foi lembrada, ressurgindo recentemente como uma alternativa ao uso de antibióticos no combate as bactérias patogênicas (5,6,7).

Em geral, a fagoterapia apresenta muitas vantagens sobre a antibioticoterapia: é eficiente contra bactérias patogênicas resistentes a antibióticos devido à indução da bacteriólise diferir completamente da ação destes; por ser hospedeiro-específico não há infecção de outras bactérias, não afetando assim a integridade de microbiota desejada; apresenta a capacidade de responder rapidamente a formação de fago-resistência do hospedeiro pelo fato dos bacteriófagos também apresentarem a capacidade de sofrer mutação; o custo de desenvolvimento de uma fagoterapia é mais barato que o de desenvolvimento de novos antimicrobianos; e porque os bacteriófagos não interagem com células eucarióticas, onde efeitos colaterais do seu uso são incomuns (8). Além disso, os bacteriófagos são onipresentes na natureza, sendo facilmente isolados na água e solo, como também em matéria orgânica quando presentes (4,9). Outro fator interessante é que seu cultivo laboratorial é fácil, pois sua cultura é baseada na manutenção da bactéria hospedeira por métodos microbiológicos tradicionais (8).

Na medicina veterinária, mas especificamente na área da avicultura, a fagoterapia se tornou uma opção para o controle de *Salmonella* (10) sendo que vários estudos foram recentemente realizados em aves. A fagoterapia contra *Salmonella* já foi testada em aves vivas por via oral (9,11,12), por aspersão e em água de bebida (13,14), em conjunto com produtos de exclusão competitiva (15) e também com probióticos (16). Em subprodutos de origem avícola já foi testada *in vitro* para desinfecção de pele (17) e também carcaça (18,19).

Nestes estudos, a maioria obteve resultados expressivos na redução da carga de *Salmonella*, porém apenas poucos atingiram a eliminação completa do agente. Especula-se informalmente que diversos fatores biológicos, químicos e físicos possam contribuir para o sucesso parcial dos estudos da fagoterapia contra *Salmonella*, mas o que chama a atenção em comum nestes estudos é a falta de informação e padronização geral sobre os critérios de escolha das cepas virais utilizadas. Partindo do princípio que o padrão ouro para escolha de amostras líticas para uso terapêutico é a capacidade de “limpar” placas (característica de virulência) com uma determinada cultura bacteriana específica, o presente artigo analisou a relação da virulência com outros três padrões de seleção de atividade fágica.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas sessenta e duas (62) amostras de bacteriófagos líticos oriundas de água de esgoto coletado da Estação de Tratamento de Esgoto de Rubião Júnior, município de Botucatu-SP, pertencente à Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo. Os bacteriófagos foram isolados utilizando-se uma cepa de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Enteritidis (SE) isolada de vísceras de aves matrizes e arquivada no Laboratório de Ornitopatologia, pertencente ao Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” *campus* Botucatu-SP, e sorotipada pelo Instituto Adolf Lutz, São Paulo-SP. A avaliação do potencial lítico foi realizada analisando-se os seguintes parâmetros: índice de proliferação (IP), tamanho de halo em gel difusão (HGD), espectro de halo em superfície (EHS) e escala de virulência (EV).

Proliferação e tamanho de halo em gel difusão

Para determinar o IP e o HGD utilizou-se a técnica de difusão em gel. O IP foi avaliado pela quantificação do valor da unidade formadora de placa (UFP). Primeiramente realizou-se diluição seriada de 100 µL das amostras de bacteriófagos em microtubos de polipropileno contendo 900 µL de solução salina fosfatada tamponada (PBS) de 1^{-1} a 1^{-15} , desprezando 100 µL do último microtubo. Paralelamente, em um tubo de ensaio diluiu-se 1 mL de um pré-cultivo de SE em TSB2x em 9 mL de PBS, obtendo-se uma solução de SE 1:9. Após as diluições adicionou-se o conteúdo de cada microtubo e 100 µL da solução SE 1:9 a tubos de ensaio contendo 3.5 mL de triptona de soja *soft* ágar (caldo triptona de soja acrescido com 0.6% de ágar) e, após rápida homogeneização do conteúdo, distribuiu-se em placa de Petri estéril mantido em repouso sob temperatura ambiente para solidificação. As placas de Petri foram incubadas a 40°C por 24 horas para realização da leitura. Para determinação da UFP considerou-se a menor diluição com números de halos contáveis. Com o auxílio de uma régua de precisão acrílica (Trident Indústria de Precisão Ltda, Itapuí, SP, Brasil) mensurou-se o espectro lítico formado na coluna do gel. Classificou-se para o estudo uma escala de três tamanhos distintos conforme o padrão de mensuração: pequeno (P) – amostras com menos de 1 mm de diâmetro; médio (M) – amostra com diâmetro entre 1-2 mm; e grande (G) – amostras com mais de 2 mm de diâmetro.

Espectro de halo em superfície e determinação de grau de virulência

Para ambas as avaliações empregaram-se a técnica *spot-on-lawn*. Com o auxílio de uma alça de Drigalski semeou-se 100 µL de uma solução turva de SE por toda superfície de uma placa de Petri contendo ágar triptona de soja. Após 10 minutos de repouso pingou-se 10 µL de solução de bacteriófago. Após um novo repouso incubou-se a 40°C por 24 horas para a leitura do teste. Com um paquímetro (Mitutoyo Sul Americana, Santo Amaro, SP, Brasil) fez-se a

mensuração do espectro lítico das amostras de bacteriófagos para determinar o EHS. Para graduar a virulência propusemos uma escala com três padrões conforme a transparência dos halos líticos: 1 – formação de halo lítico com crescimento massivo de SE; 2 – formação de halo com crescimento moderado de SE; e 3 – formação de halo sem crescimento de SE (Figura 1).

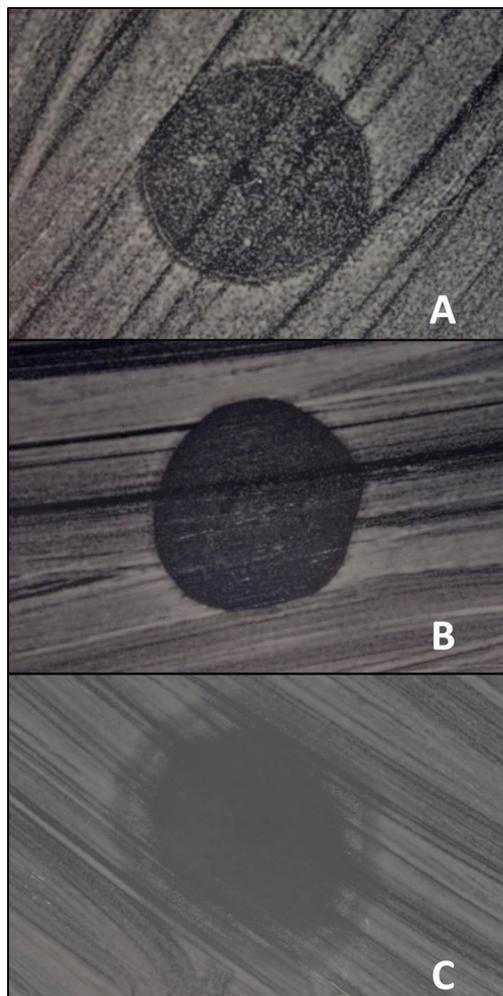


Figura 1. Graduação de virulência conforme a transparência dos halos líticos: A: Grau 1 – formação de halo lítico com crescimento massivo de SE; B: Grau 2 – formação de halo com crescimento moderado de SE; C: Grau 3 – formação de halo sem crescimento de SE.

Análise Estatística

Um modelo de Análise de Variância (PROC GLM, SAS Institute, 2009) foi construído para comparar o EHS entre as categorias de virulência. Devido a um desvio de normalidade, o teste de Kruskal-Wallis (PROC NPAR1WAY, SAS Institute, 2009) foi usado para comparar a IP mediana entre as categorias de virulência. O teste de Fisher (PROC FREQ, SAS Institute, 2009) foi usado para testar a associação entre o tamanho (P, M, ou G) e as categorias de virulência (1, 2, ou 3). Um modelo de regressão linear (PROC GLM, SAS Institute, 2009) foi usado para avaliar o efeito do IP e virulência no EHS.

RESULTADOS

Os resultados obtidos nas avaliações realizadas estão expressos na Tabela 1. Do total de amostras isoladas não houve predominância de tamanho no teste HGD, sendo que 32,25% das amostras eram do tipo S (20/62), 32,25% do tipo M (20/62) e 35,5% do tipo L (22/62). Quando se relacionou os tipos de tamanho de placas no HGD com o grau de virulência, observou-se que 55,5% das amostras (35/62) tinham virulência tipo 1, 21% (13/62) tipo 2 e 14% tipo 3 (Figura 2). Não houve associação significativa entre HGD e grau de virulência ($P=0.12$), porém observou-se que há uma tendência biológica crescente na escala de virulência das amostras tipo M, decrescente nas amostras tipo P e que amostras tipo G tenham predominância de virulência grau 1 ou 3 (Figura 3).

Tabela 1. Resultados dos testes aplicados em 62 amostras de bacteriófagos isolados de esgoto hospitalar humano. UFP: unidade formadora de placa, EV: escala de virulência, HGD: tamanho de halo em gel difusão, EHS: espectro de halo em superfície, S: small, M: moderate, L: large

Amostras	HGD	UFP	EV	EHS	Amostras	HGD	UFP	EV	EHS
1	M	$2,1 \times 10^{-7}$	1	9	32	S	$2,6 \times 10^{-13}$	3	13
2	M	4×10^{-7}	3	8	33	L	$5,7 \times 10^{-11}$	1	12
3	M	$9,9 \times 10^{-7}$	3	8	34	S	$2,3 \times 10^{-10}$	1	8
4	M	$1,2 \times 10^{-8}$	3	9	35	M	1×10^{-12}	3	9
5	M	$6,7 \times 10^{-7}$	2	9	36	M	$1,5 \times 10^{-11}$	2	12
6	M	$3,1 \times 10^{-7}$	2	8	37	M	$3,7 \times 10^{-10}$	3	12
7	M	$1,7 \times 10^{-8}$	2	9	38	M	$1,7 \times 10^{-10}$	3	11
8	M	$4,2 \times 10^{-7}$	3	8	39	L	$1,2 \times 10^{-9}$	3	13
9	M	$1,8 \times 10^{-8}$	1	7	40	S	7×10^{-10}	2	11
10	S	$1,4 \times 10^{-7}$	1	9	41	S	$2,6 \times 10^{-12}$	3	11
11	S	$1,9 \times 10^{-8}$	2	8	42	S	$8,2 \times 10^{-12}$	2	9
12	S	$1,6 \times 10^{-8}$	2	8	43	S	$2,3 \times 10^{-12}$	2	14
13	S	$5,2 \times 10^{-7}$	1	8	44	L	$3,3 \times 10^{-10}$	3	11
14	S	$1,9 \times 10^{-8}$	3	9	45	L	$3,7 \times 10^{-11}$	2	14
15	S	$1,7 \times 10^{-7}$	3	9	46	L	$5,1 \times 10^{-11}$	1	12
16	S	$3,3 \times 10^{-7}$	2	8	47	S	$4,1 \times 10^{-10}$	3	9
17	S	$3,1 \times 10^{-12}$	2	8	48	L	$2,2 \times 10^{-12}$	1	12
18	S	$4,2 \times 10^{-11}$	3	8	49	S	$2,8 \times 10^{-11}$	1	8
19	S	$3,6 \times 10^{-10}$	3	9	50	S	$1,2 \times 10^{-10}$	1	8
20	S	$1,1 \times 10^{-10}$	1	9	51	S	$2,4 \times 10^{-11}$	2	9
21	S	$5,2 \times 10^{-7}$	2	8	52	S	5×10^{-10}	1	8
22	S	7×10^{-11}	2	8	53	S	$2,3 \times 10^{-11}$	1	8
23	S	$1,4 \times 10^{-12}$	2	7	54	S	8×10^{-10}	1	8
24	S	$1,3 \times 10^{-13}$	1	8	55	L	$2,5 \times 10^{-11}$	3	10
25	S	$4,8 \times 10^{-11}$	1	9	56	L	1×10^{-9}	3	7
26	S	$3,3 \times 10^{-13}$	2	12	57	L	$2,3 \times 10^{-10}$	1	7
27	S	$1,6 \times 10^{-12}$	2	12	58	L	$1,2 \times 10^{-10}$	1	7
28	S	$4,8 \times 10^{-12}$	3	10	59	L	$1,4 \times 10^{-10}$	2	7
29	S	$3,2 \times 10^{-12}$	1	9	60	L	$2,1 \times 10^{-11}$	3	6
30	S	$3,6 \times 10^{-12}$	1	9	61	L	$1,9 \times 10^{-10}$	3	9
31	S	$3,7 \times 10^{-11}$	2	9	62	L	$4,6 \times 10^{-9}$	3	10

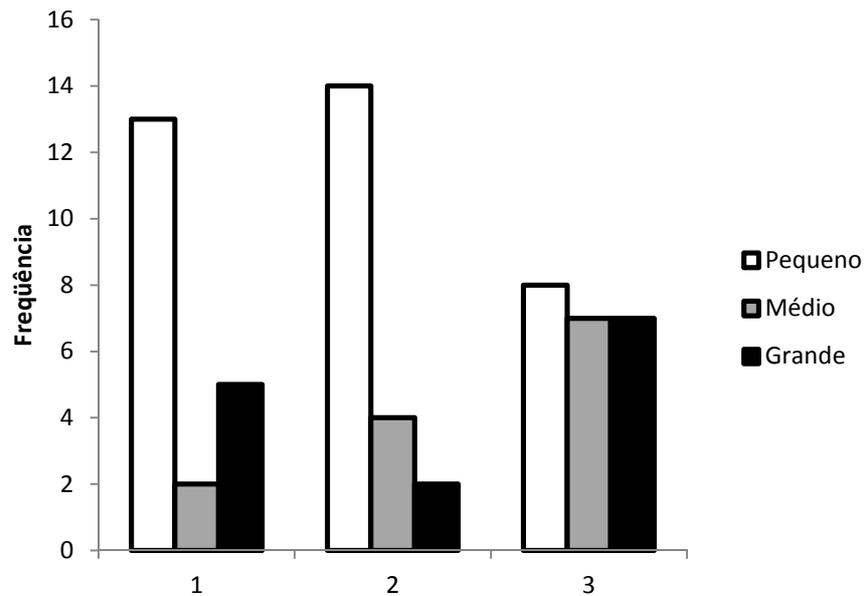


Figura 2. Distribuição da escala de virulência por categoria de tamanho; Fisher's test ($P=0.12$).

Ao relacionar virulência com índice de proliferação houve uma distribuição uniforme, não havendo diferença estatística entre as médias de UFP quando agrupados por grau de virulência ($P=0.61$) (Figura 4), como também não houve relação de EHS com a virulência ($P=0.34$) (Figure 5). No entanto encontrou-se uma relação entre IP e EHS ($P=0.003$), na qual independente de virulência e tamanho em HGD ($P=0.19$), quanto maior for a UFP, maior o EHS (Figure 6).

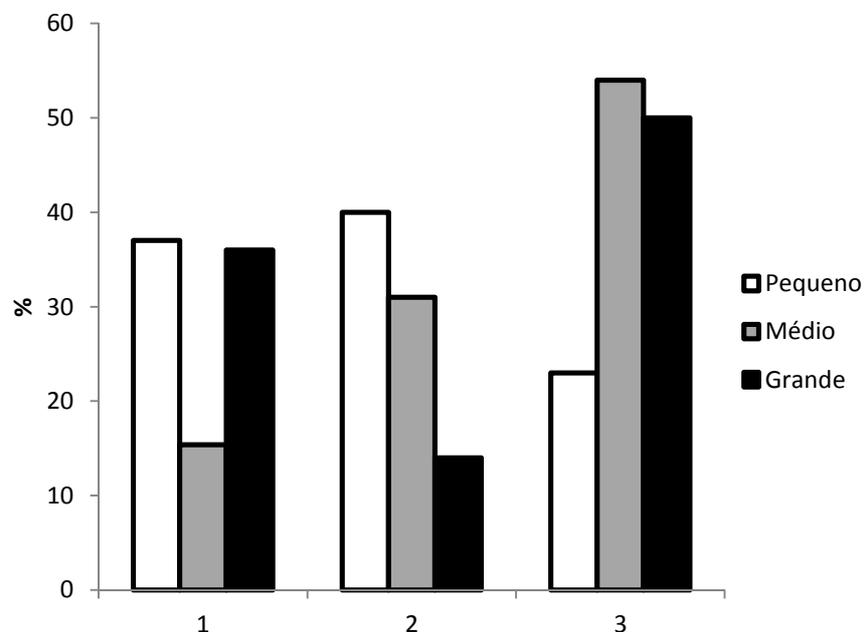


Figura 3. Distribuição percentual da escala de virulência com as categorias de tamanho dos bacteriófagos estudados;

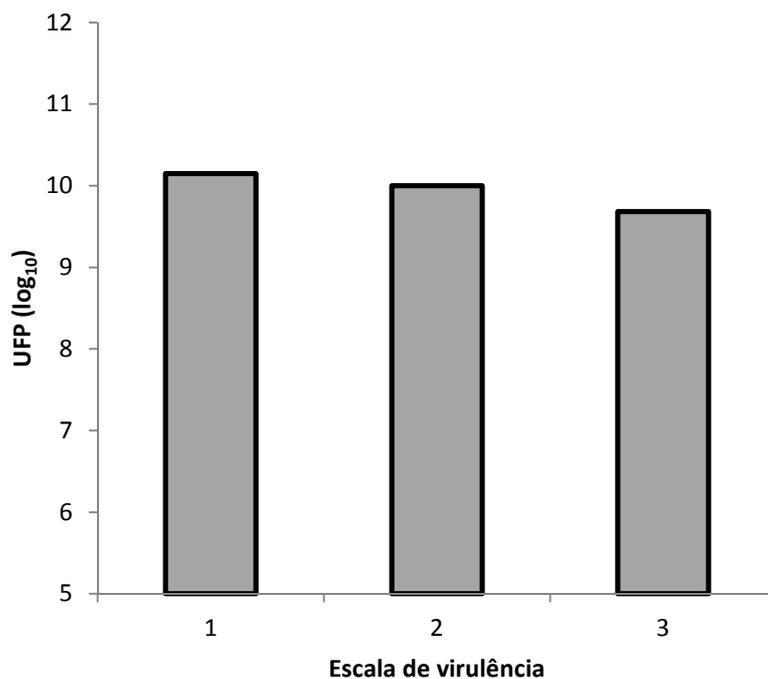


Figure 4. Relação entre índice de proliferação vs escala de virulência; Kruskal-Wallis test ($P=0.61$).

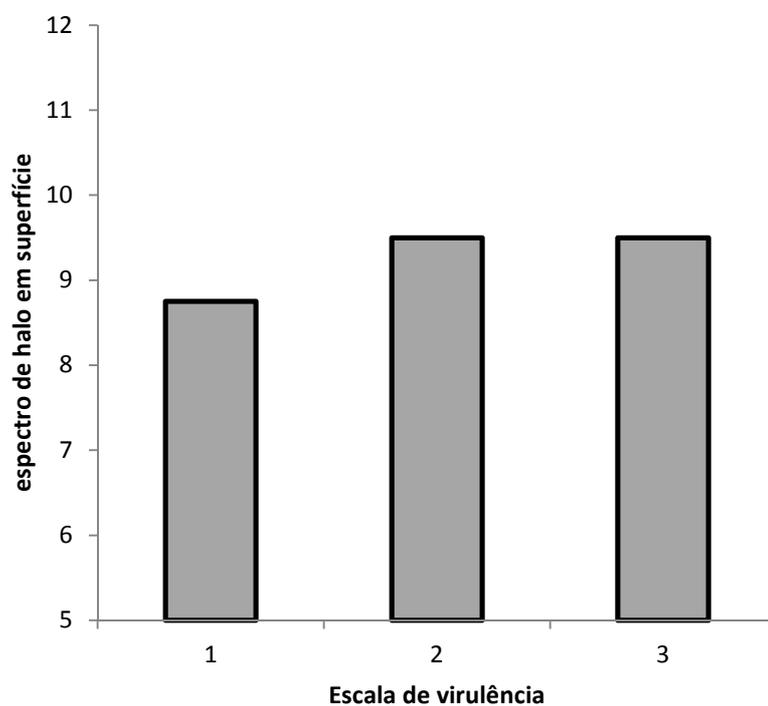


Figura 5. Relação entre espectro de halo em superfície vs escala de virulência; Análise de variância ($P=0.34$).

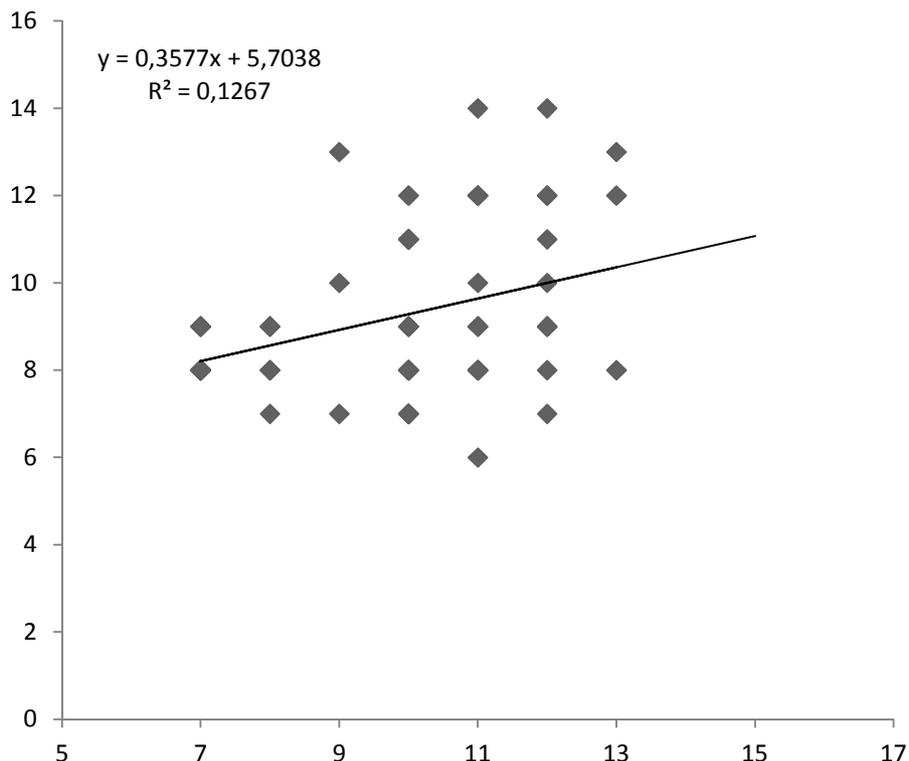


Figure 6. Gráfico de dispersão relacionando espectro de halo em superfície (EHS) vs índice de proliferação. Eixo Y: EHS (mm), Axis X: Log10. Linha sólida indica a linha de tendência simples quando comparada aos pontos dispersos.

DISCUSSÃO

Conforme Bull et al. (20), o ciclo lítico dos bacteriófagos é dividido em três fases. A primeira fase é a de dispersão, que é relativa à liberação de fagos no ambiente por um hospedeiro no intuito da infecção de novos hospedeiros, onde a dispersão é afetada diretamente pelos índices de adsorção dos fagos e hospedeiros no ambiente. A segunda fase é a juvenil, que inicia com o momento da infecção e termina quando as primeiras partículas fágicas infectantes são criadas no interior do hospedeiro. O período deste intervalo é dependente do índice de expressão do genoma fágico, que é determinado pela combinação do estado fisiológico da célula hospedeira e o genoma do fago. A terceira fase é a adulta, que inicia com o surgimento das primeiras partículas fágicas infectantes e termina com o rompimento da célula hospedeira (lise). Durante este período o número de partículas fágicas infectantes dentro da célula aumenta gradativamente. O acúmulo de partículas fágicas é linear até o término deste período, sendo suprimido após a lise (21). Além disso, o declive de aumento linear das partículas fágicas variam entre as espécies de fagos, como também conforme o estado fisiológico da célula hospedeira (22).

Mediante tais informações e conforme nossa observação compreendeu-se que a virulência demonstrada *in vitro* por amostras líticas é relativa à capacidade de adsorção e ao tempo curto de replicação (ou como os autores denominaram: expressão de genoma fágico). Logo, supomos que a classificação proposta de virulência nível 3 possivelmente refere-se a amostras de alta capacidade de adsorção e com um tempo curto de replicação; a virulência nível 2 seja relativa a uma baixa capacidade de adsorção ou a um tempo de replicação longo; e a virulência nível 1 sejam amostras de baixa capacidade de adsorção com um tempo longo

de replicação. Isso fica claro ao observarmos que existem amostras com UFP alta e virulência 1 (ex. amostra 33; ver Tabela 1) e também amostras de UFP baixa com virulência 3 (ex. amostra 8).

Os exemplos citados também representam que a quantidade de replicação e escala em HGD não influencia na virulência, onde inclusive observou-se uma distribuição homogênea entre os tamanhos (P, M, G) e os níveis de virulência, sendo que as amostras de tamanho P tenderam a apresentar numericamente uma virulência nível 1, mas presumimos que isso seja relativo a população por nós avaliada, podendo variar em outros estudos populacionais.

Apesar da virulência não estar relacionada com os fatores estudados verificou-se que os índices de proliferação influenciam no espectro de ação lítica, onde quanto maior o UFC maior o diâmetro de abrangência lítica.

Os testes utilizados neste estudo são relativamente simples e apresentam um custo relativamente baixo, o que facilita a sua utilização em qualquer laboratório de microbiologia (do mais simples ao mais avançado), podem ser utilizados como testes de triagem inicial em estudos com bacteriófagos nas áreas médicas e agrárias.

Por fim concluímos que espectro de atividade lítica, tamanho de halo em gel difusão e proliferação são fatores independentes de virulência, porém amostras prolíferas apresentam maior espectro de atividade lítica, logo, amostras com essas características associadas com alta virulência apresentam um potencial desejado para um possível uso terapêutico.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP (Projeto FAPESP nº 2010/50.385-0).

REFERÊNCIAS

1. Bier O. Microbiologia e Imunologia. 23a ed. São Paulo: Melhoramentos; 1984.
2. Dublanchet A, Fruciano E. Brève histoire de la phagothérapie. *Med Mal Infect.* 2008;38:415-20.
3. Mayr A, Guerreiro MG. Virologia Veterinária. 2a ed. Porto Alegre: Sulina; 1981.
4. Rohwer F, Edwards R. The phage proteomic tree: a genome-based taxonomy for phage. *J Bacteriol.* 2002;184:4529-35.
5. Barrow PA, Soothill JS. Bacteriophage therapy and prophylaxis: rediscovery and renewed assessment of potential. *Trends Microbiol.* 1997;5:268-71.
6. Skurnik M, Strauch E. Phage therapy: facts and fiction. *Int J Med Microbiol.* 2006;296:5-14.
7. Matthey M, Spencer J. Bacteriophage therapy - cooked goose or Phoenix rising? *Curr Opin Biotechnol.* 2008;9:608-12.
8. Matsuzaki S, Rashel M, Uchiyama J, Sakurai S, Ujihara T, Kuroda M, et al. Bacteriophage therapy: a revitalized therapy against bacterial infectious diseases. *J Infect Chemother.* 2005;11:211-19.

9. Andreatti Filho RL, Higgins JP, Higgins SE, Gaona G, Wolfenden AD, Tellez G, et al. Ability of bacteriophages isolated from different sources to reduce *Salmonella enterica* serovar enteritidis in vitro and in vivo. *Poult Sci.* 2007;86:1904-09.
10. Marietto-Gonçalves GA, Lima ET, Donato TC, Rocha TS, Cisneros Álvarez LE, Sequeira JL, et al. Eradication of *Salmonella typhimurium* in broiler chicks by combined use of P22 bacteriophage and probiotic. *Microbiol Res.* 2011;3:4-9.
11. Fiorentin L, Vieira ND, Barioni Júnior W. Oral treatment with bacteriophages reduces the concentration of *Salmonella enteritidis* PT4 in caecal contents of broilers. *Avian Pathol.* 2005;34:258-63.
12. Atterbury RJ, Van Bergen MAP, Ortiz F, Lovell MA, Harris JA, De Boer A, et al. Bacteriophage therapy to reduce *Salmonella* colonization of broiler chickens. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73:4543-49.
13. Borie C, Albala I, Sánchez P, Sánchez ML, Ramírez S, Navarro C, et al. Bacteriophage treatment reduces *Salmonella* colonization of infected chickens. *Avian Dis.* 2008;52:64-7.
14. Borie C, Sánchez ML, Navarro C, Ramírez S, Morales MA, Retamales AJ, et al. Aerosol spray treatment with bacteriophages and competitive exclusion reduces *Salmonella enteritidis* infection in chickens. *Avian Dis.* 2009;53:250-4.
15. Toro H, Price SB, McKee AS, Hoerr FJ, Krehling J, Perdue M, et al. Use of bacteriophages in combination with competitive exclusion to reduce *Salmonella* from infected chickens. *Avian Dis.* 2005;49:118-24.
16. Marietto Gonçalves GA, Andreatti Filho RL. Fagoterapia: uma opção de controle biológico para a salmonelose aviária. *Rev Educ Contin Med Vet Zootec. CRMV-SP.* 2012;10:6-13.
17. Goode D, Allen VM, Barrow PA. Reduction of experimental *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of chicken skin by application of lytic bacteriophages. *Appl Environ Microbiol.* 2003;69:5032-6.
18. Higgins JP, Higgins SE, Guenther KL, Huff W, Donoghue AM, Donoghue DJ, et al. Use of a specific bacteriophage treatment to reduce *Salmonella* in poultry products. *Poult Sci.* 2005;84:1141-5.
19. Bielke LR, Higgins SE, Donoghue AM, Donoghue DJ, Hargis BM, Tellez G. Use of wide-host-range bacteriophages to reduce *Salmonella* on poultry products. *Int J Poult Sci.* 2007;6:754-7.
20. Bull JJ, Pfennig DW, Wang I-N. Genetic detail, optimization and phage life histories. *Int J Poult Sci.* 2004;19:76-82.
21. Wang IN, Dykhuizen DE, Slobodkin LB. The evolution of phage lysis timing. *Evol Ecol.* 1996;10:545-58.

22. Abedon ST, Herschler TD, Stopar D. Bacteriophage latent-period evolution as a response to resource availability. *Appl Environ Microbiol.* 2001;67:4233-41.

Recebido em: 03/03/2013

Aceito em: 09/02/2015

OCORRÊNCIA E ASPECTOS MACRO E MICROSCÓPICOS DA MUCOMETRA EM CADELAS

Lucien Roberta Valente Miranda de Aguirra¹
Washington Luiz Assunção Pereira¹
Eduardo Henrique Marsolla²

RESUMO

A mucometra é uma alteração não inflamatória que afeta o útero por meio do acúmulo de fluido estéril no lúmen uterino. O presente trabalho objetivou relatar a ocorrência de mucometra em cadelas, bem como descrever seus aspectos macroscópicos e microscópicos. Foram utilizados 100 úteros de cadelas procedentes de ovário-histerectomia (OSH) de conveniência. As peças foram fixadas inteiras em formaldeído a 10% tamponado por 48 horas. Posteriormente, amostras de 3 a 5 mm de espessura foram selecionadas dos cornos uterinos, seguindo-se ao processamento histológico de rotina, com os cortes corados com Hematoxilina e Eosina. Os animais deste estudo foram classificados segundo a faixa etária, o número de partos e o uso de contraceptivos. Os dados obtidos foram tabulados e analisados estatisticamente por meio de análise descritiva e teste Qui-quadrado, com nível de significância de 5%. A mucometra foi observada em 9% (9/100) dos úteros analisados. As cadelas acima de seis meses e menor ou igual a três anos (66,67%), nulíparas (88,89%) e que fizeram uso de contraceptivos (66,67%) foram mais acometidas por mucometra. Macroscopicamente, os úteros mostraram variável distensão dos cornos, conferindo irregularidade ao órgão. Ao corte observou-se a presença de fluido mucoso e de coloração clara ou acinzentada. Ao exame histopatológico, o perimétrio e o miométrio estavam normais. Em alguns casos o endométrio estava atrofiado e, em todos os casos, as glândulas endometriais estavam distendidas e muitas delas eram císticas, apresentando ou não hiperplasia do epitélio. No lúmen glandular foi observado material homogêneo basofílico e células descamadas. Conclui-se que a mucometra é uma alteração patológica com baixa incidência em cadelas, que causa irregularidade na superfície uterina e destruição do endométrio.

Palavras-chave: canino, útero, patologia, mucometra.

OCCURRENCE AND MACRO AND MICROSCOPIC ASPECTS OF MUCOMETRA IN BITCHES

ABSTRACT

The mucometra is a non-inflammatory change that affects the uterus through the accumulation of sterile fluid in the uterine lumen. This study aimed to report the occurrence of mucometra in bitches, as well as describe their macroscopic and microscopic aspects. Were used 100 uterus of bitches coming from ovariohysterectomy (OHE) of convenience. The pieces were fixed whole in 10% buffered formaldehyde for 48 hours. Subsequently, samples 3-5 mm thickness of the uterine horns were selected, followed by routine histology, with slides stained with hematoxylin and eosin. The animals in this study were classified according to age, the number of births and the use of contraceptives. Data were statistically analyzed using descriptive and chi-square analysis with level of significance of 5%. The mucometra

¹ Universidade Federal Rural da Amazônia. Contato principal para correspondência.

² Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos

was observed in 9% (9/100) of uteri examined. Bitches over six months and less than or equal to three years (66.67%), nulliparous (88.89%) and who used contraceptives (66.67%) were the most affected by mucometra. Grossly, the uterus showed variable distension of the horns, giving irregularity to the organ. When cut, it was observed the presence of mucous or fluid and light gray color. Histopathology, the perimetrium and myometrium were normal. In some cases, the endometrium was atrophied and in all cases the endometrial glands were distended and many cystic, either with or without hyperplasia of the epithelium. In the glandular lumen was observed homogeneous material and basophilic squamous cells. We concluded that the mucometra is a pathological change with low incidence in female dogs, which causes irregularity in the uterine lining and destruction of the endometrial mucosa.

Keywords: canine, uterus, pathology, mucometra.

OCURRENCIA Y LOS ASPECTOS MACRO Y MICROSCÓPICOS DE MUCOMETRA EN PERRAS

RESUMEN

La mucometra es un cambio no inflamatoria que afecta el útero a través de la acumulación de fluido estéril en el lumen uterino. Este estudio tuvo como objetivo informar sobre la existencia de mucometra en las perras, así como la descripción de sus aspectos macroscópicos y microscópicos. Se utilizaron 100 úteros de hembras procedentes de ovariectomía (OHT) de conveniencia. Las piezas fueron fijadas toda en formaldehído tamponado en 10 % durante 48 horas. Posteriormente, las muestras de 3-5 mm de espesor fueron seleccionados de los cuernos uterinos, seguido por el procesamiento histológico de rutina, con las secciones teñidas con hematoxilina y eosina. Los animales de este estudio fueron clasificados de acuerdo a la edad, el número de nacimientos y el uso de anticonceptivos. Los datos fueron analizados estadísticamente mediante análisis descriptivo y la prueba de X-cuadrado en nivel de significación del 5 %. La mucometra se observó en 9% (9/ 100) de los úteros examinados. Perras con más de seis meses y menores o iguales a tres años (66,67 %), nulíparas (88,89 %) y las que usaban anticonceptivos (66,67 %) fueron las más afectadas por mucometra. Macroscópicamente, los úteros mostraron distensión variable de los cuernos, dando irregularidad al órgano. Al corte, se observó la presencia de color gris y mucosidad fluida. Histopatología, el perimetrio y miometrio fueron normales. En algunos casos, el endometrio se atrofia y en todos los casos las glándulas endometriales eran distendidas y muchas eran quísticas, ya sea con o sin hiperplasia del epitelio. En el lumen glandular se observó material homogéneo basofílico y células escamosas. Llegamos a la conclusión que la mucometra es un cambio patológico con baja incidencia en perras, lo que provoca irregularidad en el revestimiento del útero y destrucción de la mucosa endometrial.

Palabras clave: canino, útero, patología, mucometra.

INTRODUÇÃO

A mucometra é uma alteração não inflamatória que afeta o útero por meio do acúmulo de fluido estéril no lúmen uterino, acometendo ocasionalmente a cadela (1).

A etiologia da mucometra ainda é pouco esclarecida, todavia a progesterona foi reportada por Smith (2) como fator desencadeante dessa alteração. Enquanto Payan Carrera et al. (3) referiram que a presença de um tumor de células da granulosa em um dos ovários de uma cadela possa ter originado hidrometra. Além disso, Bolatti et al. (4) afirmaram que a estimulação crônica dos receptores de estrogênio desencadeia a produção e o acúmulo de

fluido no lúmen uterino e que o uso de contraceptivos pode estar relacionado a essa estimulação.

A mucometra normalmente é observada nas fases iniciais da hiperplasia endometrial cística (HEC), porém pode estar associada a outras alterações como a piometra (5) e a aplasia de corno uterino (6). O fluido acumulado no lúmen uterino pode causar distensão do órgão, além de proporcionar um meio de cultura para o crescimento de bactérias e desenvolvimento de uma endometrite (7,8).

Os sinais clínicos referentes à mucometra são pouco evidentes ou ausentes, contudo a infertilidade e o aumento do volume uterino podem ser observados. Apesar dessas alterações por si só não serem fatais, seu diagnóstico deve ser obtido no menor tempo possível evitando uma proliferação bacteriana no fluido. O tratamento mais utilizado é a OSH terapêutica (1).

O diagnóstico deve ser baseado em exames físicos e complementares, como a ultrassonografia, radiografia, citologia e histopatologia, que auxiliem na diferenciação entre mucometra, hidrometra e outras afecções semelhantes (1,5,9).

O presente trabalho objetivou relatar a ocorrência de mucometra em cadelas, bem como descrever seus aspectos macroscópicos e microscópicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 100 úteros de cadelas selecionadas aleatoriamente, oriundas do projeto de extensão “Vida Digna” da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), que realiza OSH gratuita em caninos na faixa etária de seis meses a seis anos de idade e que apresentem bom estado de saúde aparente.

Os animais foram classificados segundo a faixa etária (animais > 6 meses a \leq 3 anos e animais > 3 anos a \leq 6 anos), o número de partos (nulíparas e pluríparas) e o uso de contraceptivos (sim e não).

Os úteros procedentes de OSH foram obtidos do Hospital Veterinário Prof^o Mário Teixeira (HOVET-UFRA). Após colheita, os mesmos foram encaminhados ao Laboratório de Patologia Animal (LABOPAT/UFRA), onde foram limpos em água corrente com posterior remoção do ligamento largo.

As peças foram acomodadas e fixadas inteiras em recipiente de polietileno com tampa, contendo solução de formaldeído a 10% tamponado, por período de 48 horas. Posteriormente, foram selecionadas amostras por meio de cortes longitudinais de 3 a 5 mm de espessura das regiões cranial, medial e caudal dos cornos uterinos, seguindo-se ao processamento histológico segundo a técnica de rotina descrita por Tolosa et al. (10), com os cortes histológicos corados com Hematoxilina e Eosina (HE).

Os dados obtidos foram tabulados e analisados estatisticamente por meio de análise descritiva e teste Qui-quadrado, com auxílio do programa SAS (Statistical Analysis System, SAS 9.1, SAS Institute, Cary, NC, USA), com nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos úteros analisados 9% (9/100) apresentaram mucometra. Na literatura pesquisada não foram observados trabalhos que indiquem a incidência dessa alteração uterina em cadelas, contudo, o resultado obtido no presente estudo demonstra uma baixa ocorrência desse processo patológico na referida espécie.

As cadelas acima de seis meses e menor ou igual a três anos (66,67%), nulíparas (88,89%) e que fizeram uso de contraceptivos (66,67%) foram mais acometidas por mucometra (Tabela 1), havendo diferença estatística significativa entre a faixa etária e o número de partos. Essa enfermidade, em cadelas, possui literatura escassa em relação à idade, número de partos e uso de contraceptivos. Deste modo, Pena et al. (11) relataram um caso de

mucometra em cadela de seis anos. Pretzer (1) cita que fêmeas intactas são mais predispostas a desenvolver mucometra e Mendonça et al. (12) relataram que o uso de contraceptivos em cadelas pode levar ao desenvolvimento dessa lesão uterina.

Tabela 1. Frequência dos casos de mucometra em relação à faixa etária, número de partos e uso de contraceptivos em cadelas.

Variáveis*	Cadelas	
Idade	n	%
> 6 m e ≤ 3 anos	6	66,67 ^a
> 3 anos e ≤ 6 anos	3	33,33 ^b
Total	9	100,00
Número de Partos		
Nulíparas	8	88,89 ^a
Pluríparas	1	11,11 ^b
Total	9	100,00
Uso de contraceptivos		
Não	3	33,33 ^a
Sim	6	66,67 ^a
Total	9	100,00

n = número de animais; % = percentagem de animais.

*Percentagem de animais quando relacionadas a idade, número de partos e uso de contraceptivos seguidos de letras minúsculas diferentes diferiram significativamente pelo teste de Qui-quadrado ($p < 0,05$).

Macroscopicamente, os úteros mostraram variável distensão dos cornos, conferindo irregularidade ao órgão (Figura 1A). Ao corte observou-se a presença de fluido mucoso e de coloração clara ou acinzentada (Figura 1B), conforme também observado por alguns autores (7,13,14). Enquanto outros autores relatam acúmulo de fluido mucoso de coloração marrom (6,15). Em todos os casos do presente estudo a mucometra estava associada a HEC.



Figura 1. Mucometra em útero de cadela. **A** - Órgão aumentado de tamanho e de formato irregular. **B** - Superfície de corte do corno uterino mostrando conteúdo intraluminal mucoso de coloração esbranquiçada (*).

Ao exame histopatológico, o perimétrio e o miométrio estavam normais. Em alguns casos o endométrio estava atrofiado e, em todos os casos, as glândulas endometriais estavam

distendidas e muitas císticas, apresentando ou não hiperplasia do epitélio. No lúmen glandular foi observado material homogêneo basofílico (muco) e debris celulares (Figura 2A e 2B). Estas descrições assemelham-se com os achados de Hatipoglu et al. (13) que citam ainda edema da lâmina própria, fato não observado neste estudo.

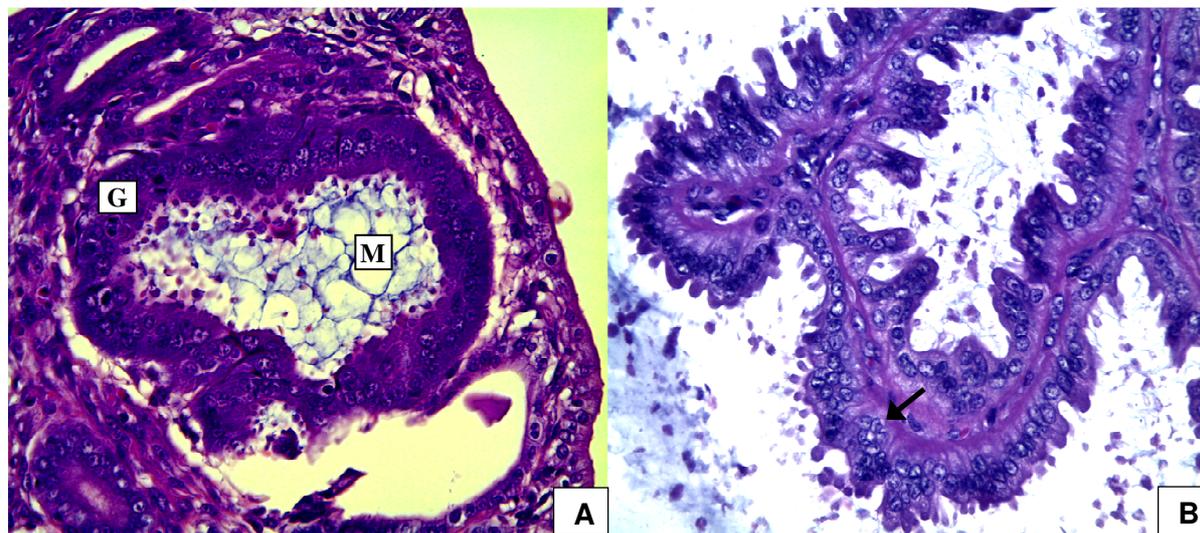


Figura 2. Mucometra em útero de cadela. A - Glândula endometrial (G) contendo muco (M). B - Hiperplasia do endométrio (seta) e presença de debris celulares e muco no lúmen glandular. HE, Obj. 40x.

CONCLUSÃO

A mucometra é uma alteração patológica com baixa incidência em cadelas, que pode prejudicar a reprodução e causar transtornos sistêmicos no animal pela possibilidade de proliferação bacteriana no conteúdo mucoso uterino (piometrite), além de causar destruição da mucosa endometrial, que poderia resultar em infertilidade.

REFERÊNCIAS

1. Pretzer SD. Clinical presentation of canine piometra and mucometra: A review. *Theriogenology*. 2008;70(3):59-363.
2. Smith MC. Anestrus, pseudopregnancy and cystic follicles. In: Morrow DA. *Current Therapy in Theriogenology*. Philadelphia: WB Saunders Company; 1986. p.585-6.
3. Payan-Carreira R, Pina J, Costa M, Seixas F, Pires MA. Oestrogen receptors in a case of hydrometra in a bitch. *Vet Rec*. 2006;58(14):487-9.
4. Bolatti B, Castagnaro M, Bollo E, Aprino S. Genital lesions following long-term administration of clenbuterol in female. *Vet Pathol*. 1994;31(1):82-92.
5. Verstegen J, Dhaliwal G, Verstegen-Onclin K. Mucometra, cystic endometrial hyperplasia and pyometra in the bitch: Advances in treatment and assessment of future reproductive success. *Theriogenology*. 2008;70(3):364-74.

6. Schulman ML, Bolton LA. Uterine horn aplasia with complications in two mixed-breed bitches. *J S Afr Vet Assoc.* 1997;68(4):150-3.
7. Johnston SD, Root Kustritz MV, Olson PN. Disorders of the feline uterus and uterine tubes. In: *Canine and Feline Theriogenology.* Philadelphia: WB Saunders Company; 2001. p.463-71.
8. Payan Carreira RP, Pires MA. Hiperplasia quística do endométrio em cadelas: Artigo de revisão. *Ver Port Cienc Vet.* 2005;100:5-16.
9. Ackerman N. Radiographic evaluation of the uterus: a review. *Vet Radiol Ultrasound.* 1981;22(6):252-5.
10. Tolosa EMC, Behmer AO, Freitas-Neto AG. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. Barueri: Manole; 2003.
11. Pena FJ, Gines JA, Duque J, Vieitez V, Martinez-Perez R, Madejon L, et al. Endometrial Adenocarcinoma and Mucometra in a 6-year-old Alaska Malamute Dog. *Reprod Domest Anim.* 2006;41(2):189-90.
12. Mendonça FS, Evêncio-Neto J, Baratella-Evêncio L, Simões MJ. Aspectos histopatológicos do útero de ratas utilizadas como modelo experimental de endometrite. *Rev Bras Saúde Prod An.* 2006;7(1):47-56.
13. Hatipoglu F, Kiran MM, Ortatatlı M, Erer H, Çiftçi MK. An abattoir study of genital pathology in cows: I. Ovary and oviduct. *Revue Méd Vét.* 2002;153(1):29-33.
14. Azawi OI, Ali AJ, Lazim EH. Pathological and anatomical abnormalities affecting buffalo cows reproductive tracts in Mosul. *Iraqi J Vet Sci.* 2008;22(2):59-67.
15. Sapierzynski RA, Dolka I, Cywinska A. Multiple pathologies of the feline uterus: a case report. *Vet Med.* 2009;52(7):345-50.

Recebido em: 09/02/2014

Aceito em: 11/03/2015

FAUNA DE MORCEGOS (MAMMALIA, CHIROPTERA) E A OCORRÊNCIA DE VÍRUS DA RAIVA NA CIDADE DE SÃO PAULO, BRASIL.

Marilene Fernandes de Almeida¹
Adriana Ruckert da Rosa²
Miriam Martos Sodré²
Luzia Fátima Alves Martorelli³
José Trezza Netto³

RESUMO

Os morcegos constituem o segundo maior grupo e os mais versáteis dentre os mamíferos na exploração de alimento e abrigo. No Brasil são registradas 167 espécies, a maioria (70%) possui hábito alimentar insetívoro e os demais distribuídos entre frugívoros, nectarívoros, hematófagos, carnívoros, onívoros e piscívoros. Os que vivem em áreas urbanas são amplamente favorecidos por encontrar nas cidades abrigo e alimento. Utilizam com frequência as habitações humanas como abrigos diurnos e, por isso, já são considerados animais sinantrópicos. Esta proximidade com pessoas e/ou seus animais de estimação pode acarretar riscos de ocorrência de raiva. O Centro de Controle de Zoonoses da cidade de São Paulo (CCZ-SP) mantém um serviço que atente a população sobre problemas relacionados a morcegos e um laboratório de diagnóstico de raiva para realizar testes através de Imunofluorescência Direta e inoculação em camundongos em todos os morcegos coletados. O objetivo desse artigo é apresentar e analisar os dados do atendimento ocorrido entre 2004 e 2013. Nesse período foram atendidas 6945 solicitações e 4248 morcegos de 43 diferentes espécies foram capturados no município de São Paulo. Destes, 38 foram diagnosticados positivos para raiva, sendo 33 insetívoros, quatro frugívoros e um nectarívoro. A maioria destes animais foi encontrada em situações atípicas e em horários e locais não habituais para a espécie. Ações de educação continuada para esclarecimento da população sobre a importância dos morcegos para eliminar os mitos que os cercam são necessárias para estimular a convivência harmoniosa entre as pessoas e esses animais. Orientações técnicas sobre medidas preventivas que evitem ou eliminem seu abrigo em edificações, são fundamentais para diminuir o risco de acidentes às pessoas.

Palavras-chave: morcego, área urbana, sinantropia, raiva.

BAT (MAMMALIA, CHIROPTERA) SURVEY AND RABIES VIRUS OCCURRENCE IN SÃO PAULO CITY, BRAZIL.

ABSTRACT

Bats are the second largest group of mammals and the most versatile of them, the diversity in their diets is not found in any other kind of mammals. Brazil holds 167 species, most has insectivorous feeding habits (70%) and the other species are distributed in frugivorous, nectarivorous, hematophagous, omnivorous and piscivorous. Bats that live in urban areas are widely favored by the large supply of food and shelter present in big cities. The human

¹ Mestre e Doutor em Ciências - Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo. Centro de Controle de Zoonoses da Cidade de São Paulo. Contato principal para correspondência

² Centro de Controle de Zoonoses da Cidade de São Paulo Setor de Quirópteros. Subgerência de Vigilância, Prevenção e Controle da Fauna Sinantrópica. Coordenação de Vigilância em Saúde - COVISA. Secretaria Municipal de Saúde - SMS.

³ Centro de Controle de Zoonoses da Cidade de São Paulo. Laboratório de Raiva. Subgerência Laboratório de Zoonoses e Doenças Transmitidas por Vetores. Coordenação de Vigilância em Saúde - COVISA. Secretaria Municipal de Saúde - SMS

buildings are often used by these species as day roost and the easy adaptation makes bats synanthropic animals. The proximity to people and also domestic animals may represent risk of rabies transmission. The Center for Zoonosis Control in São Paulo maintains a service to attend the population that claim having problems caused by bats and a rabies laboratory that performed diagnosis by Direct Fluorescent and Mouse Inoculation tests in all bats collected. This paper presents and analysis attendance data as well as the rabies diagnosis for the period between 2004 and 2013. In this period 6945 requests were made and 4248 bats from 43 different species were captured in São Paulo City. Rabies virus was isolated in 38 bats: 33 insectivorous, four frugivorous and one nectarivorous. As for the location where positive bats were captured, most of them were found in atypical situation for their species. Programs of continuing education, aiming at instructing the population on the importance of bats and demystifying the common sense for the bats among people, as well as a technical guidance and support are necessary to stimulate the harmonious coexistence between people and these animals. Preventive measures to avoid or eliminate their shelter in buildings are essential to lower the risk of accidents with bats.

Keywords: bat, urban área, synanthropy, rabies.

LA FAUNA DE MURCIÉLAGOS (MAMMALIA, CHIROPTERA) Y OCURRENCIA DEL VIRUS DE LA RABIA EN LA CIUDAD DE SÃO PAULO, BRASIL.

RESUMEN

Los murciélagos son el segundo grupo más grande y el más versátil entre los mamíferos en la exploración de alimento y refugio. En Brasil se registró 167 especies, la mayoría (70%) tiene hábitos de alimentación insectívora y otros distribuidos entre los frugívoros, nectarívoros, hematófagos, carnívoros, omnívoros y piscívoros. Los que viven en las zonas urbanas son ampliamente favorecidos por las ciudades donde encuentran refugio y alimento. A menudo utilizar la habitación humana como dormitorios día y por lo tanto ya se consideran animales sinantrópicos. Esta proximidad a las personas y/o sus animales domésticos puede llevar a un riesgo de aparición de la rabia. El Centro de Controle de Zoonosis, en São Paulo (CCZ-SP) mantiene un servicio para informar al público sobre temas relacionados con los murciélagos y un laboratorio para la prueba de la rabia por inmunofluorescencia directa e inoculación en ratones en todos los murciélagos capturados. El objetivo de este trabajo es presentar los datos en que el servicio se produjo entre 2004 y 2013. Durante este período se cumplieron 6945 solicitudes y se capturaron 4248 murciélagos de 43 especies diferentes en São Paulo. De estos, 38 fueran diagnosticados positivos para la rabia, incluyendo 33 insectívoros, cuatro frugívoros y uno nectarívoro. La mayoría de estos animales se encuentra en situaciones atípicas e inusuales en momentos y lugares para la especie. Acciones continuas para educar al público sobre la importancia de los murciélagos para eliminar los mitos que los rodean son necesarias para estimular la coexistencia armoniosa entre la gente y los murciélagos. Orientación técnica sobre las medidas preventivas para evitar o eliminar su refugio en los edificios son fundamentales para reducir el riesgo de accidentes para las personas.

Palabras clave: murciélago, zona urbana, sinantropia, rabia

INTRODUÇÃO

Os morcegos consistem a segunda maior ordem de mamíferos, com aproximadamente 1150 espécies distribuídas em áreas tropicais e temperadas, com exceção de algumas ilhas oceânicas mais isoladas e áreas polares (1). No Brasil estão registradas nove famílias e 167 espécies de morcegos (2).

A disponibilidade de abrigos diurnos e áreas de forrageio são fatores importantes associados à distribuição, sobrevivência e reprodução dos morcegos (3). Em ambientes onde os morcegos encontram esses dois recursos fundamentais, tornaram-se versáteis e altamente adaptados.

O crescente processo de urbanização tem oferecido excelentes oportunidades de abrigo e alimento aos morcegos. Muitas espécies têm se aproveitado dessas modificações, mostrando-se mais adaptadas que outras na colonização do ambiente urbano, sendo, por isso, consideradas acentuadamente antropofílicas. São espécies populosas, em parte, pelo pequeno número de predadores naturais (algumas espécies de corujas, gaviões e cobras), principalmente, em áreas urbanas. (3-7).

Nas cidades brasileiras, tanto edificações humanas quanto à vegetação utilizada no paisagismo, têm sido utilizadas por morcegos como abrigo e/ou fonte de alimento (3,7-10).

As variadas estruturas habitacionais como: juntas de dilatação, forros, porões oferecem aos morcegos insetívoros ótimas condições de abrigo. A iluminação proporcionada por lâmpadas de mercúrio, largamente usadas nas ruas e avenidas, atrai insetos e, conseqüentemente, os morcegos (11).

Os morcegos fitófagos se beneficiam diretamente das plantas usadas na arborização da cidade, utilizando seus frutos, folhas e néctar das flores (7,10,12). Seus abrigos são, geralmente, nas árvores de copas fechadas ou edificações que permitem aos morcegos o acesso a aberturas, como janelas ou portas.

Das 167 espécies conhecidas no território nacional, 41 já foram registradas positivas para raiva. Destas, 25 já foram observadas explorando refúgios em habitações humanas ou ao entorno delas com provável acesso a carnívoros domésticos (13). Essa proximidade de morcegos com os seres humanos e animais de estimação podem elevar o risco de ocorrência de acidentes (14-16). Além disso, essa proximidade na maioria das vezes é indesejável e provocam medo decorrente de mitos e superstições transmitidas por gerações e incômodos à população como: ruídos pela sua movimentação nos abrigos, odor desagradável de suas secreções e danos materiais (7).

Os morcegos, independentemente de seu hábito alimentar, podem albergar e transmitir o vírus da raiva direta ou indiretamente a seres humanos ou animais. Porém, no caso dos morcegos não-hematófagos, esta transmissão pode ocorrer de forma acidental (17).

Com a raiva sob controle em animais domésticos, as medidas de controle da doença em morcegos que representam atualmente um dos principais transmissores, foram implementadas e como consequência houve um aumento na frequência de diagnósticos laboratoriais positivos para raiva em morcegos não hematófagos nas áreas urbanas de cidades do Estado de São Paulo. A detecção de espécimes positivos demonstra que o vírus permanece circulando e alerta para o risco de reintrodução da doença entre os animais domésticos (18,19). Na capital paulista este fato também está acontecendo elevando a preocupação de contatos entre morcegos positivos para raiva e animais domésticos ou silvestres, particularmente felinos, devido as suas características comportamentais.

Este artigo tem como objetivo apresentar os dados da fauna de morcegos no município de São Paulo, no período de 2004 a 2013, bem como apresentar diagnóstico laboratorial de raiva e as circunstâncias em que estes animais foram capturados.

MATERIAL E MÉTODOS

A cidade de São Paulo (23°32'S, 46°37'W) encontra-se na região Sudeste do Estado de São Paulo, compreendida pelo Complexo Cristalino e Vale do Paraíba. Reconhecida também como a maior cidade da América Latina e a segunda em população, São Paulo conta com um número estimado de 11.253.503 habitantes distribuídos em uma área territorial de 1521 Km², sendo considerada uma das cinco maiores cidades de todo o mundo (20).

No município de São Paulo, o Setor de Quirópteros do Centro de Controle de Zoonoses da Secretaria Municipal de Saúde (CCZ-SP) atende a população que reclama de problemas com morcegos. O serviço inclui orientações técnicas, educativas e de manejo ambiental, além do recolhimento de morcegos. Os morcegos coletados são encaminhados para exames laboratoriais de raiva e a espécie é identificada com o auxílio de bibliografias disponíveis.

Na realização das coletas ou capturas desses animais são utilizados redes de espera do tipo "mist net", puçás ou pinças. São anotados os respectivos locais, condições de encontro e os possíveis abrigos.

Os problemas ocasionados por morcegos na cidade de São Paulo foram agrupados em quatro categorias: *abrigo em edificação*, morcegos abrigados em forros de casas, porões, vãos de dilatação, caixas de persiana, chaminés, garages entre outras edificações; *situações atípicas* que incluem os adentramentos de morcegos em residências, prédios comerciais dentre outros e dos animais encontrados caídos no chão; *árvores*, morcegos utilizando as árvores plantadas nas ruas ou nas proximidades das residências em busca de frutos, abrigos ou pouso digestório e *outros*, morcegos coletados em redes em Parques e Áreas de Proteção Ambiental.

No laboratório de diagnóstico de raiva do CCZ-SP, os espécimes coletados foram submetidos ao diagnóstico de raiva pelas técnicas padrão, Imunofluorescência Direta (IFD) e Inoculação em Camundongos (IC), (21,22).

RESULTADOS

A equipe do Setor de Quirópteros do CCZ-SP identificou 4248 morcegos (Tabela 1), no período de janeiro de 2004 a dezembro de 2013. Neste mesmo período foram atendidas 6945 reclamações de pessoas relacionadas com morcegos, tendo como média anual 695 chamados (Figura 1).

Os morcegos coletados pertencem a 43 espécies de 4 famílias, Molossidae com 15 espécies, Phyllostomidae com 14 espécies, Vespertilionidae com 12 espécies e Emballonuridae com apenas 2 espécies. As famílias Molossidae e Phyllostomidae apresentaram maior número de espécimes (2122 e 1750, respectivamente). As espécies mais frequentes, representando 30% dos espécimes coletados, foram os morcegos insetívoros *Molossus molossus* (1243), *Tadarida brasiliensis* (364) e *Myotis nigricans* (217), o nectarívoro *Glossophaga soricina* (1077) e o frugívoro *Artibeus lituratus* (205).

Com relação ao local de captura dos morcegos, a maioria dos animais coletados foi categorizada como *situações atípicas* (46,1%), seguido por morcegos coletados *abrigados em edificações* (29,6%) e coletados em *árvores* (21,3%). Morcegos definidos na categoria *outros* totalizaram apenas 3,0% dos espécimes (Figura 2).

Tabela 1. Espécies de morcegos segundo o hábito alimentar, município de São Paulo, 2004 a 2013.

Família/espécies	Hábito alimentar	n
Emballonuridae		
<i>Diclidurus scutatus</i>	insetívoro	2
<i>Peropterix macrotis</i>	insetívoro	1
Subtotal		3
Phyllostomidae		
<i>Anoura caudifer</i>	nectarívoro	5
<i>A. geoffroyi</i>	nectarívoro	1
<i>Artibeus lituratus</i>	frugívoro	205
<i>A. fimbriatus</i>	frugívoro	22
<i>A. planirostris</i>	frugívoro	3
<i>Carollia perspicillata</i>	frugívoro	4
<i>Desmodus rotundus</i>	hematófago	146
<i>Dyphilla ecaudata</i>	hematófago	31
<i>Glossophaga soricina</i>	nectarívoro	1077
<i>Micronycteris megalotis</i>	insetívoro	8
<i>Platyrrhinus lineatus</i>	frugívoro	197
<i>Pygoderma bilabiatum</i>	frugívoro	16
<i>Sturnira lilium</i>	frugívoro	34
<i>S. tildae</i>	frugívoro	1
Subtotal		1750
Vespertilionidae		
<i>Eptesicus brasiliensis</i>	insetívoro	8
<i>E. diminutus</i>	insetívoro	5
<i>E. furinalis</i>	insetívoro	31
<i>Eptesicus sp</i>	insetívoro	8
<i>Histiotus velatus</i>	insetívoro	65
<i>Lasiurus blossevillii</i>	insetívoro	8
<i>L. cinereus</i>	insetívoro	2
<i>L. ega</i>	insetívoro	6
<i>Myotis albescens</i>	insetívoro	1
<i>M. levis</i>	insetívoro	5
<i>M. nigricans</i>	insetívoro	217
<i>M. riparius</i>	insetívoro	3
<i>M. ruber</i>	insetívoro	3
<i>Myotis sp</i>	insetívoro	6
Subtotal		368
Molossidae		
<i>Cynomops abrasus</i>	insetívoro	1
<i>C. planirostris</i>	insetívoro	3
<i>Eumops auripendulus</i>	insetívoro	62
<i>E. bonariensis</i>	insetívoro	13
<i>E. glaucinus</i>	insetívoro	71
<i>E. maurus</i>	insetívoro	1
<i>E. perotis</i>	insetívoro	30
<i>Eumops sp</i>	insetívoro	4
<i>Molossops neglectus</i>	insetívoro	7
<i>Molossus molossus</i>	insetívoro	1243
<i>M. rufus</i>	insetívoro	90
<i>Nyctinomops aurispinosus</i>	insetívoro	4
<i>N. laticaudatus</i>	insetívoro	82
<i>N. macrotis</i>	insetívoro	133
<i>Promops nasutus</i>	insetívoro	14
<i>Tadarida brasiliensis</i>	insetívoro	364
Subtotal		2122
<i>Sem condições identificação</i>		5
Total		4248

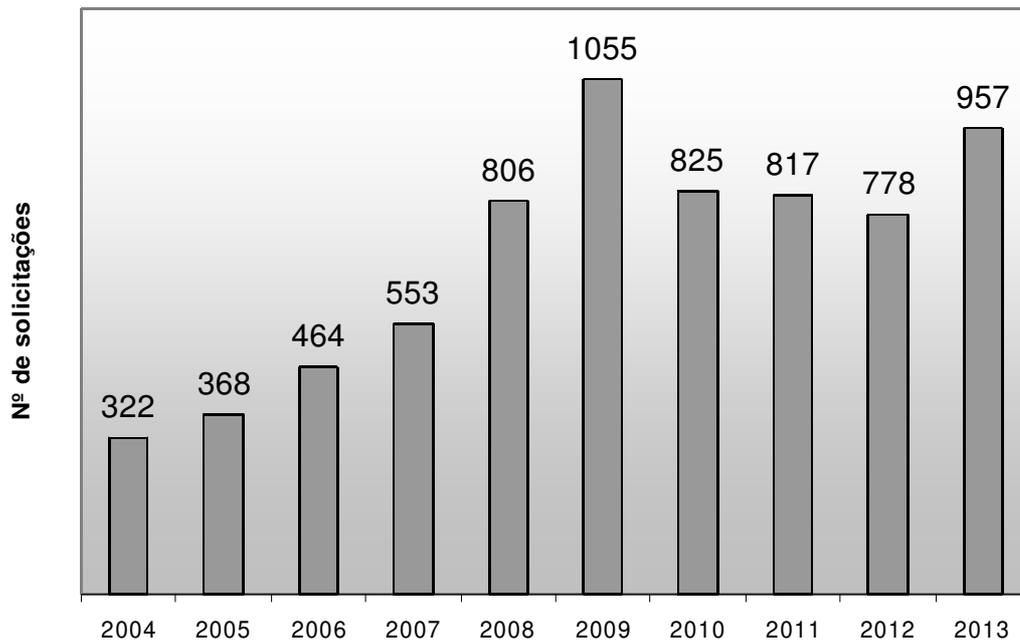


Figura 1. Número de reclamações referentes a problemas com morcegos, município de São Paulo, 2004 a 2013.

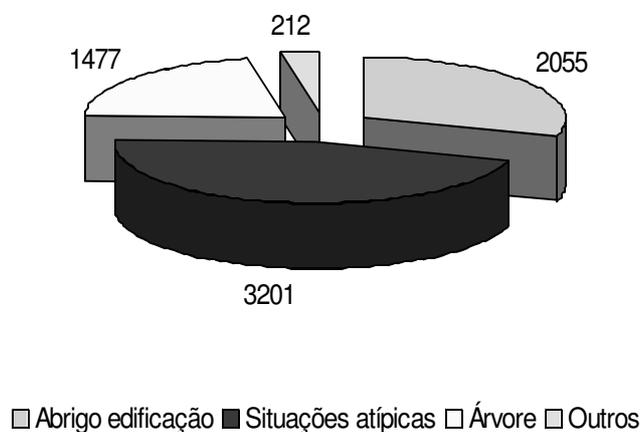


Figura 2. Distribuição das reclamações referente a morcegos, segundo o tipo de problemas, no município de São Paulo, 2004 a 2013.

Considerando-se os hábitos alimentares, os morcegos insetívoros apresentaram maior representatividade (58,8%). Os nectarívoros obtiveram 25,5%, seguido pelos frugívoros, com 11,3% e hematófagos 4,3% (Figura 3). Em apenas 0,1% dos morcegos capturados não foi possível a identificação da espécie, pois estavam em autólise ou eram filhotes encontrados caídos sem as mães.

Observa-se na figura 4 que nos meses de setembro a março há um aumento nas reclamações relacionadas a morcegos utilizando abrigo em edificações e situações atípicas. Este pico coincide com o número de insetívoros coletados neste mesmo período. As

solicitações relacionadas aos morcegos visitando árvores tem seu maior pico nos meses de junho a agosto, acompanhando o aumento na coleta dos morcegos frugívoros. Já os morcegos nectarívoros não apresentaram um pico nas reclamações.

Trinta e oito morcegos foram positivos para raiva nas técnicas IFD e IC no município de São Paulo neste período. A positividade foi de 0,9%. Esses indivíduos pertenciam a 14 diferentes espécies, sendo que 11 são predadoras de insetos, duas frugívora e uma nectarívora. Os locais de coleta desses animais doentes foram dentro de residência ou apartamento (31,6%), caídos no chão, em área externa, como quintais, áreas de serviço, terraço de apartamento, embaixo de árvores em ruas (57,9%) e forros que serviam como abrigos diurnos (10,5) (Tabela 2).

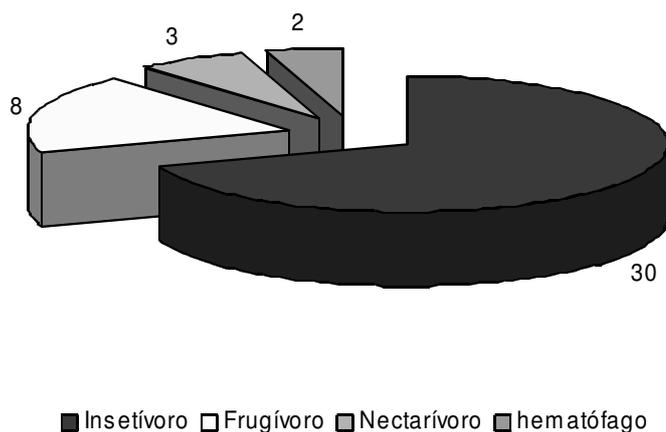


Figura 3. Número de espécies de morcegos, segundo o hábito alimentar, município de São Paulo, 2004 a 2013.

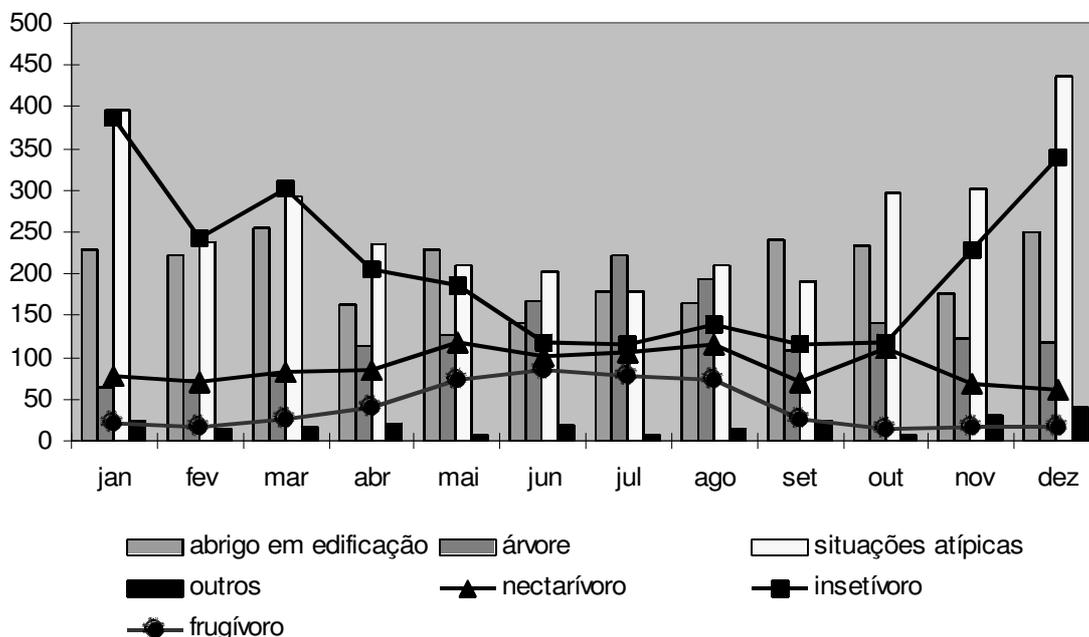


Figura 4. Distribuição sazonal das reclamações sobre morcegos segundo hábito alimentar e local de captura, município de São Paulo, 2004 a 2013.

Tabela 2. Número de morcegos positivos para raiva, segundo hábito alimentar e local de coleta, município de São Paulo, 2004 a 2013.

Família/espécie	hábito alimentar	adentramento	caído no chão	forro
Phyllostomidae				
<i>Artibeus lituratus</i>	frugívoro	0	3	0
<i>A. fimbriatus</i>	frugívoro	0	1	0
<i>Glossophaga soricina</i>	nectarívoro	1	0	0
Vespertilionidae				
<i>Eptesicus brasiliensis</i>	insetívoro		1	0
<i>Histiotus velatus</i>	insetívoro	1	2	4
<i>Lasiurus blossevillii</i>	insetívoro	1	1	0
<i>Myotis nigricans</i>	insetívoro	3	5	0
<i>M. riparius</i>	insetívoro		1	0
<i>M. ruber</i>	insetívoro	1	0	
Molossiade				
<i>Molossops neglectus</i>	insetívoro	0	1	0
<i>Molossus molossus</i>	insetívoro	1	0	0
<i>Nyctinomops laticaudatus</i>	insetívoro	1	0	0
<i>N. macrotis</i>	insetívoro	0	4	0
<i>Tadarida brasiliensis</i>	insetívoro	3	3	0
Total		12	22	4

DISCUSSÃO

Embora os morcegos insetívoros sejam mais representativos durante o ano todo quando comparado aos morcegos de outros hábitos alimentares, analisando-se as reclamações mensalmente, observa-se que na estação de primavera e verão, as pessoas observam maior movimentação dos morcegos insetívoros nos abrigos (forros e vãos de dilatação). Estas queixas são fundamentadas pelo fato de ocorrer, neste período, a maioria dos partos com grande número de filhotes e, conseqüentemente, aumento da vocalização dessa colônia maternidade. Neste período, muitos jovens estão aprendendo a voar e, muitas vezes, caem ou adentram as residências, aumentando o número das situações atípicas. Os picos de maior ocorrência de morcegos insetívoros coincidem com o aumento das reclamações dos munícipes da presença de morcegos em edificações e situações atípicas. O fato dos morcegos insetívoros representarem a maioria dessa amostra (54,6%) também é reconhecido em outras capitais brasileiras, como Brasília (10), Belo Horizonte (23), Rio de Janeiro (24).

No período seco (outono e inverno), a predominância das reclamações se referiu aos morcegos frugívoros visitando árvores próximas às residências e em parques, sendo esta uma época onde ocorre a frutificação de certas espécies de plantas apreciadas por este grupo. As reclamações em relação à espécie *Glossophaga soricina*, nectarívora predominante, mantiveram-se praticamente constantes durante o ano, isso se deve ao fato destes animais abrigarem-se com maior frequência em porões e garagens, locais em que a presença desta espécie é mais notável.

Os morcegos hematófagos que representaram 4,3% foram encontrados, principalmente, em propriedades localizadas em áreas mais periféricas do município, onde ainda são praticadas criações de suínos, caprinos, equinos, bovinos e galinhas.

No que se refere à ocorrência de raiva, na maioria dos 38 casos positivos, os animais foram encontrados em circunstâncias atípicas, isto é, em horários, circunstâncias e locais não habituais para seu comportamento, expostos a luz ou ao sol e imóveis por longo período. Essas situações indicam que o animal pode estar com algum sintoma associado à raiva que o levou a incapacidade de voar ou a falha no sistema de ecolocalização. O fato da maioria dos

animais positivos terem sido encontrados após adentramento a residências ou caídos no chão reforça que nessas situações consideradas atípicas, esses animais representam risco potencial de raiva, uma vez que, ficam mais expostos ao contato acidental com pessoas e animais domésticos. Essa associação entre o encontro de morcegos em situações atípicas e raiva já foi observada por Almeida et al. (25) para cidades do Estado de São Paulo, incluindo a capital, no período de 1988 a 2003, no qual a maioria dos 44 animais positivos, foi coletada em situação de adentramento a residências (24), caídos no chão (10) ou em árvores (3).

O fato da maioria dos animais detectados com o vírus da raiva ser de hábito alimentar insetívoro (33) também foi relatado por Almeida et al. (25). Embora o morcego *Histiotus velatus* tenha apresentado a maior positividade entre as espécies com raiva (14,3%), esse fato se explica na localização de uma colônia de aproximadamente 30 indivíduos dessa espécie em um forro da cidade, entre os quais sete estavam doentes, todos os espécimes positivos do período em análise.

A positividade observada para *Myotis nigricans* (3,9%) e *Artibeus lituratus* (3,2%) era esperada uma vez que essas também foram as espécies mais frequentemente encontradas com raiva em outras cidades do Estado de São Paulo (18,26).

Embora as duas espécies mais frequentes na Cidade de São Paulo tenham sido o morcego nectarívoro *Glossophaga soricina*, e o morcego insetívoro *Molossus molossus* apenas um caso de raiva foi detectado em cada uma dessas espécies nos dez anos do período analisado.

A predação de morcegos por carnívoros domésticos, como cães e gatos, constitui uma relação propícia para a transmissão do vírus (14). Deve-se destacar que o gato, caçador por excelência, pode constituir um importante elo entre o ciclo aéreo e o terrestre da raiva (6). Tal fato pode ocorrer caso haja o acesso fácil aos refúgios de morcegos, situação em que o gato pode caçar diretamente nas saídas dos abrigos ou quando estão caídos no solo.

O adentramento acidental de morcegos, em residências e os encontrados caídos no chão, proporcionam grandes chances de manipulação por pessoas ou animais. Nestas situações, consideradas prioritárias pelo serviço público, a retirada do animal e envio para exames laboratoriais é imediata.

Caso ocorra acidentalmente ou não o contato/mordedura de defesa entre morcegos e pessoas deve-se procurar com urgência um posto médico para tratamento, e no caso de acidentes de morcegos com animais domésticos procurar o veterinário.

Para reduzir a sinantropia, já estabelecida entre os morcegos e as pessoas, em áreas urbanas das cidades, há a necessidade de adotar algumas providências na tentativa de manter afastados esses animais das moradias e edificações. O desalojamento dos morcegos em edificações deve ser feito seguindo as orientações fornecidas por agentes de órgãos competentes, evitando a eliminação indiscriminada desses animais, que na qualidade de animais silvestres, são protegidos pela legislação.

A orientação fornecida quando houver o encontro de um morcego caído no chão da edificação ou na calçada da rua é não manipular o animal e solicitar a presença de agentes da saúde no local, pois como todo animal silvestre, quando este se sentir acuado tentará se libertar e se defender pela mordedura.

Educação ambiental continuada da população com orientações adequadas é a ferramenta fundamental para minimizar os problemas aqui mencionados. A população informada sobre os perigos que podem advir da presença ou contato com morcegos, de um lado estará preparada para acionar as instituições responsáveis pelo manejo dos animais e por outro pela simples não manipulação do animal, reduzirá o risco de acidentes. O esclarecimento da população sobre a importância deste animal na natureza e informações que desmistifiquem preconceitos poderá levar a sua aceitação pela população.

CONCLUSÃO

As principais conclusões obtidas desse trabalho foram:

As principais reclamações apontadas pelos moradores se referiram aos morcegos que estavam em situações atípicas, caídos no chão ou dentro das residências seguido das reclamações destes animais abrigados em edificações.

Os morcegos insetívoros são os mais abundantes e os que apresentaram a maior porcentagem de positividade para raiva, na cidade de São Paulo.

Educação e orientação são ferramentas fundamentais e efetivas para desmistificar e diminuir possíveis riscos à saúde de pessoas e de animais de estimação.

Morcegos observados em situações atípicas, que não correspondem ao seu comportamento devem ser considerados como suspeitos e encaminhados para diagnóstico de raiva.

O vírus da raiva permanece circulando entre as espécies de morcegos que habitam a cidade de São Paulo.

REFERÊNCIAS

1. Simmons NB. Ordem Chiroptera. In: Wilson DE, Reeder DM. Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference. Baltimore: Johns Hopkins University Press; 2005. p.312-529.
2. Bernard E, Tavares VC, Sampaio E. Compilação atualizada das espécies de morcegos (Chiroptera) para a Amazônia Brasileira. Biota Neotrop. 2011;11:1-12.
3. Bredt A, Uieda W. Bats from urban and rural environments of the Distrito Federal, Mid-western Brazil. Chiropt Neotrop. 1996;2:54-7.
4. Fenton MB. Bats. New York: Facts on File, Inc; 1992.
5. Taddei VA. Morcegos. Algumas considerações sistemáticas e biológicas. Bol Técnico CATI. Campinas: Coordenadoria de Assistência Técnica Integral; 1983.
6. Taddei VA. Sistemática de quirópteros. Bol Inst Pasteur. São Paulo: Instituto Pasteur; 1996;1:3-15.
7. Silva MMS, Harmani NMS, Gonçalves EFB. Bats from the metropolitan region of São Paulo, Southeastern, Brazil. Chiropt Neotrop. 1996;1:39-41.
8. Rodrigues MGR, Bredt A, Uieda W. Arborização de Brasília, Distrito Federal, e possíveis fontes de alimento para morcegos fitófagos. In: Anais do Congresso Brasileiro de Arborização Urbana; 1994; São Luis. São Luis: Sociedade Brasileira de Arborização Urbana; 1994. 2:311-326.
9. Côrtes VA, Souza LC, Uieda W, Figueiredo AC. Abrigos diurnos e infecção rábica em morcegos de Botucatu, São Paulo, Brasil. Vet Zootec. 1994;6:179-86.
10. Bredt A. Morcegos em áreas urbanas e rurais: Manual de manejo e controle. Brasília: Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde; 1998.

11. Rydell J, Racey PA. Street lamps and the feeding ecology of insectivorous bats. *Symp Zool Soc London*. 1995;67:291-307.
12. Sazima I, Fischer WA, Sazima M, Fischer EA. The fruit bat *Artibeus lituratus* as a forest and city dweller. *Cienc Cult*. 1994;46:164-8.
13. Sodré MM, Gama AR, Almeida MF. Update list of bat species positive for rabies in Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2010;52:75-81.
14. Delpietro H, Fábregas F, Díaz M. Riesgo de transmisión rábica en la predaci n de quirópteros por carnívoros domésticos. *Vet Argent*. 1987;4:119-124.
15. Bredt A. Ecologia de abrigos de morcegos da região do Distrito Federal - Relatório Final, GDS-SES. Brasília: Instituto de Saúde do Distrito Federal; 1998. (Contrato 190.000.280/94).
16. Harmani NM, Silva MMS, Hayashi MM. Controle de morcegos em áreas urbanas. *Bol Inst Pasteur. São Paulo: Boletim Instituto Pasteur*; 1996;1:37-43.
17. Uieda W, Hayashi MM, Gomes LH, Silva MMS. Espécies de quirópteros diagnosticados com raiva no Brasil. *Bol Inst Pasteur. São Paulo: Boletim Instituto Pasteur*; 1996;1:17-36.
18. Cunha EMS, Silva LHQ, Lara MCSH, Nassar AFC, Albas A, Sodré MM, et al. Bat rabies in north-northwestern region of the state of São Paulo, Brazil: 1997-2002. *Rev Saude Publica*. 2006;40:1082-6.
19. Albas A, Souza EAN, Lourenço RA, Favoretto SR, Sodré MM. Perfil antig nico do vírus da raiva isolado de diferentes espécies de morcegos não hematófagos da região de Presidente Prudente, Estado de São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2009;42:15-7.
20. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades [Internet]. Brasília: IBGE; 2013 [cited 2014 out 15]. Available from: <http://cidades.ibge.gov.br>
21. Dean DJ, Abelseth MK, Atanasiu P. The fluorescent antibody test In: Meslin FX, Kaplan MM, Koprowisk H. *Laboratory techniques in rabies*. Geneva: World Health Organization; 1996. p.80-7.
22. Koprowisk H. The mouse inoculation test In: Meslin FX, Kaplan MM, Koprowisk H. *Laboratory techniques in rabies*. Geneva: World Health Organization; 1996. p.88-96.
23. De Kneg LV, Silva JA, Moreira EC, Sales GL. Morcegos capturados no município de Belo Horizonte, 1999-2003. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2005;57:576-83.
24. Esber rd CEL, Chagas AS, Luz EM. Uso de residências por morcegos no Estado do Rio de Janeiro (Mammalia: Chiroptera). *Rev Bras Med Vet*. 1999;21:17-20.
25. Almeida MF, Martorelli LFA, Sodré MM, Kataoka APAG, Rosa AR, Oliveira ML, et al. Rabies diagnosis and serology in bats from the State of São Paulo, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2011;44:140-45.

26. Queiroz LH, Carvalho C, Buso DS, Ferrari CIL, Pedro WA. Perfil epidemiológico da raiva na região Noroeste do Estado de São Paulo no período de 1993 a 2007. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2009;42:9-14.

Recebido em: 28/02/2014

Aceito em: 11/03/2015

SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DO FARELO DE SOJA POR DIFERENTES FONTES NITROGENADAS EM DIETAS A BASE DE CANA DE AÇÚCAR NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS

Juliane de Rezende Naves¹

Elmeson Ferreira de Jesus²

Juliana Regina Barreiro³

Marcos André Arcari³

Cristian Marlon de Magalhães Rodrigues Martins⁴

Marcos Veiga dos Santos⁵

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do uso de fontes nitrogenadas com diferentes taxas de degradabilidade ruminal em dietas de vacas leiteiras, utilizando volumoso à base de cana-de-açúcar, sobre o consumo, a digestibilidade dos nutrientes, a produção e a composição e frações proteicas do leite. Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa, agrupadas em três quadrados latinos contemporâneos 4x4, com período de 21 dias, sendo os 14 primeiros destinados à adaptação às dietas e os demais para coletas. As vacas foram alimentadas com quatro dietas isoproteicas (157 g de PB/kg MS) com as seguintes fontes nitrogenadas principais: a) Controle (C) - farelo de soja e baixa inclusão de ureia; b) Alta degradabilidade (AD) – farelo de soja e alto teor de ureia (17,1 g/ kg de MS); c) Média degradabilidade (MD) – grão de soja cru e d) Baixa degradabilidade (BD) – farelo de glúten de milho. Foram coletadas amostras de leite do 18º ao 21º de cada período para a determinação da composição e das frações proteicas do leite. A inclusão de grão de soja na dieta em substituição parcial ao farelo de soja aumentou o consumo de extrato etéreo, reduziu a digestibilidade da proteína, o que resultou em menor produção de leite e produção de sólidos totais do leite, em comparação as vacas alimentadas com as demais dietas. Diferentemente, a substituição parcial do farelo de soja por ureia ou glúten de milho não alterou a digestibilidade e a produção de leite em relação ao controle. No entanto, vacas alimentadas com a dieta controle (farelo de soja e baixa inclusão de ureia) produziram mais proteína bruta e proteína verdadeira do leite, do que as vacas alimentadas com as demais dietas. Desta forma, pode-se incluir 17,1 ou 10,2 g/Kg de MS de ureia ou glúten de milho, respectivamente, em substituição parcial ao farelo de soja na dieta sem que ocorra alteração na produção de leite de vacas leiteiras alimentadas com cana de açúcar como única fonte de volumoso.

Palavras-chave: consumo, digestibilidade, fontes proteicas, produção e composição do leite, vacas leiteiras.

¹ Doutoranda do Departamento de Reprodução Animal pela Universidade de São Paulo.

² Doutorado do programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho FCAV-UNESP Jaboticabal

³ Doutoranda no Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.

⁴ Mestrando em Nutrição e Produção Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP.

⁵ Professor Associado do Departamento de Nutrição e Produção Animal-VNP da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP. Contato principal para correspondência

PARTIAL REPLACEMENT OF SOYBEAN MEAL BY DIFFERENT NITROGEN SOURCES IN DIETS BASED ON SUGARCANE AS FORAGE TO FEEDING OF DAIRY COWS

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of nitrogen sources with different rates of degradability in diets of dairy cows, using sugarcane as forage, on intake, nutrient digestibility, production and composition and fractions milk protein. Twelve Holstein cows were grouped into three contemporary 4x4 Latin Square, with an experimental period of 21 days, of which the first 14 days for adaptation to the diets and the other for sampling. The cows were fed four isonitrogenous diets (157 g CP/kg DM) with the following main nitrogen sources: a) Control (C) - Soybean meal and low inclusion of urea b) High degradability (AD) – Soybeans meal and high urea content (17.1 g/kg DM), c) Medium degradability (MD) - Raw soybeans d) Low degradability (BD) - Corn gluten meal . Samples of milk from 18 to 21 day of each experimental period were collected to determine the composition and milk protein fractions. The inclusion of soybean in the diet on partial replacement of soybean meal increased the ether extract intake, reduced digestibility of protein, which resulted in lower milk production and production of milk total solids, compared to cows fed the other diets. In contrast, the partial replacement of soybean meal by urea or corn gluten meal did not affect the digestibility and milk production compared to control. However, cows fed the control diet (soybean meal and low inclusion of urea) produced more crude protein and true protein of milk than cows fed the other diets. Therefore, it can be included 17.1 or 10.2 g / kg DM of urea or corn gluten, respectively, in partial replacement of soybean meal in the diet of dairy cows fed sugarcane as forage without alteration on milk production.

Keywords: intake, digestibility, protein, milk yield and composition, dairy cows.

SUSTITUCIÓN PARCIAL DE LA HARINA DE SOJA POR DIFERENTES FUENTES DE NITRÓGENO EN DIETAS A BASE DE CAÑA DE AZÚCAR EN LA ALIMENTACIÓN DE LAS VACAS LECHERAS

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del uso de fuentes de nitrógeno con diferentes tasas de degradabilidad en dietas de vacas lecheras, con caña de azúcar como forraje, sobre el consumo, la digestibilidad de los nutrientes, producción y la composición y fracciones de proteína de la leche. Se utilizaron 12 vacas Holstein agrupadas en tres 4x4 Cuadrados Latinos contemporáneos, con período experimental de 21 días, siendo los primeros 14 para adaptación a las dietas y los otros días para colectas de datos. Las vacas fueron alimentadas con cuatro dietas isonitrogenadas (157 g PC/kg MS) con las siguientes principales fuentes de nitrógeno: a) Control (C) - Harina de soja y baja inclusión de urea; b) Alta degradabilidad (AD) – Harina de soja y alto contenido de urea (17,1 g/kg MS), c) Media degradabilidad (MD) – Grano de soja d) baja degradabilidad (BD) - harina de gluten de maíz. Se recolectaron muestras de leche del día 18 al 21 de cada periodo para determinar la composición y las fracciones de proteína de la leche. La inclusión de grano entero de soja en la dieta en sustitución parcial de la harina de soja incrementó el consumo de extracto etéreo, redujo la digestibilidad de la proteína, que se reflejó en una menor producción de leche y en una menor producción de sólidos totales de la leche, en comparación con las vacas alimentadas con las otras dietas. En contraste, la sustitución parcial de la harina de soja por urea o harina de gluten de maíz no afectó la digestibilidad y la producción de leche en comparación con la dieta control. Sin

embargo, las vacas alimentadas con la dieta control (harina de soja y baja inclusión de urea) produjo más proteína cruda y proteína verdadera de la leche de que vacas alimentadas con las otras dietas. De esta manera, se puede incluir 17,1 o 10,2 g/kg de MS de urea o de gluten de maíz, respectivamente, en sustitución parcial de la harina de soja en la dieta sin alteración en la producción de leche de vacas lecheras alimentadas con caña de azúcar como la única fuente de fibra de la dieta.

Palabras clave: consumo, digestibilidad, proteínas, producción y composición de la leche, vacas lecheras.

INTRODUÇÃO

Os sistemas atuais de nutrição proteica para vacas leiteiras subdividem as fontes nitrogenadas da dieta em proteína degradável (PDR) e não degradável no rúmen (PNDR) (1). A proteína degradável juntamente com os carboidratos dietéticos são substratos para o crescimento dos micro-organismos ruminais. No entanto, quando o teor de proteína degradável da dieta excede a capacidade de utilização do nitrogênio pela microbiota do rúmen, a proteína é degradada até amônia, absorvida, metabolizada a ureia no fígado e excretada na urina (2). Desta forma, adequar as fontes nitrogenadas da dieta de acordo com o crescimento dos micro-organismos ruminais pode reduzir as perdas de nitrogênio pela urina e os custos de alimentação, sem que a produção de leite seja reduzida, resultando em um sistema de produção mais econômico e sustentável.

Para o adequado fornecimento de proteína degradável no rúmen, fatores como a produção de leite e as fontes dietéticas de carboidratos devem ser levados em consideração. Em países tropicais, para alimentação de vacas de baixa a média produção de leite, a cana-de-açúcar representa uma importante fonte de volumoso em razão da elevada produção de matéria seca (MS) em período de escassez de outras importantes espécies forrageiras. Adicionalmente, a cana de açúcar apresenta alta concentração de carboidratos solúveis, fonte energética prontamente disponível para o crescimento microbiano no rúmen (3,4).

No entanto, a cana de açúcar apresenta limitações como o baixo teor de minerais e proteínas, e a reduzida digestibilidade da fração fibrosa (5-8). Para elevar o teor proteico da dieta, o farelo de soja e a uréia são as principais fontes dietéticas de nitrogênio utilizadas na alimentação de ruminantes. Alternativamente, demais fontes nitrogenadas de menor degradabilidade ruminal, como o grão de soja, caroço de algodão e farelo de glúten de milho podem substituir parcialmente o farelo de soja na dieta de vacas leiteiras (1,2). Desta forma, a combinação destes ingredientes na dieta de vacas leiteiras alimentadas com cana de açúcar como volumoso, pode contribuir para aperfeiçoar a eficiência de síntese de proteína microbiana, reduzir os custos da dieta e aumentar a flexibilidade de escolha dos nutrientes nitrogenados de acordo com a disponibilidade e o preço característico de cada região geográfica do país nas diferentes épocas do ano.

Estudos prévios avaliaram a substituição da silagem de milho por cana de açúcar (4,9-11), o teor proteico (8,12) e a inclusão de uréia (6,7) em dietas a base de cana de açúcar para alimentação de ruminantes. No entanto, são escassos os estudos que avaliaram fontes nitrogenadas de diferentes taxas de degradação ruminal em dietas contendo cana de açúcar como único volumoso para alimentação de vacas leiteiras. Desta forma, o presente estudo objetivou avaliar os efeitos da substituição parcial do farelo de soja por ureia, grão de soja cru integral e farelo de glúten de milho, em dietas de vacas em lactação alimentadas com cana de açúcar como fonte exclusiva de volumoso, sobre a produção, composição e as frações nitrogenadas do leite.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas doze vacas Holandesas adultas ($3 \pm 0,9$ lactações), com 150 ± 46 dias em lactação, peso corporal médio de 581 ± 60 kg e produção média de leite de $16,86 \pm 3,95$ kg/vaca/dia. As vacas foram ordenhadas mecanicamente duas vezes/dia e alojadas em baias individuais (12 m^2), para avaliação individual do consumo de alimentos. As vacas foram agrupadas em três quadrados latinos 4×4 , contemporâneos e balanceados de acordo com dias em lactação e produção de leite. O experimento foi constituído por quatro períodos de 21 dias cada, sendo os 14 primeiros dias de adaptação às dietas e os demais para coleta de amostras e de dados.

As dietas (Tabela 1) foram formuladas segundo National Research Council (1) para serem isoproteicas ($157 \text{ g de PB/Kg MS}$), e fornecidas em duas refeições diárias na forma de mistura completa, com relação volumoso:concentrado de 45:55. Foram utilizadas as seguintes fontes nitrogenadas em substituição parcial ao farelo de soja: controle (C): farelo de soja e ureia; alta degradabilidade (AD): farelo de soja e alta concentração de ureia ($17,1 \text{ g/kg de MS}$); média degradabilidade (MD): grão de soja cru; baixa degradabilidade (BD): farelo de glúten de milho. As vacas foram alimentadas *ad libitum* duas vezes ao dia (8 e 15 horas) após as ordenhas. Foi usada cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) variedade IAC86-2480 como volumoso. A cana-de-açúcar apresentou valor médio de $16^\circ \text{ Brix}^\circ$ ao início do estudo, cuja determinação foi realizada em refratômetro manual (Handheld[®], refratômetro modelo RHBO-90). A cana-de-açúcar foi colhida manualmente picada sem retirada da palha, em tamanho médio de partícula de 1 a 2 cm. (Picadora – marca Nogueira, modelo EM-9F3B).

A ingestão de MS foi ajustada diariamente a partir do percentual de sobras do dia anterior, de forma a permitir sobras entre 5 e 10% do total fornecido. Durante todo o período experimental, foram registradas as quantidades do volumoso e do concentrado fornecidos e das sobras de cada animal, assim como coletas de amostras de cana de açúcar, dos ingredientes do concentrado, fezes e das sobras. As amostras de cana-de-açúcar, sobras e fezes foram pré-secadas em estufa com ventilação forçada ($60^\circ\text{C}/72$ horas) e processadas em moinho de facas com peneiras de porosidade 2 mm (marca Marconi, modelo MA 048). As amostras das dietas fornecidas e das sobras foram armazenadas a -20°C até a realização das seguintes análises de acordo com a AOAC (13): matéria seca (MS), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE) e proteína bruta (PB). As análises para determinação dos teores de nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), Fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina foram realizadas segundo Van Soest e Mason (14). A determinação de FDN foi de acordo com as adaptações descritas por Mertens (15), usando α -amilase e sem adição de sulfito de sódio em um sistema Ankon[®] (13). O teor de carboidratos não fibrosos foi calculado segundo Hall (16) e os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados conforme o NRC (1).

Para a determinação da digestibilidade aparente total da MS e dos nutrientes, a quantidade total de MS fecal excretada foi estimada pela concentração de fibra em detergente ácido indigestível (FDAi). As fezes foram coletadas no 15º e 16º dias de cada período, diretamente do reto, momentos antes e seis horas após a alimentação, e armazenadas a -20°C . Ao final de cada período de coleta foi feita uma amostra composta por animal.

Tabela 1. Proporção de ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais.

Ingredientes	Fontes nitrogenadas da dieta			
	Farelo de soja e uréia (controle)	Farelo de soja e alta inclusão de ureia	Grão de soja cru integral	Farelo de glúten de milho
	g/Kg de MS			
Cana de açúcar	469,5	475	475,7	479
Milho moído	303,9	335	240,1	303
Farelo de soja	164	120	64,2	123
Grão de soja	-	-	160	-
Farelo de glúten de milho	-	-	-	26,7
Ureia	10,2	17,1	7,5	10,2
Sulfate de amônia	1	1	1	0,5
Bicarbonato de sódio	7,5	7,5	7,5	6,9
Oxido de magnésio	2,7	2,7	2,7	2,7
Mistura mineral ⁴	34,7	34,8	34,8	34,8
Calcário	3,7	3,7	3,7	3,7
Sal comum	2,7	2,7	2,7	2,7
	Composição bromatológica da dieta, g/Kg de MS			
Matéria seca ¹	635,8	632	625,9	623,1
Matéria orgânica ¹	907,3	902,6	916,9	910,5
Matéria mineral	92,7	97,4	83,1	89,5
Proteína bruta	156,8	158,1	153,1	155,3
NIDA ²	16,7	14,4	15,9	14,9
NIDN ²	50	48,4	46,6	46,7
Extrato etéreo	20,9	21,3	41,4	21,3
FDN	274,6	275,9	283,5	274,8
FDA	169,3	167,5	185,4	168
Lignina	31,1	30,7	32,7	31,4
CNF ³	484	495,9	452,7	481,2
NDT ³	706	703,8	736,9	710,2

NIDA= Nitrogênio insolúvel em detergente ácido; NIDN= Nitrogênio insolúvel em detergente neutro; FDN= Fibra insolúvel em detergente neutro; FDA= Fibra insolúvel em detergente ácido; CNF= Carboidratos não fibrosos; NDT= Nutrientes digestíveis totais;

¹g/kg Matéria natural, ²g/kg MS total de nitrogênio. ³Estimado pelo NRC (2001); ⁴Composição da Mistura Mineral em 1000 g de produto: 180 g Ca, 90 g P, 20 g Mg, 20 g S, 100 g Na, 3,000 mg Zn, 1,000 mg Cu, 1,250 mg Mn, 2,000 mg Fe, 200 mg Co, 90 mg I, 36 mg Se, 900 mg F (máximo).

Para a determinação de nutrientes indigestíveis, as amostras de sobras e dos ingredientes do concentrado foram acondicionadas em sacos de tecido não tecido (TNT-100g/m²), com dimensões de 4x5 cm e relação de 20 mg de MS/cm², e posteriormente incubadas no rúmen por período de 288 horas, segundo adaptação de técnica descrita por Casali et al. (17). Após a incubação, os sacos foram lavados com água corrente e submetidos à secagem para obtenção da MS indigestível. Posteriormente, os sacos foram submetidos ao tratamento com detergente ácido (15), em equipamento analisador de fibra Ankon[®] para determinação de FDA_i. Após este período, as amostras foram lavadas com água quente e acetona, secos e pesados conforme procedimento anterior para determinação da FDA_i.

As vacas foram ordenhadas mecanicamente duas vezes ao dia, sendo a produção de leite registrada diariamente durante todo o período experimental. A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura (PLC) segundo fórmula de Sklan et al. (18), em que PLC = (0,432 + 0,1625 * teor de gordura do leite) * kg de leite. Durante os últimos 4 dias de cada

período (21 dias), amostras individuais de leite foram coletadas nas ordenhas da manhã e tarde para a determinação da concentração de proteína bruta (PB), proteína verdadeira (PV), caseína e nitrogênio não proteico (NNP), ureia, gordura, lactose, sólidos totais, nitrogênio ureico no leite (NUL). As análises de gordura, proteína, lactose, extrato seco total e extrato seco total (EST) foram realizadas por absorção infravermelha em equipamento Bentley 2000 (Bentley Instruments Inc. Chasca, MN, USA). Adicionalmente, nas amostras de leite foram realizadas análises para determinação da concentração de nitrogênio total (NT) (13; método 33.2.11; 991.20), nitrogênio não caseinoso (NCN) (19) e nitrogênio não proteico (NNP) (13; método 33.2.12; 991.21). Para determinação da concentração de ureia e nitrogênio ureico no leite, foram utilizados kits comerciais (Laborlab® e CELM®). A concentração de nitrogênio ureico no leite foi determinada indiretamente por meio da seguinte fórmula: Nitrogênio ureico = ureia (mg/dl)/2,14.

Os resultados foram analisados pelo programa computacional Statistical Analysis System® (SAS; Versão 9.2, SAS Institute, Cary, NC) após verificação da normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias. Com a distribuição normal dos dados, o procedimento estatístico adotado foi de acordo com os efeitos principais dos tratamentos, pelo comando Proc-MIXED do SAS, de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + Q_j + A(Q)_k + P_l + e_{ijkl}$$

em que Y_{ijkl} = é o valor observado;

μ = média geral;

T_i = efeito fixo de tratamento i (3 GL), ;

Q_j = efeito fixo do quadrado latino j ,

$j = 1$ a 3 (2 GL);

$A(Q)_k$ = efeito aleatório do animal k dentro de cada quadrado latino, $k = 1$ a 12 (9 GL);

P_l = efeito fixo do período l ,

$l = 1$ a 4 (3 GL); e_{ijkl} = erro aleatório associado a cada observação. Os graus de liberdade foram calculados de acordo com o método Satterthwaite (DDFM = Satterth). As médias ajustadas foram calculadas e comparadas pela opção PDIFF do “statement” LSMEANS. Para todas as análises estatísticas, significância foi declarada quando $P \leq 0,05$ e tendência quando $P \leq 0,10$.

RESULTADOS

Consumo e Digestibilidade Aparente Total da Matéria seca e dos Nutrientes

No presente estudo, as fontes dietéticas de nitrogênio não alteraram o consumo de matéria seca e de nutrientes, com exceção do consumo de extrato etéreo, que foi aumentado ($P=0,001$) com a inclusão de grão de soja na dieta. As vacas alimentadas com grão de soja na dieta consumiram em média 0,19 Kg/vaca/dia de extrato etéreo a mais do que as vacas alimentadas com as demais fontes nitrogenadas (Tabela 2). Desta forma, as fontes dietéticas de nitrogênio não alteram a digestibilidade aparente total da MS, MO, EE, carboidratos totais (CHOT), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos não fibrosos (CNF) e NDT. No entanto, com a inclusão de grão de soja na dieta a digestibilidade aparente total da proteína foi reduzida em cerca de 10 % ($P= 0,003$), quando comparada à digestibilidade observada nas vacas alimentadas com as demais fontes nitrogenadas, que não diferiram entre si (Tabela 3).

Tabela 2. Efeito de diferentes fontes nitrogenadas da dieta sobre o consumo de matéria seca e de nutrientes.

Consumo	Fontes nitrogenadas da dieta				EPM*	P
	¹ FS + ureia (controle)	¹ FS + alta inclusão de ureia	² GSCI	³ FGM		
	Kg/vaca/dia					
MS	18,74	18,6	18,48	18,53	0,34	0,94
MO	15,11	15	15,05	15,29	0,26	0,8
PB	2,67	2,64	2,61	2,68	0,05	0,58
EE	0,38 ^b	0,38 ^b	0,58 ^a	0,40 ^b	0,02	0,0001
CT	14,24	13,7	13,85	14,1	0,26	0,28
FDN	5,31	5,29	5,26	5,27	0,11	0,99
FDN _{cp}	5,1	5,12	5,09	5,11	0,11	0,10
CNF	9,51	9,38	9,16	9,37	0,18	0,46
CNF _{cp}	13,1	13	13,24	13,01	0,23	0,82
ELI ¹	28,48	28,2	28,98	28,42	0,53	0,74
	% do Peso Vivo					
MS	3,26	3,23	3,21	3,21	0,07	0,87
FDN	0,89	0,89	0,88	0,89	0,02	0,98

Médias ajustadas seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem entre si ($P > 0,05$). ¹FS= Farelo de soja; ²GSCI= Grão de soja cru integral; ³FGM= Farelo de glúten de milho; MS= Matéria seca; MO= Matéria orgânica; PB= Proteína bruta; EE= Extrato etéreo; CT= Carboidratos totais; FDN= Fibra em detergente neutro; FDN_{cp}= FDN corrigida para cinzas e proteína; CNF= Carboidratos não fibrosos; CNF_{cp}= CNF corrigido para cinzas e proteína; ELI= Energia líquida de lactação ¹(Mcal/vaca/dia). *EPM = Erro padrão da média

Tabela 3. Efeito de diferentes fontes nitrogenadas da dieta sobre a digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes.

Digestibilidade (g/kg MS)	Fontes nitrogenadas da dieta				EPM*	P
	¹ FS + ureia (controle)	¹ FS + alta inclusão de ureia	² GSCI	³ FGM		
MS	665,5	666,3	656,5	656,5	0,62	0,84
MO	638,3	633,0	626,6	634,1	0,78	0,94
PB	661,5 ^a	675,7 ^a	600 ^b	661,7 ^a	0,94	0,003
EE	780,1	808,8	724,3	779,3	1,18	0,08
CT	684,9	665,9	682,7	673,8	0,62	0,55
FDN	461,8	440,1	468,7	448,7	1,21	0,60
CNF	826,0	828,8	826,1	818,2	0,54	0,89
NDT	750,5	749,8	740,9	749,8	0,28	0,38

Médias ajustadas seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem entre si ($P > 0,05$). ¹FS= Farelo de soja; ²GSCI= Grão de soja cru integral; ³FGM= Farelo de glúten de milho; MS= Matéria seca; MO= Matéria orgânica; PB= Proteína bruta; EE= Extrato etéreo; CT= Carboidratos totais; FDN= Fibra em detergente neutro; CNF= Carboidratos não fibrosos; NDT= Nutrientes digestíveis totais.

*EPM = Erro padrão da média.

Produção, composição e frações proteicas do leite

As dietas apresentaram efeitos sobre a produção de leite (PL), produção de leite corrigida para 3,5% gordura (PCL), sólidos totais (kg/vaca/dia), produção de gordura (Kg/vaca/dia), produção de caseína (Kg/vaca/dia), teor de proteína, nitrogênio não caseinoso, caseína, proteína verdadeira e a relação caseína : proteína. A inclusão de grão de soja na dieta reduziu ($P < 0,002$) a produção de leite e a produção de leite corrigida, em relação às demais fontes nitrogenadas que não diferiram entre si. As vacas alimentadas com grão de soja na dieta apresentaram produção de leite 0,99; 1,44 e 1,82 litros/vaca/dia menor que as vacas alimentadas com a dieta controle, elevada ureia e FGM, respectivamente.

Como resposta a produção de leite, as vacas alimentadas com grão de soja na dieta produziram cerca de 12 % de gordura a menos do que as vacas alimentadas com a dieta controle e cerca de 16% menos em relação as demais dietas. Da mesma forma, a produção de sólidos totais (ST Kg/vaca/dia) foi menor para as vacas alimentadas com grão de soja na dieta. As vacas alimentadas com a dieta controle, alta ureia e FGM produziram 0,15, 0,21 e 0,25 Kg/vaca/ dia de ST a mais que as vacas que receberam grão de soja na dieta (Tabela 4).

Tabela 4. Efeito de diferentes fontes nitrogenadas da dieta sobre a produção e a composição do leite.

Variável	Fontes nitrogenadas da dieta				EPM*	P
	¹ FS + ureia (controle)	¹ FS + alta inclusão de ureia	² GSCI	³ FGM		
	Kg/vaca/dia					
PL	16,93 ^a	17,38 ^a	15,94 ^b	17,76 ^a	0,30	0,002
PLC	17,40 ^a	18,06 ^a	15,09 ^b	18,34 ^a	0,33	0,0007
Gordura	0,62 ^a	0,65 ^a	0,55 ^b	0,65 ^a	0,01	0,002
Proteína	0,57	0,56	0,51	0,58	0,009	0,052
ST	2,02 ^a	2,08 ^a	1,87 ^b	2,12 ^a	0,036	0,002
	g/Kg					
Gordura	37,1	37,0	35,3	37	0,05	0,29
Proteína	34,8 ^a	32,5 ^b	33,3 ^b	32,7 ^b	0,04	0,0002
ST	121	119,5	118,9	119,8	0,069	0,54
NUL	14,87	15,42	13,00	14,52	0,51	0,21
EP	0,92	0,94	0,89	0,99	0,03	0,20

Médias ajustadas seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem entre si ($P > 0,05$). ¹FS= Farelo de soja; ²GSCI= Grão de soja cru integral; ³FGM= Farelo de glúten de milho; PL= Produção de leite; PLC= PL corrigida para 3,5% de gordura; ST= Sólidos totais; NUL= Nitrogênio ureico do leite; EP= eficiência produtiva (CMS/PL).

*EPM = Erro padrão da media.

O teor de proteína do leite foi maior para vacas alimentadas com a dieta controle, em relação às demais fontes nitrogenadas avaliadas, que não diferiram entre si. De forma semelhante, a produção de proteína verdadeira, caseína, nitrogênio não caseinoso (g/Kg dia) e a relação proteína verdadeira: caseína foram maiores para vacas alimentadas com a dieta controle em relação as demais fontes nitrogenadas avaliadas. No entanto, não houve efeito das fontes nitrogenadas nas dietas sobre eficiência produtiva, teor de sólidos totais, teor de gordura, teor de nitrogênio não proteico, ureia (mg/dl), nitrogênio ureico (mg/dl) e produção de proteína do leite (kg/vaca/dia) (Tabela 5).

Tabela 5. Efeito das dietas experimentais sobre as frações nitrogenadas do leite.

Variável	Fontes nitrogenadas da dieta				EPM*	P
	¹ FS + ureia (controle)	¹ FS + alta inclusão de ureia	² GSCI	³ FGM		
	g/100g de leite					
PB	3,46 ^a	3,36 ^b	3,34 ^b	3,30 ^b	0,03	0,01
NNP	0,18	0,19	0,19	0,18	0,002	0,68
NNC	1,03 ^a	0,97 ^b	0,97 ^b	0,94 ^b	0,01	0,004
Caseína	2,44	2,37	2,35	2,36	0,03	0,08
PV	3,28 ^a	3,16 ^b	3,16 ^b	3,11 ^b	0,03	0,004
Caseína/PV	0,74	0,75	0,75	0,76	0,003	0,06

Médias ajustadas seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem entre si ($P > 0,05$). ¹FS= Farelo de soja; ²GSCI= Grão de soja cru integral; ³FGM= Farelo de glúten de milho; PB= Proteína bruta; NNP= Nitrogênio não proteico; NNC= Nitrogênio não caseinoso; PV= Proteína verdadeira.

*EPM = Erro padrão da média.

DISCUSSÃO

No presente estudo, a inclusão de grão de soja na dieta em substituição parcial ao farelo de soja reduziu a digestibilidade aparente total da proteína bruta e a produção de leite quando comparada as demais fontes nitrogenadas avaliadas. Desta forma, a inclusão de 17,1 ou 10,2 g/Kg de MS de ureia ou glúten de milho, respectivamente, em substituição parcial ao farelo de soja, não altera as respostas produtivas de vacas leiteiras em lactação alimentadas com cana de açúcar como única fonte de volumoso. Estes resultados indicam que a substituição parcial do farelo de soja por ureia pode contribuir para reduzir os custos de alimentação do rebanho sem alterar a produção de leite, o que torna o sistema de produção economicamente mais eficiente. Por outro lado, apesar de ter maior custo agregado relativo ao nitrogênio, o farelo de glúten de milho pode ser um ingrediente mais sustentável, pois pode apresentar maior eficiência de utilização do nitrogênio dietético durante os processos digestivos em comparação a ureia, possivelmente pela menor excreção de nitrogênio na urina resultante da maior produção de amônia no rúmen, que é aumentada com a inclusão de NNP na dieta (1,2).

Consumo de nutrientes e Digestibilidade Aparente

Os resultados do presente estudo indicaram que o consumo de (EE) foi mais elevado para vacas alimentadas com grão de soja cru em relação às demais dietas. Resultado semelhante foi observado por Freitas Junior et al. (20), que relataram que a inclusão de grão de soja na dieta de vacas leiteiras não alterou o consumo de matéria seca, porém aumentou o consumo de extrato etéreo, em relação a dieta controle (sem suplementação lipídicas). No presente estudo, o aumento do consumo de EE pode ser explicado pelo maior teor de EE (41,4g/Kg MS) nas dietas com grão de soja cru em relação às demais dietas (Tabela 2). Como o consumo de MS não apresentou diferença entre os tratamentos, consequentemente as vacas alimentadas com grão de soja ingeriram maior quantidade de EE. De forma semelhante ao presente estudo, Voltolini et al. (12) relataram que a adição de farelo de soja em substituição à ureia em dietas com cana-de-açúcar para alimentação de dois grupos de vacas produzindo 10 e 18 kg/dia, não alterou o consumo de matéria seca. A ausência de efeitos negativos sobre o consumo de matéria seca também foi relatado por Pedroso et al. (21), que ao adicionar farelo de glúten de milho na dieta de vacas leiteiras o consumo de matéria seca não foi alterado.

No presente estudo a digestibilidade da proteína dietética foi reduzida com a inclusão de grão de soja cru na dieta. Este resultado pode ser atribuído aos fatores antinutricionais

presentes no grão de soja que não foi submetido ao processamento térmico (22). A presença de fatores que inibem a atividade da tripsina e/ou quimiotripsina tem potencial para reduzir a digestibilidade da proteína e aumentar a excreção de nitrogênio nas fezes (23). Desta forma, na alimentação de ruminantes, quando a inclusão de grão de soja na dieta excede a capacidade de detoxificação dos compostos antinutricionais pelos micro-organismos ruminais, pode ocorrer redução da atividade das enzimas proteolíticas durante os processos digestivos, resultando em menor digestibilidade aparente total da proteína dietética (1,2).

Produção e Composição do leite

Os resultados obtidos no presente estudo para produção de leite e produção de leite corrigida para 3,5% de gordura indicaram redução de produção para vacas alimentadas com a dieta contendo grão de soja cru. Resultados similares foram descritos por Pereira et al. (21), que ao comparar níveis de 0 e 30% da MS de grão de soja cru na dieta de vacas leiteiras observaram queda na produção para os animais consumindo a dieta contendo o grão de soja. Freitas Junior et al. (20,24) relataram que vacas alimentadas com grão de soja na dieta produziram 2,5 L de leite a menos que as vacas alimentadas com a dieta controle (sem suplementação lipídica). Da mesma forma, Barleta et al. (25) relataram que a inclusão de grão de soja (de 0 a 24 % da matéria seca) na dieta de vacas leiteiras reduziu linearmente a produção e o teor de proteína do leite, porém não alterou a produção de leite corrigida para 3,5 % de gordura.

No presente estudo, os resultados para produção de sólidos totais (kg/vaca/dia) e produção de gordura também foram menores pelo uso do grão de soja na dieta. Estes resultados podem ser devido a menor produção de leite das vacas alimentadas com grão de soja na dieta, que por consequência influenciou negativamente a produção de gordura e a produção de sólidos totais para este tratamento. Com base nos resultados do presente estudo, a menor produção de leite pelas vacas alimentadas com grão de soja pode ter ocorrido devido ao efeito negativo que esta dieta ocasionou sobre a digestibilidade da proteína bruta.

Frações Proteicas do Leite

O teor de proteína e as frações proteicas do leite desempenham papel importante na fabricação de derivados lácteos, como o queijo, pois as proteínas do leite estão diretamente associadas com o rendimento industrial destes produtos. As frações proteicas do leite são afetadas principalmente pelo suprimento de proteína metabolizável (PM) e pelo perfil de aminoácidos essenciais dessa proteína (2). No presente estudo, vacas alimentadas com a dieta controle (farelo de soja e baixa inclusão de ureia) apresentaram maior produção de proteína bruta e proteína verdadeira do leite, em comparação com as vacas alimentadas com as demais dietas, que não diferiram entre si. Este resultado pode ser atribuído ao perfil de aminoácidos do farelo de soja, que está mais próximo ao adequado para a produção de leite em relação às demais fontes nitrogenadas avaliadas (2).

Contrariamente aos resultados do presente estudo, Voltolini et al (12) não observaram efeito de diferentes níveis de proteína metabolizável na dieta de vacas leiteiras sobre o teor de compostos proteicos do leite. Freitas Junior et al. (20) relataram que a inclusão de grão de soja na dieta de vacas leiteiras não alterou o teor de proteína e as frações nitrogenadas do leite, em comparação a dieta controle (sem suplementação lipídica). De forma semelhante, Aquino et al. (6) relataram que a inclusão de ureia (0, 0,75 e 1,5 % da MS) em dietas a base de cana de açúcar como volumoso não alterou o teor de proteína bruta e as frações nitrogenadas do leite. Entretanto, Pina et al. (26) descreveram maior teor de proteína do leite para vacas alimentadas com farelo de soja em comparação ao farelo de algodão. Baker et al. (27), ao avaliarem os efeitos da concentração, degradabilidade e qualidade da proteína da

dieta sobre a concentração proteica do leite verificaram correlação positiva entre o teor de proteína verdadeira do leite e o suprimento de PDR das dietas. Este resultado foi diferente do presente estudo onde a maior produção de proteína verdadeira do leite foi encontrada para as vacas recebendo a dieta controle.

CONCLUSÕES

A substituição parcial do farelo de soja por diferentes fontes nitrogenadas não altera o consumo de matéria seca de vacas leiteiras em lactação. Entretanto, a inclusão de grão de soja na dieta aumenta o consumo de extrato etéreo, reduz a digestibilidade aparente total da proteína e diminui a produção de leite e a produção de sólidos totais. Desta forma, podem ser incluídos 17,1 g/Kg de MS de ureia ou 10,2 g/Kg de MS de glúten de milho, em substituição parcial ao farelo de soja, na dieta sem que haja qualquer alteração na digestibilidade e na produção de leite de vacas em lactação alimentadas com cana de açúcar como única fonte de volumoso da dieta. No entanto, vacas alimentadas com farelo de soja (164 g/Kg de MS) e baixo teor de ureia (10,2 g/Kg de MS) na dieta produzem mais proteína bruta e proteína verdadeira do leite do que vacas alimentadas com as demais fontes nitrogenadas (alta inclusão de ureia – 17,1 g/Kg de MS, farelo de glúten de milho e grão de soja), que não diferem entre si.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Processo nº: 2008/11140-0) pela concessão dos recursos necessários a realização do presente estudo.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Este estudo foi aprovado pela comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo em reunião de 18 de março de 2009, sob protocolo nº 1634/2009 e está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal.

REFERÊNCIAS

1. National Research Council. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th ed. Washington: National Academy Press; 2001.
2. Santos FAP, Santos JEP, Theurer CB, Huber JT. Effects of rumen undegradable protein on dairy cow performance: a 12-year literature review. *J Dairy Sci.* 1998;81:3182-213.
3. Fernandes AM, Queiroz AC, Lana RP, Pereira JC, Cabral LS, Vittori A, et al. Estimates of the Milk Production by Crossbred Holstein Cows, in Accordance to CNCPS System, in Diets Containing Sugar Cane with Different Nutritive Values. *Rev Bras Zootec.* 2003;30:1778-85.
4. Mendonça SS, Campos JMS, Valadares Filho SC. Intake, Apparent Digestibility, Milk Production and Composition and Ruminant Variables of Dairy Cows Fed Sugar Cane Based Diets. *Rev Bras Zootec.* 2004;33:481-92.

5. Magalhães ALR, Campos JMS, Valadares Filho SC, Torres RA, Mendes Neto JM, Assis AJ. Sugar Cane as a Substitute for Corn Silage in Diets for Milking Cows. Performance and Economical Viability. *Rev Bras Zootec.* 2004;33:1292-302.
6. Aquino AA, Lima YVR, Botaro BG, Peixoto Jr, Santos MV. Effects of dietary urea levels on milk protein fractions of Holstein cows. *Anim Feed Sci Technol.* 2007;140:191-8.
7. Aquino AA, Botaro BB, Ikeda FS, Rodrigues PHM, Martins MF, Santos MV. Effect of increasing dietary urea levels on milk yield and composition of lactating cows. *Rev Bras Zootec.* 2007;36:881-7.
8. Jesus EF, Conti LHA, Tomazi T, Migliano MED, Prada e Silva LF, Rennó FP, et al. Intake, Nutrient Digestibility and Milk Yield of Dairy Cows Fed Urea and Two Levels of Crude Protein in Diets with Sugar Cane. *J Anim Vet Adv.* 2012;11:4135-42.
9. Costa MG, Campos JMS, Valadares Filho SC. Effects of Feeding Corn Silage or Different Dietary Ratios of Sugarcane and Concentrate on Production of Lactating Dairy Cows. *Rev Bras Zootec.* 2005;34Suppl:2437-45.
10. Magalhães ALR, Campos JMS, Cabral LD, Mello R, de Freitas JA, Torres RA et al. Effects of replacing corn silage with sugarcane on production and ruminal metabolism of lactating dairy cows. *Rev Bras Zootec.* 2006;35:591-9.
11. Sousa DP, Campos JMS, Valadares Filho SC, Lana RP, Sedyama CAZ, Mendes Neto JM. Feeding behavior, feed intake and digestibility, milk composition and production of cows fed maize silage or sugarcane with whole cottonseed. *Rev Bras Zootec.* 2009;38:2053-62.
12. Voltolini TV, Santos FAP, Martinez JC, Bittar CMM, Imaizumi H, Cortinhas, CS. Different metabolizable protein levels in sugar cane diets to lactating dairy cows. *Cienc Anim Bras.* 2008;9:309-18.
13. Association of Official Analytical Chemistry. Official methods of analysis. 16a ed. Arlington, VA: Association of Analytical Communities; 1995.
14. Van Soest PJ, Mason VC. The influence of Maillard reaction upon the nutritive value of fibrous feeds. *Anim Feed Sci Technol.* 1991;32:45-53.
15. Mertens DR. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *J AOAC Int.* 2002;85:1217-40.
16. Hall MB. Making nutritional sense of nonstructural carbohydrate. In: Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium; 1998; Gainesville. Gainesville: Florida University; 1998. p.108-21.
17. Casali AO, Detmann E, Valadares Filho SC, Pereira JC, Heriques LT, Freitas SG, et al. Influence of incubation time and particles size on indigestible compounds contents in cattle feeds and feces obtained by in situ procedures. *Rev Bras Zootec.* 2008;37:335-42.

18. Sklan D, Ashkenazi R, Brun A, Devorin A, Tabori K. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids, and cottonseeds fed to high yielding cows. *J Dairy Sci.* 1992;75:2463-72.
19. Lynch JM, Barabano DM. Indirect and direct determination of the casein content of milk by kjeldahl nitrogen analysis: collaborative study. *J AOAC Int.* 1998;81:763-74.
20. Freitas Junior JE, Rennó FP, Santos MV, Gandra JR, Maturana Filho M, Venturelli CBF. Productive performance and composition of milk protein fraction in dairy cows supplemented with fat sources. *Rev Bras Zootec.* 2010;39:845-52.
21. Pereira ES, Arruda AMV, Miranda LF, Mizubuti IY, Elaine BM, Pinto AP. Importance of interrelation carbohydrate and protein in diets of ruminants. *Semina, Cienc Agrar.* 2005;26:125-34.
22. McDonald PM, Edwards RA, Greenhalgh JFD, Morgan CA. *Animal nutrition.* Harlow, UK: Pearson; 2002.
23. Kellems RO, Church DC. *Livestock Feeds and Feeding.* 4th ed. Prentice-Hall: Upper Saddle River, NJ; 1998.
24. Freitas Junior JE, Rennó FP, Prada e Silva LF, Gandra JR, Maturana Filho M, Venturelli CBF. Blood parameters of dairy cows supplemented with different fat sources. *Cienc Rural.* 2010;40:950-6.
25. Barletta RV, Rennó FP, Gandra JR, Freitas Júnior JE, Verdurico LC, Mingoti RD, et al. Blood parameters and performance of dairy cows Fed with whole raw soybean. *Arch Zootec.* 2012;61:483-92.
26. Pina DS, Valadares Filho SC, Valadares RFD, Campos JMS, Detmann E, Marcondes MI, et al. Consumo e digestibilidade aparente total dos nutrientes, produção e composição do leite de vacas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de proteína. *Rev Bras Zootec.* 2006;35:1543-51.
27. Baker LD, Ferguson JD, Chalupa W. Responses in urea and true protein feeding schemes for protein of milk to different dairy cows. *J Dairy Sci.* 1995;78:2424-34.

Recebido em: 07/03/2014

Aceito em: 09/03/2015

IDENTIFICAÇÃO E PERFIL DE SENSIBILIDADE DE *Enterobacter* spp. ISOLADOS DE LEITE BOVINO CRU

Taila dos Santos Alves¹
Amanda Keller Siqueira²
Mirtis Maria Giaciani Ferraz³
Domingos da Silva Leite⁴

RESUMO

A produção e o consumo de leite e derivados vêm aumentando anualmente no Brasil. A emergência do consumo de leite cru está relacionada à busca por produtos que mantenham preservadas suas propriedades nutricionais. No entanto, este hábito aumenta os riscos do consumo de leite e derivados contaminados por micro-organismos patogênicos. As bactérias do gênero *Enterobacter* são amplamente distribuídas na natureza e fazem parte da microbiota do trato gastrointestinal humano e animal. *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Pantoea agglomerans* e *Cronobacter sakazakii* são considerados patógenos oportunistas. Nesse sentido, o presente estudo investigou a ocorrência e a diferenciação bioquímica de espécies de *Enterobacter* isolados de leite bovino cru, a caracterização do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e a pesquisa de genes de resistência. Do total de 104 cepas de *Enterobacter* spp. foram identificadas *E. cloacae* (n=39), *Pantoea agglomerans* (n=23), *Cronobacter sakazakii* (n=18) e *E. aerogenes* (n=9). Destas, 26% apresentaram resistência a três ou mais antimicrobianos. O gene *bla*_{TEM} foi encontrado em 27% dos isolados. Este achado alerta quanto ao risco de infecções por micro-organismos ambientais resistentes, associados ao consumo de leite bovino cru.

Palavras-chave: Enterobacteriaceae, *Cronobacter sakazakii*, *Pantoea agglomerans*, resistência, rebanho leiteiro.

IDENTIFICATION AND SENSITIVITY PROFILE OF *Enterobacter* spp. ISOLATED FROM RAW COW MILK

ABSTRACT

The production and consumption of milk and dairy products is growing fast in Brazil. The increase consumption of raw milk is related to the interest for products that keep conserved their nutritional properties. However, this habit increases the risks of consumption of milk and dairy products contaminated with pathogenic microorganisms. *Enterobacter* spp. is widely distributed in nature and is part of the commensal microbiota of the intestinal tracts of humans and animal. *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Pantoea agglomerans* and *Cronobacter sakazakii* are recognized as opportunistic pathogens. The current study investigated the occurrence and the differentiation of *Enterobacter* species isolated from raw cow milk, the characterization of sensitivity profile to antimicrobials and presence of resistant genes. From a total of 104 strains of *Enterobacter* spp. were identified *E. cloacae* (n=39), *Pantoea agglomerans* (n=23), *Cronobacter sakazakii* (n=18) and *E. aerogenes* (n=9). Among these, 26% were resistant to three or more antimicrobials. The *bla*_{TEM} gene was found in 27%

¹ Mestrando do Departamento de Genética, Evolução e Bioagentes, Instituto de Biologia (IB), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Contato principal para correspondência.

² Pós-doutorando do Departamento de Genética, Evolução e Bioagentes, Instituto de Biologia (IB), UNICAMP

³ Bióloga Departamento de Genética, Evolução e Bioagentes, Instituto de Biologia (IB), UNICAMP

⁴ Docente do Departamento de Genética, Evolução e Bioagentes, Instituto de Biologia (IB), UNICAMP

of the isolates. Here, we highlighted the risk of infection by potential environmental microorganisms, resistant to some antimicrobials, associated with consumption of raw cow milk.

Keywords: Enterobacteriaceae, *Cronobacter sakazakii*, *Pantoea agglomerans*, resistance, dairy cattle.

IDENTIFICACIÓN Y PERFIL DE LA SENSIBILIDAD DE *Enterobacter* spp. AISLADOS DE LECHE CRUDA DE VACA

RESUMEN

La producción y el consumo de leche y productos lácteos está aumentando anualmente en Brasil. El surgimiento del consumo de leche cruda se relaciona con la búsqueda de productos que conservan sus propiedades nutricionales. Esta conducta aumenta riesgos del consumo de leche y productos lácteos contaminados con microorganismos patógenos. Las bacterias del género *Enterobacter* son ampliamente distribuidas en la naturaleza y forma parte de los microorganismos comensales del aparato gastrointestinal humano y animal. *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Pantoea agglomerans* y *Cronobacter sakazakii* son citadas como patógenos oportunistas. De esta manera, este estudio investigó la ocurrencia y diferenciación bioquímica de *Enterobacter* spp. aislados de leche cruda de ganado bobino, la caracterización del perfil de sensibilidad frente a los antimicrobianos y la detección de los genes de resistencia. Del total de 104 cepas de *Enterobacter* spp. se identificaron *E. cloacae* (n=39), *Pantoea agglomerans* (n=23), *Cronobacter sakazakii* (n=18), *E. aerogenes* (n=9). De estos, 26% mostraron resistencia a tres o más antimicrobianos. En 27% de las cepas el gen *bla*_{TEM} fue detectado. Por lo tanto, este hallazgo advierte sobre el riesgo de infecciones por microorganismos resistentes ambientales, asociados con el consumo de leche cruda de vaca.

Palabras clave: Enterobacteriaceae, *Cronobacter sakazakii*, *Pantoea agglomerans*, resistencia, vacas lecheras.

INTRODUÇÃO

O Brasil figura entre os maiores produtores mundiais de leite, atingindo aproximadamente 35 bilhões de litros anuais, e consumo *per capita* estimado em 172,6 L/ha/ano (1). Segundo Claeys et al. (2), existe crescente demanda para o consumo de leite cru apoiada na crença de que os processos de aquecimento podem reduzir a qualidade nutricional e os benefícios à saúde. Porém, o alimento *in natura* pode representar excelente meio de cultura para diversos micro-organismos devido ao conteúdo nutritivo, pH neutro e a alta atividade de água.

Os coliformes são os principais micro-organismos isolados de leite cru (3) incluindo as bactérias do gênero *Enterobacter*. Estes micro-organismos estão amplamente distribuídos na natureza e fazem parte da microbiota do trato gastrintestinal humano e animal (4), por vezes considerados patógenos oportunistas (5, 6, 7).

Cronobacter sakazakii (*Enterobacter sakazakii*), *Pantoea agglomerans* (*Enterobacter agglomerans*) e *Enterobacter cloacae* podem ser isolados de amostras clínicas e de alimentos, enquanto *Enterobacter aerogenes* e *Enterobacter cloacae* estão mais associados a casos de mastite bovina (8). Este grupo de micro-organismos é frequentemente isolado de afecções em humanos, principalmente em recém-nascidos, incluindo casos de colite necrosante e meningite (8), bacteremia, infecções de tecidos moles, ossos e articulações (9).

Cetinkaya et al. (10) ressaltaram que muitos casos de infecção por *Cronobacter* em recém-nascidos estão associados à ingestão de fórmulas infantis em pó. No entanto, também são encontrados em outros alimentos e no ambiente (7, 11, 12). A contaminação das fórmulas infantis em pó por *Cronobacter sakazakii* pode estar relacionada à adição de nutrientes sensíveis ao calor após a pasteurização, a ingredientes derivados de vegetais, como também na preparação final para consumo (7, 11), o que é favorecido pela capacidade do micro-organismo em sobreviver em ambiente com baixa umidade (13).

O uso indiscriminado de antimicrobianos em medicina veterinária e humana aumenta a pressão de seleção para micro-organismos resistentes, que podem ser veiculados por alimentos de origem animal contaminados (14). Entre os mecanismos de resistência, merece destaque a produção de β -lactamases, das quais as β -lactamases de espectro estendido (ESBL) têm sido crescentemente estudadas (14, 15, 16).

Em razão da importância das bactérias entéricas como contaminantes do leite, incluindo *Cronobacter sakazakii*, *Pantoea agglomerans*, *Enterobacter cloacae* e *Enterobacter aerogenes* e suas implicações para a saúde pública, foi investigada a ocorrência destes micro-organismos, e a caracterização do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos destas espécies em isolados de leite bovino cru.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 104 isolados de *Enterobacter* spp. provenientes de leite bovino cru, obtidos de 89 tanques coletivos e 102 tanques individuais de propriedades convencionais, 124 amostras de leite convencional informal e 67 de leite orgânico, estocados na bacterioteca do Laboratório de Antígenos Bacterianos, do Departamento de Genética, Evolução e Bioagentes, do Instituto de Biologia, da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Destes, 51 % (53/104) foram isolados de leite informal, 30 % (31/104) de tanques coletivos, 12 % (12/104) de leite orgânico e 7 % (8/104) de tanques individuais.

A identificação bioquímica das espécies *C. sakazakii*, *P. agglomerans*, *E. cloacae* e *E. aerogenes* foi realizada a partir das provas bioquímicas de lisina e ornitina descarboxilase, arginina dihidrolase, urease, fermentação de adonitol, *myo*- Inositol e D- Sorbitol, bem como a presença de colônias com produção de pigmento amarelo Holt et al. (5), conforme descrito na Tabela 1. As reações de descarboxilação e dihidrolase foram obtidas a partir do método descrito por Fay e Barry (17), modificado por Brooks e Sodeman (18). O teste de urease foi realizado com o método de Rustigian e Stuart's. Para a fermentação foi preparado meio base, adicionado do carboidrato (19). Para a observação da produção de pigmento amarelo as cepas foram cultivadas em placas contendo ágar triptona de soja (TSA), em temperatura de 25°C, por 2 a 5 dias (20). A linhagem ATCC 13048 (*Enterobacter aerogenes*) foi utilizada como controle das reações bioquímicas.

O perfil de sensibilidade microbiana foi realizado mediante a técnica de difusão com discos (21) frente aos seguintes antimicrobianos: ampicilina (10 μ g), amoxicilina/ácido clavulânico (30 μ g), cefalexina (30 μ g), cefoperazona sódica (75 μ g), ceftiofur (30 μ g), ceftriaxona (30 μ g), cloranfenicol (30 μ g), enrofloxacina (5 μ g), gentamicina (10 μ g), sulfametoxazole/trimetoprim (25 μ g) e tetraciclina (30 μ g) [22, 23]. A interpretação dos resultados seguiram as recomendações do CLSI (21).

O diagnóstico de produção de ESBL foi obtido pelos métodos de disco aproximação (24) e epsilométrico para as cepas que exibiram resistência as cefalosporinas de terceira geração. No primeiro foram utilizados discos de aztreonam (30 μ g), ceftriaxona (30 μ g), cefotaxima (30 μ g) e ceftazidima (30 μ g) dispostos a uma distância de 20 mm do disco de amoxicilina/ácido clavulânico (30 μ g). Para o teste epsilométrico foram utilizadas fitas de E-Test[®] (Biomérieux) contendo os antimicrobianos cefepima/ácido clavulânico (0,25-16/0,064-4

µg/mL) e ceftazidima/ácido clavulânico (0,5-32/0,064-4 µg/mL). As leituras foram realizadas de acordo com as recomendações do fabricante.

Tabela 1. Diferenciação bioquímica de espécies de *Enterobacter* spp.

Teste	<i>E. aerogenes</i>	<i>E. agglomerans</i> *	<i>E. cloacae</i>	<i>E. sakazakii</i> **
Hidrólise de ureia	-	[-]	d	-
Lisina descarboxilase	+	-	-	-
Arginina dihidrolase	-	-	+	+
Ornitina descarboxilase	+	-	+	+
Produção de ácido a partir:				
Adonitol	+	-	[-]	-
myo- Inositol	+	[-]	[-]	[+]
D-Sorbitol	+	d	+	-
Pigmento amarelo	-	[+]	-	+

Fonte: Adaptado de Holt et al. (1994)

* *Pantoea agglomerans*; ** *Cronobacter sakazakii*; d: 11-89% positivas; [-]: tardio

A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi empregada para a pesquisa dos genes de resistência *ampC*, *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}* e *bla_{CTX-M}*, de acordo com a Tabela 2. Para cada reação foi adicionado 1,5 U *Taq* polimerase, 3µL de Tampão 10X para PCR, 400µM de dNTP, 2,5mM de MgCl₂, 7µL de DNA obtido por fervura e iniciadores em concentrações ótimas, em volume final de 30 µL. O volume de 10µL (8 µL do produto da PCR adicionados de 2 µL de tampão de amostra) de cada reação foram submetidos à eletroforese, em gel de agarose a 1,2%, e corado em solução de Brometo de Etídeo a 1µg/ml, por 10 min, e visualizado em transiluminador de luz U.V. Como marcador de peso molecular foi utilizado o padrão de 1Kb. A análise estatística descritiva dos resultados foi realizada pelo cálculo da frequência relativa.

Tabela 2. Iniciadores utilizados para a pesquisa de genes de resistência e parâmetros das reações de PCR.

Iniciador	Sequência (5'-3')	T°	pb	Ref.
<i>ampC</i>	CCCCGCTTATAGAGCAACAA	61°C	634	Féria et al. (25)
	TCAATGGTCGACTTCACACC			
<i>bla_{TEM}</i>	TCGGGGAAATGTTCGCG	61°C	972	
	TGCTTAATCAGTGAGGCACC			
<i>bla_{SHV}</i>	TTATCTCCCTGTTTAGCCACC	61°C	795	Cao et al. (26)
	GATTGCTGATTTCGCTCGG			
<i>bla_{CTX-M}</i>	CGATGTGCAGTACCAGTAA	60°C	585	Batchelor et al. (27)
	TTAGTGACCAGAATCAGCGG			

* T°: temperatura de anelamento; pb: tamanho do produto da PCR; Ref.: referência.

RESULTADOS

Com base nos testes bioquímicos, foi possível identificar 39 cepas de *Enterobacter cloacae* (37,5%), 23 *Pantoea agglomerans* (22,1%), 18 *Cronobacter sakazakii* (17,3%) e 9 *Enterobacter aerogenes* (8,7%). Outras espécies do gênero compreenderam 7 *Enterobacter taylorae* (6,7%) e 4 *Enterobacter amnigenus* (3,8%). Quatro (3,8%) isolados não foram identificados com os métodos utilizados.

A maior frequência de resistência aos antimicrobianos foi observada para a ampicilina em 87 cepas (83,7%), seguido de cefalexina em 48 (46,2%) e amoxicilina/ácido clavulânico em 34 (32,7%). Foi observada menor frequência de cepas resistentes para: cloranfenicol 3 (2,9%), cefoperazona sódica 3 (2,9%), ceftriaxona 2 (1,9%), enrofloxacin 1 (0,96%) e ceftiofur 1 (0,96%). Não foram encontradas cepas resistentes para gentamicina, sulfametoxazole/trimetoprim e tetraciclina. A Tabela 3 mostra o número de cepas resistentes, de cada espécie identificada, para cada um dos antimicrobianos avaliados.

A multirresistência a três ou mais antimicrobianos foi observada em 27 cepas (26%), das quais uma (*P. agglomerans*) apresentou resistência a cinco antimicrobianos (ampicilina, cefalexina, ceftriaxona, ceftiofur e cefoperazona sódica). Todos os isolados resistentes apresentaram resistência para ao menos um antimicrobiano do grupo dos β -lactâmicos, sendo que 4 (3,8%) foram resistentes para as cefalosporinas de terceira geração testadas. No entanto, as mesmas cepas não foram positivas para os testes de disco aproximação e epsilométrico.

Tabela 3. Frequência relativa de resistência frente aos antimicrobianos testados entre as espécies de *Enterobacter* spp. isolados de leite bovino cru.

ATB	<i>E. cloacae</i>	<i>P. agglomerans</i>	<i>C. sakazakii</i>	<i>E. aerogenes</i>	Outros	NI	Total
	n° (%)						
AMC	22 (21,2)	1 (0,96)	0	9 (8,7)	1 (0,96)	1 (0,96)	34 (32,7)
AMP	33 (31,7)	15 (14,4)	17 (16,3)	9 (8,7)	9 (8,7)	4 (3,8)	87 (83,7)
CFE	17 (16,3)	9 (8,7)	7 (6,7)	9 (8,7)	5 (4,8)	1 (0,96)	48 (46,2)
CFP	0	1 (0,96)	2 (1,9)	0	0	0	3 (2,9)
CEF	0	1 (0,96)	0	0	0	0	1 (0,96)
CRO	0	1 (0,96)	0	1 (0,96)	0	0	2 (1,9)
CLO	2 (1,9)	0	0	1 (0,96)	0	0	3 (2,9)
ENO	1 (0,96)	0	0	0	0	0	1 (0,96)
Total	75 (72,1)	28 (27)	26 (25)	29 (27,9)	15 (14,4)	6 (5,8)	-

Outros: outras espécies de *Enterobacter* (*E. taylorae*, e *E. amnigenus*); NI: não identificados; ATB: antimicrobianos; n°: número de cepas resistentes; AMC: amoxicilina/ácido clavulânico; AMP: ampicilina; CFE: cefalexina; CFP: cefoperazona sódica; CEF: ceftiofur; CRO: ceftriaxona; CLO: cloranfenicol; ENO: enrofloxacin

Dos genes investigados, 28/104 (27%) cepas foram positivas para *bla*_{TEM}, das quais 12/28 (43%) foram caracterizadas como *E. cloacae* (Figura 1). Os genes *ampC*, *bla*_{SHV} e *bla*_{CTX-M} não foram detectados entre as cepas estudadas.

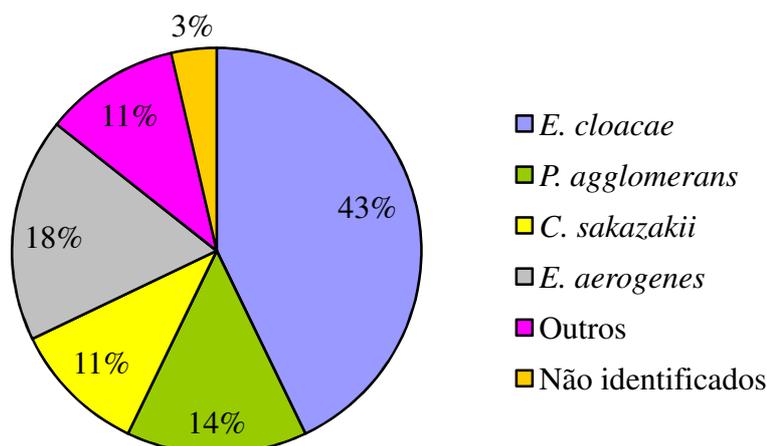


Figura 1. Frequência de cepas positivas para o gene *bla*_{TEM} entre as espécies de *Enterobacter*, *Cronobacter* e *Pantoea* isoladas de leite bovino cru.

DISCUSSÃO

Os isolados de *Enterobacter* spp. foram obtidos de amostras de leite bovino cru. Este resultado merece atenção especial, uma vez que a produção e comercialização de leite bovino cru no mercado informal correspondem cerca de 30% da produção brasileira de leite (28). O consumo de leite cru pela população humana pode significar riscos desnecessários para a saúde, já que os tratamentos térmicos não alteram as propriedades nutritivas do leite (2). As bactérias do gênero *Enterobacter* não são termotolerantes e, apesar de alguns estudos sugerirem que *C. sakazakii* apresenta maior tolerância a temperaturas elevadas do que outras enterobactérias, esses micro-organismos não sobrevivem à pasteurização (7, 13, 29).

As espécies *E. cloacae*, *P. agglomerans* e *C. sakazakii* podem ser frequentemente isoladas de alimentos, assumindo grande importância a associação dessas bactérias com casos de infecções, principalmente em recém-nascidos (8,11). Analogamente, estas espécies foram as mais encontradas entre os isolados estudados.

Os resultados obtidos quanto à identificação de *C. sakazakii* corroboram com Wahyuni e Budiarmo (8), e Kandhai et al. (11), que referiram este micro-organismo como possível contaminante, pois não foi encontrado em amostras de leite bovino cru colhido diretamente do úbere, mas esteve presente em ampla variedade de alimentos e em diferentes ambientes como as fábricas de laticínios e o doméstico.

A presença de cepas de *C. sakazakii* resistentes aos antimicrobianos do grupo dos β -lactâmicos e portadores do gene *bla*_{TEM} sugere que pode ocorrer risco de infecções por estes agentes, além de indicar associação de leite cru com a disseminação destas bactérias.

A frequência de cepas resistentes aos antimicrobianos testados e a presença do gene *bla*_{TEM} em *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *P. agglomerans* e *C. sakazakii* pode estar relacionada à práticas adotadas nos sistemas de produção que promovem pressão seletiva sobre estes micro-organismos, como o uso de antimicrobianos no tratamento de infecções como a mastite (30), na profilaxia da vaca seca (31) e como promotores de crescimento (32). No entanto, Call et al. (30) sugeriram que outros fatores podem estar envolvidos com a ocorrência de bactérias resistentes, uma vez que há a persistência dessas cepas em fazendas de produção orgânica, mesmo após longo tempo de manejo livre de antimicrobianos. Nesse sentido, a aquisição e a disseminação de bactérias resistentes por alimentos representam riscos à saúde humana (14, 15, 33).

Assim, os cuidados com a produção e com a saúde animal devem visar minimizar contaminações do produto da ordenha e evitar a seleção de micro-organismos resistentes gerada pelo uso indiscriminado de antimicrobianos, dado o risco de infecções aos consumidores e aos trabalhadores envolvidos na cadeia do leite.

CONCLUSÃO

A identificação bioquímica de espécies de *Enterobacter*, *Cronobacter* e *Pantoea* é laboriosa e sujeita a variações individuais, além de não permitir a diferenciação de todas as cepas analisadas.

A resistência aos antimicrobianos β -lactâmicos, largamente utilizados em medicina humana e veterinária, encontrada na pesquisa de genes e nos testes fenotípicos, assinalam notáveis riscos para a saúde pública, devido à possibilidade de infecções, sendo a educação dos consumidores e produtores ponto fundamental para a promoção da saúde pública.

Em pesquisas futuras estes testes devem ser acompanhados de técnicas de biologia molecular para fins de comparação entre os métodos, e para diagnosticar as espécies não determinadas pelos testes bioquímicos convencionais.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa PIBIC n° 129037/2013-3 e à FAPESP pela bolsa processo n° 2011/17957-0 e auxílio n° 2012/03128-5.

REFERÊNCIAS

1. MilkPoint. Produção de leite no Brasil deve ser de 37 bilhões de litros em 2014. 2014 [cited 2014 out 10]. Available from: <http://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/giro-lacteo/>
2. Claeys WL, Cardoen S, Daube G, Block J, Dewettinck K, Dierick K, et al. Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits. *Food Control*. 2013;31:251-62.
3. Salman AMA, Hamad IM. Enumeration and identification of coliform bacteria from raw milk in Khartoum State, Sudan. *J Cell Anim Biol*. 2011;5:121-8.
4. Mezzatesta ML, Gona F, Stefani S. *Enterobacter cloacae* complex: clinical impact and emerging antibiotic resistance. *Future Microbiol*. 2012;7:887-902.
5. Holt JG, Krieg NK, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9a ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1994.
6. Nazarowec-White M, Farber JM. *Enterobacter sakazakii*: a review. *Int J Food Microbiol*. 1997;34:103-13.
7. Healy B, Cooney S, O'Brien S, Iversen C, Whyte P, Nally J, et al. *Cronobacter* (*Enterobacter sakazakii*): An opportunistic foodborne pathogen. *Foodborne Pathog Dis*. 2010;7:339-50.

8. Wahyuni AETH, Budiarmo TY. Detection of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacter* sp from dairy cow's milk in Boyolali and Sleman. In: The 1st International Seminar on Animal Industry; 2009; Bogor. Bogor: Faculty of Animal Science, Bogor Agricultural University; 2009. P.74-7.
9. Cruz AT, Cazacu AC, Allen CH. *Pantoea agglomerans*, a plant pathogen causing human disease. *J Clin Microbiol.* 2007;45:1989-92.
10. Cetinkaya E, Joseph S, Ayhan K, Forsythe SJ. Comparison of methods for the microbiological identification and profiling of *Cronobacter* species from ingredients used in the preparation of infant formula. *Mol Cell Probes.* 2013;27:60-4.
11. Kandhai MC, Reij MW, Gorris LG, Guillaume-Gentil O, van Scothorst M. Occurrence of *Enterobacter sakazakii* in food production environments and households. *Lancet.* 2004;363:39-40.
12. Yan QQ, Condell O, Power K, Butler F, Tall BD, Fanning S. *Cronobacter* species (formerly known as *Enterobacter sakazakii*) in powdered infant formula: a review of our current understanding of the biology of this bacterium. *J Appl Microbiol.* 2012;113:1-15.
13. Al-Holy MA, Lin M, Abu-Ghoush MM, Al-Qadiri HM, Rasco BA. Thermal resistance, survival and inactivation of *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* spp.) in powdered and reconstituted infant formula. *J Food Safety.* 2009;29:287-301.
14. Njage PMK, Dolci S, Jans C, Wangoh J, Lacroix C, Meile L. Ampicillin resistance and extended spectrum β -lactamases in *Enterobacteriaceae* isolated from raw and spontaneously fermented camel milk. *Afr J Microbiol Res.* 2012;6:1446-52.
15. Geser N, Stephan R, Hächler H. Occurrence and characteristics of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) producing *Enterobacteriaceae* in food producing animals, minced meat and raw milk. *BMC Vet Res.* 2012;8:21.
16. Pereira AS, Carmo Filho JR, Tognim MCB, Sader HS. Avaliação da acurácia de testes laboratoriais para detecção de amostras de *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido. *J Bras Patol Med Lab.* 2003;39:301-8.
17. Fay GD, Barry AL. Rapid ornithine decarboxylase test for the identification of *Enterobacteriaceae*. *Appl Microbiol.* 1972;23:710-3.
18. Brooks K, Sodeman T. A rapid method for determining decarboxylase and dihydrolase activity. *J Clin Pathol.* 1974;27:148-52.
19. Mc Faddin JF. *Biochemical tests for identification of medical bacteria.* Baltimore: William & Wilkins; 1980.
20. Farmer JJ, Davis BR, Hickman-Brenner FW, McWhorter A, Huntley-Carter GP, Asbury MA. Biochemical identification of new species and biogroups of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 1985;21:46-76.

21. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard. 8th ed. CLSI document M2-A9. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2006.
22. Ribeiro MG. Princípios terapêuticos na mastite em animais de produção e de companhia. In: Andrade SF. Manual de Terapêutica Veterinária. 3a ed. São Paulo: Roca; 2008. p.759-71.
23. Winn Jr WC, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop G, Schreckenberger PC, et al. Diagnóstico Microbiológico. Texto e Atlas Colorido. 6a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.
24. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. 8th ed. CLSI document M2-A8. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2003.
25. Féria C, Ferreira E, Correia JD, Gonçalves J, Caniça M. Patterns and mechanisms of resistance to β -lactams and β -lactamase inhibitors in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from dogs in Portugal. *J Antimicrob Chemother.* 2002;49:77-85.
26. Cao V, Lambert T, Nhu DQ, Loan HK, Nguyen KH, Arlet G, et al. Distribution of extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of Enterobacteriaceae in Vietnam. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46:3739-43.
27. Batchelor M, Hopkins K, Threlfall EJ, Clifton-Hadley FA, Stallwood AD, Davies RH, et al. blaCTX-M genes in clinical *Salmonella* isolates recovered from humans in England and Wales from 1992 to 2003. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:1319-22.
28. Castro KNC, Comunello E. Associativismo entre vendedores de leite em MS: melhor para o bolso do produtor e para a saúde do consumidor. 2010 [cited 2010 abr 16]. Available from: www.infobibos.com/artigos/2010_2
29. Drudy D, Mullane NR, Quinn T, Wall PG., Fanning S. *Enterobacter sakazakii*: An emerging pathogen in powdered infant formula. *Clin Infect Dis.* 2006;42:996-1002.
30. Call DR, Davis MA, Sawant AA. Antimicrobial resistance in beef and dairy cattle production. *Anim Health Res Rev.* 2008;9:159-67.
31. Oliver SP, Murinda SE. Antimicrobial resistance of mastitis pathogens. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2012;28:165-85.
32. Van den Bogard AE, Stobberingh EE. Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animals and humans. *Int J Antimicrob Agents.* 2000;14:327-35.
33. McEwen SA, Fedorka-Cray PJ. Antimicrobial use and resistance in animals. *Clin Infect Dis.* 2002;34:93-106.

Recebido em: 25/07/2014

Aceito em: 20/02/2015

RESULTADOS DA ADMINISTRAÇÃO COM PRODUTO À BASE DE GLUCONATO DE ZINCO EM CÃES MACHOS NO MUNICÍPIO DE IBIÚNA – SP.

Francisco Rafael Martins Soto¹

RESUMO

Populações de cães podem representar um problema para a saúde pública e para o bem-estar animal. Ações para seu controle têm sido centradas em programas de esterilização de fêmeas, posse responsável e legislação específica. Este trabalho tem por objetivo avaliar os resultados da administração do produto à base de gluconato de zinco (Infertile[®]) para promover a esterilidade reprodutiva em cães machos procedentes de três bairros de baixa renda no Município de Ibiúna- SP. O estudo foi efetuado no período de março de 2009 a setembro de 2010. Foram feitas visitas seletivas casa a casa, somente em domicílios de proprietários que possuíam cães machos. Foi oferecida gratuitamente a aplicação do esterilizante nos animais e a equipe técnica aplicou um questionário para avaliar o parecer dos proprietários. As informações colhidas nos questionários foram registradas em um uma ficha cadastral. Os cães foram submetidos a um exame clínico e aqueles que estavam em condições de saúde insatisfatória/regular ou com alteração nos testículos foram excluídos da aplicação do produto. Após um período mínimo de três meses após a aplicação do esterilizante, foram sorteadas 50 fichas cadastrais e a equipe técnica retornou a estes domicílios para avaliação clínica e o nível de satisfação dos proprietários. Foram esterilizados 450 animais representando 71,88% da população estimada de cães machos dos três bairros, com uma média de 15 animais por dia. A maioria dos cães machos foi classificada como sem raça definida (79,41%) e foi constituída por animais jovens de três meses até quatro anos (63,98%). Os motivos da escolha do método estiveram relacionados principalmente por ser simples/prático (32,44%) e não causar dor ao animal (18,66%). Proprietários que não aceitaram a utilização do produto em seus cães referiram como os principais motivos da recusa o fato do cão ficar sempre domiciliado (63,64%) e a intenção de que o animal procriasse no futuro (31,83%). Quanto ao nível de satisfação dos proprietários em relação ao produto, 96% o consideraram como bom e excelente. Concluiu-se que o método pode ser benéfico em programas de controle populacional canino. Apresentou elevada aceitabilidade por ser simples, prático e seguro sob o ponto de vista clínico, sendo compatível com os princípios de bem-estar animal.

Palavras-chave: cães machos, esterilizante, controle populacional canino.

RESULTS OF APPLICATION WITH PRODUCT ZINC GLUCONATE-BASED IN MALE DOGS IN THE CITY OF IBIÚNA-SP.

ABSTRACT

Dog populations can represent a problem for public health and for animal welfare. Actions to control them have been concentrated on programs of female sterilization, responsible pet ownership and specific legislation. This study had as its object to evaluate the results of applying a zinc gluconate-based product (Infertile[®]) to cause reproductive sterility in male dogs in three low income neighborhoods in the town of Ibiuna – SP. The study was performed during the period of March 2009 to September 2010. Selective visits were made house to house only where had male dogs. The application of the sterilant was offered for free to these

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo- campus São Roque. <http://srq.ifsp.edu.br/>

animals, and a questionnaire was applied by the technical team. The information contained in the questionnaire was included in a registration form. The animals underwent a clinical exam and dogs that were found to be in unsatisfactory health conditions or with testicular alterations were excluded from receiving the product. After a minimum period of 3 months after the application of the sterilant, 50 registration forms were randomly selected and the technical team returned to those homes for clinical evaluation and to evaluate the level of satisfaction of the owners. 450 animals were sterilized representing 71.88% of the estimated population of male dogs of the 3 neighborhoods, an average of 15 animals per day. The majority of the male dogs was classified as mixed breed (79.41%) and was performed in young animals from the age of three months to four years (63.98%). The reasons for the choice of method were indicated as principally because it was simple/practical (32.44%) and didn't cause pain to the animal (18.66%). The main reasons that owners that didn't agree with the use of the product in their dogs were that the dog was always inside (63.64%) and they hope to breed the animal in the future (31.83%). The level of satisfaction with the medication showed that, 96% considered it good or excellent. We conclude that the method can be benefic in canine population control. It presented an elevated acceptability due to being simple, practical and safe from a clinical point of view, therefore compatible with animal welfare.

Keywords: male dogs, sterilant, canine population control.

RESULTADOS DE LA ADMINISTRACIÓN CON PRODUCTO A BASE DE GLUCONATO DE ZINC DE PERROS MACHOS EN LA CIUDAD DE IBIÚNA-SP.

RESUMEN

Poblaciones de perros pueden constituir un problema de salud pública y de bien estar de los animales. Acciones para su control se han centrado en los programas de esterilización, tenencia responsable y la legislación específica. Este estudio tuvo como objetivo evaluar el uso a gran escala de medicinas esterilizantes a base de gluconato de zinc (Infertile®) para los perros machos en tres distritos de bajos ingresos en la ciudad de Ibiúna-SP. El estudio se realizó entre marzo 2009 a septiembre 2010. Se hicieron visitas selectivas casa a casa solamente donde habían perros machos. La aplicación del producto de esterilización de animales fue gratuita, a los dueños el personal técnico aplicó un cuestionario en forma de tarjetas de registro. Los animales fueran sometidos a un examen clínico y los perros que se encontraban en malas condiciones de salud/irregulares o con alteraciones en los testículos fueron excluidos de la aplicación. Se seleccionaron al azar 50 formularios de inscripción y el personal técnico regresó a los hogares para la evaluación clínica y la satisfacción de los propietarios. Se esterilizaron 450 animales que representan 71,88% de la población estimada de perros machos de los tres barrios y un promedio de 15 animales por día. La mayoría de los machos fueron clasificados como sin definición de la raza (mestizo) (79,41%) y consistían en animales jóvenes de tres meses a cuatro años (63,98%). Las razones para elegir el método se refieren principalmente a ser simple/práctico (32,44%) y no lastimar al animal (18,66%). Para los propietarios que estaban en desacuerdo con el uso del producto en sus perros, sus principales respuestas fueron relacionadas con el hecho de que el perro siempre se quedaba en su domicilio (63,64%), y la intención de que el animal podría procrear en el futuro (31,83%). El nivel de satisfacción con respecto a los propietarios del producto, el 96% la calificó como buena o excelente. Se concluyó que el método puede ser útil en el control de la natalidad en la población de perros. Mostró alta aceptabilidad por ser simple, práctico y seguro y en el punto de vista clínico es compatible con el bienestar de los animales.

Palabras clave: perros machos, esterilización, control de población canina.

INTRODUÇÃO

As populações de cães podem representar um problema para a saúde pública e para o bem-estar animal em qualquer parte do mundo (1,2). Ações para seu controle têm sido centradas em programas de esterilização cirúrgica de fêmeas, posse responsável e legislação específica (3,4).

A esterilização cirúrgica, apesar de ser uma boa medida para a redução de nascimentos e para contribuir com programas de controle das populações animais, apresenta limitações para a sua execução, como: alto custo, riscos no pós-operatório, ambiente cirúrgico controlado e número reduzido de animais esterilizados por dia (5-7). Há necessidade de que uma expressiva porcentagem de cães sejam submetidos a este método por amplos períodos de tempo (8). Tais medidas nem sempre são possíveis de serem desenvolvidas sistematicamente nos municípios, comprometendo assim a sua eficácia (5-7).

A castração com a utilização do gluconato de zinco como princípio ativo tem sido proposta como mais uma ferramenta para contribuir com os programas de controle de densidade ou de natalidade populacional canina de animais machos em áreas urbanas (9,10). Quanto às fêmeas, a indicação mais comum ainda é a cirúrgica. Dentre as vantagens do método não cirúrgico para cães machos estão o seu baixo custo, a possibilidade de esterilização de um expressivo número de animais em um único dia, simplicidade do processo, dispensa de pós-operatório e de ambiente cirúrgico controlado para a sua execução. Algumas pesquisas têm descrito a boa aceitação da esterilização por parte dos proprietários de cães e a compatibilidade com os princípios de bem-estar animal, pois a estrutura anatômica do testículo é preservada (11).

Este trabalho teve por objetivo avaliar os resultados da administração do produto à base de gluconato de zinco (Infertile®), determinar a aceitabilidade do método pelos proprietários dos animais e a segurança clínica em cães machos em três bairros de baixa renda no Município de Ibiúna- SP.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi efetuado no Município de Ibiúna- SP, no período de março de 2009 a setembro de 2010, durante 30 dias de trabalho de esterilização de cães machos. Foram selecionados três bairros da periferia conhecidamente definidos como de baixa renda e com elevado contingente populacional canino, com base no banco de dados da Secretaria Municipal da Saúde (12).

Uma equipe técnica composta por um médico veterinário e dois agentes de controle de zoonoses da Secretaria Municipal da Saúde fez visitas casa a casa nos bairros selecionados, identificando os domicílios em que os proprietários possuíam cães machos com idade a partir dos três meses. A aplicação do produto esterilizante, cujo princípio ativo era o gluconato de zinco (Infertile®), foi oferecido gratuitamente aos munícipes. Os proprietários, que concordaram ou não na utilização do produto em seus cães foram entrevistados pela equipe técnica que preencheu um questionário e uma ficha cadastral (Apêndice 1). O questionário e a ficha cadastral foram elaborados conforme metodologia descrita por Germano (13). Nestes, foram obtidas informações sobre dados gerais do proprietário, de seu animal e o porquê da escolha ou não do método para esterilização de seu cão. Os dados foram compilados e foi utilizado o Programa Microsoft Excel (14) para o cálculo dos resultados.

Os proprietários, que concordaram na aplicação do fármaco esterilizante em seu animal, assinaram um termo de autorização estando cientes do efeito do produto (Apêndice 1). Os cães cujos proprietários autorizaram a utilização do esterilizante foram submetidos a um exame clínico e aqueles que estavam em condições de saúde insatisfatória/irregular ou com alteração nos testículos, como orquite, por exemplo, foram excluídos da aplicação do produto.

Estas informações foram também registradas na ficha cadastral. O esterilizante (Infertile®) foi utilizado conforme recomendações contidas na bula do produto, como tranquilização prévia com acepromazina (0,2%), na dosagem 0,05 mg/kg. Cuidados gerais pós-aplicação foram transmitidos aos donos dos cães. O procedimento de aplicação foi efetuado no domicílio do proprietário do animal, com a definição de dosagem a ser utilizada em cada testículo de acordo com o porte do animal, sendo 0,5mL para porte pequeno, 1,0 mL para porte médio, 1,5mL para porte grande e 2,0 mL para porte gigante. Os cães que foram tratados com o esterilizante foram observados durante uma semana. Após um período mínimo de três meses após a aplicação do esterilizante, foram sorteadas 50 fichas cadastrais e a equipe técnica retornou a estes domicílios para uma nova observação, avaliação clínica dos cães e do nível de satisfação do proprietário do cão em relação ao produto, na qual foi feita a pergunta aleatória ao proprietário do animal, se o método foi considerado: ruim, regular, bom e excelente.

RESULTADOS

Com o total de 30 dias trabalhados foram esterilizados 450 animais, representando 71,88% da população estimada de cães machos dos três bairros e a média de 15 animais tratados por dia e 79,41% dos cães foi classificado como sem raça definida. Em relação à distribuição do porte dos cães esterilizados, os resultados estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Distribuição dos cães esterilizados expressos numericamente e em porcentagem (%) conforme o porte do animal, Ibiúna, SP, 2010.

Porte do animal	Número de animais	Porcentagem (%)
Pequeno	80	17,77
Médio	266	59,11
Grande	88	19,55
Gigante	16	3,55
Total	450	100

A distribuição da faixa etária dos animais esterilizados está apresentada na tabela 2.

Tabela 2. Distribuição dos cães esterilizados expressos numericamente e em porcentagem (%) conforme a idade do animal, Ibiúna, SP, 2010.

Faixa etária	Número de animais	Porcentagem (%)
De três a 11 meses	35	7,77
De um a um ano e 11 meses	66	14,66
De dois a quatro anos	187	41,55
De cinco a oito anos	90	20,00
Acima de oito anos	72	16,00
Total	450	100

Em relação aos motivos da escolha do método de esterilização pelos proprietários de cães os resultados estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3. Distribuição dos motivos de escolha do método de esterilização de cães machos, conforme opinião dos proprietários, expressa numericamente e em porcentagem (%), Ibiúna, SP, 2010.

Motivo	Número de cães	Porcentagem (%)
Por ser simples e prático	146	32,44
Por não machucar o animal	84	18,66
Outras respostas	107	25,11
Não esclareceu nenhum motivo	113	23,77
Total	450	100

Dos proprietários que não aceitaram a utilização do produto em seus cães, as principais respostas estiveram relacionadas ao fato do cão ficar sempre domiciliado (63,64%), porque os proprietários tinham a intenção de que o animal procriasse no futuro (31,83%), e porque o cão já havia sido esterilizado pelo método cirúrgico (4,53%).

Das 50 fichas cadastrais sorteadas, todos os cães estavam em condições de saúde satisfatória após três meses da aplicação do esterilizante e os resultados referentes ao nível de satisfação do produto estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4. Nível de satisfação com respostas aleatórias de proprietários, expresso numericamente e em porcentagem, após três meses da administração de medicamento esterilizante a cães machos, Ibiúna, SP, 2010.

Nível de satisfação	Número de proprietários	Porcentagem (%)
Ruim	Zero	Zero
Regular	02	04
Bom	36	72
Excelente	12	24
Total	50	100

DISCUSSÃO

Com o total de 450 cães machos esterilizados, este resultado representou 71,88% da população estimada de cães nos bairros, com base em censo canino efetuado no ano de 2009. A maioria dos cães esterilizados (63,98%) foi constituída por animais jovens de três meses até quatro anos. Há necessidade de ações programáticas e integradas com o objetivo de contribuir no controle da população canina local. A esterilização mostrou-se como mais uma ferramenta a ser utilizada para esta finalidade com destaque para a vantagem do método ser utilizado no próprio domicílio do proprietário do cão ou em uma determinada localidade. Cedillo et al (11) esterilizaram com gluconato de zinco 3000 cães em bairros da cidade do México e evidenciaram a praticidade e a eficiência para o controle reprodutivo destes animais, em concordância com os resultados deste estudo. Outro aspecto relacionado ao êxito ou não de programas públicos de esterilização de cães relaciona-se a aceitação do método por parte dos proprietários de cães, pois quanto mais elevada, maior deverá ser o número de cães esterilizados pelo serviço público. Soto (6) relatou a recusa de proprietários de cães em utilizar a castração cirúrgica como método contraceptivo definitivo em seus animais por considerarem que a mesma causaria sofrimento aos seus cães, além da amputação dos testículos, sugerindo incompatibilidade com o bem-estar animal. Outros proprietários também não escolheram este método devido às dificuldades relacionadas com o pós-operatório, jejum dos animais antes da cirurgia e transporte do cão até o centro cirúrgico.

Os motivos da escolha do método de esterilização pelos proprietários de cães machos estiveram relacionados principalmente por ser simples, prático e não causar dor ao animal.

Acredita-se que estes resultados possam contribuir com a elevação do número de animais esterilizados por localidade alvo, em concordância com outros estudos (11,15,16).

Dos proprietários que não aceitaram a utilização do produto em seus cães, as principais respostas estiveram relacionadas ao fato do cão ficar sempre domiciliado e também porque tinham intenção de que o animal procriasse no futuro e, neste item, a maioria era representada por cães de raça definida. Nenhuma resposta de recusa do método esteve relacionada com dor ou sofrimento dos cães.

Das 50 fichas cadastrais sorteadas, todos os cães estavam em condições de saúde satisfatória, após três meses da aplicação do esterilizante. Estes resultados foram confirmados por investigações conduzidas por outros autores (9,15,16).

Quanto ao nível de satisfação dos proprietários, avaliado por opiniões aleatórias em relação ao produto utilizado em seus animais, colhidas no momento da entrevista, 96% consideraram-no como bom e excelente. A maioria dos entrevistados também relatou que seus cães esterilizados ficaram mais tranquilos, com diminuição de fugas destes animais para as vias públicas.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados, concluiu-se que o método de esterilização apresentou elevada aceitabilidade pelos proprietários dos cães principalmente por ser simples e prático e mostrou-se seguro sob o ponto de vista clínico e compatível com os princípios de bem-estar animal.

Apêndice 1- Ficha Cadastral e Questionário número _____ Data _____

1. Dados do Proprietário:

Nome completo _____

Endereço _____

2. Dados do animal:

Nome _____ Raça _____ Peso _____

Porte _____ Idade _____

3. Exame clínico:

Estado de saúde () satisfatório () insatisfatório

Exame dos testículos () satisfatório () insatisfatório

4. Aplicação do tranquilizante e esterilizante químico:

Dosagem tranquilizante _____ Dosagem esterilizante químico _____

5. Questionário:

5.1. Você concordou em aplicar o esterilizante químico em seu cão? Em caso afirmativo, por quê?

5.2. Qual foi o seu nível de satisfação em relação ao método em seu animal?

() ruim () regular () bom () excelente

6. Termo de autorização e ciência

Eu _____, portador do RG _____, autorizo a realizar o procedimento de esterilização não cirúrgica em animal de minha propriedade e responsabilidade. Estou ciente dos possíveis efeitos colaterais e resultados que possam surgir do procedimento, inclusive óbito do animal e da irreversibilidade do processo.

Assinatura _____

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Expert committee on rabies. WHO Technical Report Series. 8th report. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1992. p.87.
2. Siemenis A, Tabbaa D. Stray animal populations and public health in the South Mediterranean and the Middle East regions. *Vet Ital.* 2014; 50:131- 6.
3. Gomes HL, Almeida FM, Paranhos TN, Garcia CR. Avaliação de riscos à saúde e intervenção local associadas ao convívio com cães e gatos, Jardim Paraná, Brasilândia. São Paulo, Brasil. *Rev Educ CRMV-SP.* 2003;6:83-9.
4. Clevenger J, Kass PH. Determinants of adoption and euthanasia of shelter dogs spayed neutered in the University of California Veterinary student surge: program compared to other shelter dogs. *J Vet Med Educ.* 2003;4:372-8.
5. Soerensen B, Silva PJS, Christovão FG. Vantagens da castração química em comparação com o método tradicional de castração cirúrgica. *Univ Mar.* 2007;1:1.
6. Soto FRM. Dinâmica populacional canina no Município de Ibiúna- SP: estudo retrospectivo de 1998 a 2002 referente a animais recolhidos, eutanasiados e adotados [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2003.
7. Immegart HM, Threlfall WR. Evaluation of intratesticular injection of glicerol for nonsurgical sterilization of dogs. *Am J Vet Res.* 2000;5:544-9.
8. Amaku M, Dias RA, Ferreira F. Dinâmica populacional canina: potenciais efeitos de campanhas de esterilização. *Rev Panam Salud Publica.* 2009;25:300-4.
9. Wang MF, Suctu Z, Fahim RS. Sterilization of dogs with intra-epididimal injection of zinc arginine. *Contraception.* 1993;1:107-22.
10. Tepsmethanon V, Wilde H, Hemachudha T. Intratesticular injection of a balanced zinc solution for permanent sterilization of dogs. *J Med Assoc Thai.* 2005;88:686-9.
11. Cedillo VG, Vargas Pino F, Monroy OV. Results, of the massive sterilization project using gluconate neutralized with arginine in male dogs living in the States of Hidalgo, Mexico and Puebla. In: XVII Rabies in the Americas; 2006; Brasília. p.15 -20.

12. Secretaria Municipal da Saúde. Estatísticas. Ibiúna (SP): Centro de Controle de Zoonoses; 2009.
13. Germano MIS. Metodologia de pesquisa aplicada ao diagnóstico situacional. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2002. Apostila Técnica; 1. p.10-23.
14. Microsoft Informática Ltda. Programa Microsoft Excel. São Paulo; 2003.
15. Oliveira ECS, Moura MR, Silva Junior VA, Peixoto CA. Intratesticular injection of a zinc-based solution as a contraceptive for dogs. *Theriogenology*. 2007;68:137-45.
16. Soto FRM, Viana WG, Sousa AJ, Pinheiro SR, Mucciolo GB, Hosomi FYM, et al. Evaluation of zinc gluconate, either associated or not to dimethyl sulfoxide, as contraceptive method for male dogs. *Anim Reprod*. 2007;4:119-24.

Recebido em: 12/11/2014

Aceito em: 18/02/2015

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 Silvia 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
 Marflia 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. Estafilococias em geral. In: Corrêa MC, Corrêa CNM. *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos.* 2ª ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992. p.91-103.

Mendes AA, Saldanha ESPB. A cadeia produtiva da carne de aves no Brasil. In: Mendes AA, Naas IA, Macari M. *Produção de frangos de corte.* Campinas: FACTA, 2004. p.1-22

5 Conference paper

Malhado CHM, Piccinin A, Gimenez JN, Ramos AA, Gonçalves HC. Modelos polinomiais para descrever a curva de postura de codornas. In: *Anais do 3º Congresso Nordestino de Produção Animal; 2004, Campina Grande.* Campina Grande: Universidade Federal da Paraíba; 2004. p.1-3

6 Dissertation

Mortari AC. Avaliação da técnica de transposição do músculo semitendinoso para reparo do diafragma pélvico: estudo experimental em cães [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2004.

7 Electronic material on Internet

Vasconcelos JLM. Endometrite subclínica em vacas leiteiras. Campinas; 2004 [cited 2004 Jan 16]. Available from: <<http://www.milkpoint.com.br>>.

REVISTA “VETERINARIA Y ZOOTECNIA”

NORMAS PARA PRESENTACIÓN DE TRABAJOS

La Revista **Veterinaria y Zootecnia**, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – UNESP, Campus de Botucatu, publica artículos científicos originales, artículos de revisión de bibliografía, estudios de caso y comunicaciones cortas, relacionadas con las áreas de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, con periodicidad semestral, en las lenguas Portugués, Español o Inglés, siendo los conceptos y opiniones emitidas, de exclusiva responsabilidad de los autores.

La publicación depende de la evaluación preliminar del Presidente del Consejo Editorial, que analiza la relevancia, y los aspectos formales, de acuerdo con la categoría del artículo sometido y las normas editoriales establecidas. Si es aprobado, se adopta el mérito de la evaluación por pares, se envía para dos Revisores, de acuerdo con el área. Los conceptos además de la imparcialidad, serán mantenidos bajo estricta reserva, sin que exista la posibilidad de identificación entre autores y evaluadores. Los artículos no publicados serán devueltos.

Los trabajos deben ser enviados pela página WEB de la revista <http://www.fmvz.unesp.br/rvz>

Prof. Helio Langoni

Revista “Veterinaria y Zootecnia”

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP - Botucatu

18618-000 – Dist. Rubião Junior – SP – Brasil

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

Deben ser estructurados de acuerdo con los siguientes puntos:

1. Página principal, con:

- Título del trabajo en portugués, inglés y en español, tipo de letra Times New Roman, número 12, con espacio entre líneas sencillo, en negrilla y centrado, en letra mayúscula. Cuando sea necesario, indicar la entidad que financia la investigación, como primer 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>>.