

Veterinária e Zootecnia

Vet e Zootec.

2012 junho; 19(2): 135-265

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
18618-000 – Dist. Rubião Jr. – Botucatu – SP – Brasil
Portal: <http://www.fmvz.unesp.br/rvz>
E-mail: vetzootecnia@fmvz.unesp.br
Tel. 55 14 3811 6270
Fax. 55 14 3811 6075

Publicação trimestral
Solicita-se permuta / *Exchange desired*
Biblioteca do Campus de Botucatu
18618-000 – Dist. Rubião Júnior – Botucatu – SP - Brasil

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCN. AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO – CAMPUS DE BOTUCATU – UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

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

Trimestral

Texto em português/inglês/espanhol

Descrição baseada em: v.18, n.4, dez. (2011)

ISSN Impresso 0102 -5716

ISSN Eletrônico 2178-3764

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

Os artigos publicados na *Revista VETERINÁRIA E ZOOTECCIA* são indexados por:
Current Awareness in Biological Sciences; Index Veterinarius; Veterinary Bulletin.
**PERIÓDICA: Índice de Revistas Latinoamericanas em Ciências; Cambridge Scientific
Abstracts; Biosis; CAB Abstracts.**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Administração Geral da UNESP

Reitor Afastado

Prof. Dr. Herman Jacobus Cornelis Voorwald

Vice-Reitor no Exercício da Reitoria

Prof. Dr. Julio Cezar Durigan

Pró-Reitor de Pesquisa

Profa. Dra. Maria José Soares Mendes Giannini

Pró-Reitor de Pós-Graduação

Profa. Dra. Marilza Vieira Cunha Rudge

Pró-Reitor de Graduação

Profa. Dra. Sheila Zambello de Pinho

Pró-Reitor de Extensão Universitária

Profa. Dra. Maria Amélia Máximo de Araújo

Pró-Reitor de Administração

Prof. Dr. Ricardo Samih Georges Abi Rached

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Administração da FMVZ

Diretor

Prof. Dr. Luiz Carlos Vulcano

Vice-Diretor

Prof. Ass. Dr. José Paes de Almeida Nogueira Pinto

Botucatu
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
FMVZ
2012

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, Gustavo Puglia Machado, Gabriele Gimenes Pereira e Maria Paula Toldo Tavares

Bibliotecária: Marlucci Betini, Enilze de Souza Nogueira Volpato e Nivaldete Costa Fernandes Cruz.

Revisor – Espanhol: Selene Daniela Babboni (FMVZ – UNESP/Botucatu) e Luis Emiliano Cisneros Alvarez (FMVZ – UNESP/Botucatu)

Revisor – Inglês: José Carlos de Figueiredo Pantoja (FMVZ – UNESP/Botucatu)

Secretaria: Apoio SAEPE – Seção de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão.

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
18618-000 - Dist. Rubião Junior, s/n – SP – Brasil

Corpo Editorial

- Alice Eiko Murakami (UEM/Maringá)
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)
Edir Nepomuceno da Silva (FEA – UNICAMP)
Fumio Honma Ito (FMVZ – USP)
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)
João Palermo Neto (FMVZ – USP)
José Eduardo P. Santos (University of Florida – USA)
José Luiz Catão Dias (FMVZ – USP)
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 (UFSM/Santa Maria)
Nivaldo da Silva (UFMG – Escola de Veterinária)
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)
Silvio de Arruda Vasconcellos (FMVZ – USP)
Solange Maria Gennari (FMVZ – USP)
Walter Motta Ferreira (UFMG – Escola de Veterinária)
Wilson Roberto Fernandes (FMVZ – USP)

SUMÁRIO/CONTENTS/SUMARIO

EDITORIAL141

ARTIGOS DE REVISÃO/REVIEW ARTICLE/ARTÍCULOS DE REVISIÓN

BRUCELOSE EM BUBALINOS: UMA REVISÃO COM ÊNFASE AO SORODIAGNÓSTICO OFICIAL / BRUCELLOSIS IN BUFFALOES: A REVIEW WITH EMPHASIS ON OFFICIAL SERODIAGNOSIS / BRUCELOSIS EN BÚFALO: UNA REVISIÓN CON ÉNFASIS EN EL SERODIAGNÓSTICO OFICIAL. Geraldo de Nardi Júnior, Márcio Garcia Ribeiro, Lilia Paulin, André Mendes Jorge142

UTILIZAÇÃO DO COLESTEROL NA CRIOPRESERVAÇÃO DE ESPERMATOZÓIDES NA ESPÉCIE EQUINA: UMA REVISÃO. / USE OF CHOLESTEROL IN EQUINE SPERM CRYOPRESERVATION: A REVIEW / USO DE COLESTEROL EN LA CRIOPRESERVACIÓN DE ESPERMA EN EQUINOS: UNA REVISIÓN. Felipe Pires Hartwig, Frederico Ozanam Papa, José Antonio Dell' Aqua Junior.....157

COMPONENTES DO PLASMA SEMINAL E SUA INFLUÊNCIA SOBRE A CRIOPRESERVAÇÃO E FERTILIDADE DE ESPERMATOZÓIDES EQUINOS / SEMINAL PLASMA COMPONENTS AND ITS INFLUENCE ON CRYOPRESERVATION AND FERTILITY OF EQUINE SPERMATOOA / COMPONENTES DEL PLASMA SEMINAL Y SU INFLUENCIA SOBRE LAS CRIOPRESERVACIÓN Y FERTILIDAD DE ESPERMATOZOIDES EQUINOS. Priscilla Nascimento Guasti, Gabriel Augusto Monteiro, Frederico Ozanam Papa169

RELATOS DE CASO/ CASE REPORTS/ ESTUDIOS DE CASO

CONTRIBUIÇÃO DA ULTRASSONOGRRAFIA PARA O DIAGNÓSTICO DA DISPLASIA RENAL EM CÃES / ULTRASONOGRAPHIC CONTRIBUTION TO THE DIAGNOSIS OF RENAL DYSPLASIA IN DOGS / CONTRIBUCIÓN DE LA ECOGRAFÍA PARA EL DIAGNÓSTICO DE DISPLASIA RENAL EN PERROS. Viviam Rocco Babicsak, Karen Maciel Zardo, Débora Rodrigues dos Santos, Alexandra Frey Belotta, Hugo Salvador Oliveira, Maria Jaqueline Mamprim, Vânia Maria de Vasconcelos Machado, Luiz Carlos Vulcano181

CYTOLOGIC DIAGNOSIS AND TREATMENT OF FELINE SPOROTRICHOSIS: CASE REPORT / DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO E TRATAMENTO DA ESPOROTRICOSE FELINA: RELATO DE CASO / DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO Y TRATAMIENTO DE LA ESPOROTRICHOSIS FELINA: CASO CLÍNICO. Didier Quevedo Cagnini, Marcela Marcondes Pinto Rodrigues, Mariana Isa Poci Palumbo, Marta Cristina Thomas Heckler, Anaiara Silgueiro Peixoto, Renée Laufer Amorim, Luiz Henrique de Araújo Machado186

COMUNICAÇÃO/ COMMUNICATION/ COMUNICACIÓN

PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-Toxoplasma EM SERPENTES MANTIDAS EM CATIVEIRO NOS MUNICÍPIOS DE BELÉM E SANTO ANTÔNIO DO TAUÁ, ESTADO DO PARÁ, BRASIL / RESEARCH OF ANTI-Toxoplasma ANTIBODIES IN SNAKES KEPT IN CAPTIVITY AT BELEM AND SANTO ANTÔNIO DO TAUÁ, PARÁ STATE, BRAZIL / PESQUISA DE ANTICUERPOS ANTI-Toxoplasma EN SERPIENTES MANTENIDAS EN CAUTIVERIO EN LOS MUNICIPIOS DE BELÉN Y DE SAN ANTONIO TAUÁ, ESTADO DE PARÁ, BRASIL. Patrícia Andréia Santos Oliveira, Andre Marcelo Conceição Meneses, Nazaré Fonseca de Souza, Monique Araújo Luz, Nívia Magalhães da Silva Freitas, Carla Cristina Guimarães de Moraes, Rodrigo Costa da Silva, Helio Langoni192

ARTIGOS/ARTICLES/ARTÍCULOS

- ACHADOS CLÍNICOS DE BOVINOS COM ÚLCERA DE ABOMASO / CLINICAL FINDINGS OF CATTLE WITH ABOMASAL ULCER / HALLAZGOS CLÍNICOS EN BOVINOS CON ÚLCERA ABOMASO.** Alonso P. Silva Filho, José Augusto B. Afonso, José Cláudio de A. Souza, Alexandre C. Dantas, Nivaldo de A. Costa, Carla L. Mendonça196
- ALIMENTAÇÃO DE LEITÕES NA CRECHE COM GRÃOS ÚMIDOS DE MILHO ENSILADOS OU PRESERVADOS COM PROPIONATO DE CÁLCIO / FEEDING NURSERY PIGLETS WITH HIGH MOISTURE CORN ENSELED OR PRESERVED WITH CALCIUM PROPIONATE / ALIMENTACIÓN DE LECHONES EN JAULAS CON GRANO DE MAIZ HÚMEDO ENSILADO O CONSERVADO CON PROPIONATO DE CALCIO.** Ana Beatriz Rocha de Castro Lopes, Dirlei Antonio Berto, Messias Alves da Trindade Neto, Fabiana Golin Luiggi, Francisco Stéfano Wechsler, Marcos Livio Panhosa Tsé, Marco Antônio Martin Biaggioni207
- EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAN RESISTANCE OF *Escherichia coli* ISOLATED OF HEALTHY HENS (*Gallus gallus*) / AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *Escherichia coli* ISOLADAS DE GALINHAS (*Gallus gallus*) SAUDÁVEIS / EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *Escherichia coli* AISLADA DE GALLINAS (*Gallus de gallus*) SANAS.** Adriano Sakai Okamoto, Raphael Lucio Andreatti Filho, Ana Angelita Sampaio Baptista, Ticiania Silva Rocha218
- HISTOPATHOLOGY IN VETERINARY DERMATOLOGY: HISTORICAL RECORDS OF THIRTY YEARS OF DIAGNOSIS AT THE DEPARTMENT OF PATHOLOGY OF BOTUCATU MEDICAL SCHOOL, UNESP (1977-2007) / A HISTOPATOLOGIA NA DERMATOLOGIA VETERINÁRIA: LEVANTAMENTO HISTÓRICO DE TRINTA ANOS DE DIAGNÓSTICO NO DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNESP (1977-2007) / HISTOPATOLOGÍA EN DERMATOLOGÍA VETERINARIA: ARCHIVOS HISTÓRICOS DE TREINTA AÑOS DE DIAGNÓSTICO DEL DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE BOTUCATU, UNESP (1977-2007).** Luiz Henrique de Araújo Machado, Viciany Erique Fabris, Rafael Torres Neto, Jéssica Corrêa Rodrigues, Fernanda Cristina Oliveira222
- ANÁLISE DOS FATORES RELACIONADOS A 26 CASOS DE DISTOCIA EM CABRAS NO AGRESTE E SERTÃO DE PERNAMBUCO / ANALYSIS OF FACTORS RELATED TO 26 DYSTOCIA CASES IN GOATS IN THE AGRESTE AND SEMIARID REGION OF PERNAMBUCO, NORTHEASTERN BRAZIL / ANÁLISIS DE LOS FACTORES RELACIONADOS CON 26 CASOS DE DISTOCIA EN CABRAS EN LA ZONA ÁRIDA DE PERNAMBUCO, NORESTE DE BRASIL.** Antônio Carlos Lopes Câmara, Alexandre Cruz Dantas, Janaina Azevedo Guimarães, José Augusto Bastos Afonso, Maria Isabel de Souza, Nivaldo de Azevedo Costa, Carla Lopes de Mendonça,236
- DIVULGAÇÃO DA ANATOMIA ANIMAL JUNTO A PRODUTORES E TRABALHADORES DO CAMPO EM DOIS MUNICÍPIOS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO / DISCLOSURE OF ANIMAL ANATOMY TO PRODUCERS AND FIELD WORKERS IN TWO MUNICIPALITIES OF RIO DE JANEIRO STATE / DIVULGACIÓN DE LA ANATOMÍA ANIMAL ENTRE LOS PRODUCTORES Y TRABAJADORES DEL CAMPO EN DOS MUNICIPIOS DEL ESTADO DE RIO DE JANEIRO.** William Douglas de Carvalho, Paulo Roberto Bernardes Lopes, Marcelo Abidu Figueiredo, Luciano da Silva Alonso244

EDITORIAL

A PESQUISA NACIONAL EM DESTAQUE

A Revista “Pesquisa FAPESP”, em sua edição especial de maio de 2012 fala do meio século de FAPESP, com informações animadoras quanto a várias mazelas da saúde pública, bem como sobre outros temas relevantes nas diferentes áreas do conhecimento.

O diretor científico da FAPESP comenta sobre o cenário paulista com relação aos avanços na produção científica brasileira, com forte impacto também nas revistas estrangeiras, reforçando que a ciência em São Paulo tem crescido tanto em quantidade como em qualidade, e tudo isso graças as parcerias com o CNPq, CAPES e FINEP, e claro com o empenho da comunidade científica no estado.

Os dados referentes a redução do número de casos de malária, nos últimos anos, em 50% reflete as medidas de investigação científica, controle de áreas endêmicas e as ações coordenadas de várias instituições. As previsões são otimistas com relação a possibilidade de produção de um fármaco nacional eficiente contra a doença de Chagas, causada pelo protozoário *T.cruzi*, que ainda é um sério problema de saúde pública, cujas estimativas indicam que, ainda hoje, cerca de 5 milhões de brasileiros tem a doença. Na América do Sul o número sobe para 12 milhões a 13 milhões de doentes.

Na luta contra um verme, o agente da esquistossomose (*Schistosoma haematobium*, *S. japonicum* e *S.mansoni*), sendo o terceiro de ocorrência no país, e trazido da África para o Brasil por escravos, durante a colonização portuguesa. Os genes identificados por método desenvolvido no Brasil são alvos promissores para novos medicamentos, e hoje já se fala na produção de vacinas com tecnologia nacional.

Neste número da Revista “Veterinária e Zootecnia” estão publicados três artigos de revisão: Brucelose em bubalinos: uma revisão com ênfase ao sorodiagnóstico oficial; Utilização do colesterol na criopreservação de espermatozóides na espécie equina: uma revisão; e Componentes do plasma seminal e sua influência sobre a criopreservação e fertilidade de espermatozóides equinos. Traz ainda dois relatos de caso: Contribuição da ultrassonografia para o diagnóstico da displasia renal em cães; Cytologic diagnosis and treatment of feline sporotrichosis: case report. Uma comunicação curta: Pesquisa de anticorpos anti-toxoplasma em serpentes mantidas em cativeiro nos municípios de Belém e Santo Antônio do Tauá, estado do Pará, Brasil. E seis artigos originais: Achados clínicos de bovinos com úlcera de abomaso; Alimentação de leitões na creche com grãos úmidos de milho ensilados ou preservados com propionato de cálcio; Evaluation of the antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated of healthy hens (*Gallus gallus*); Histopathology in veterinary dermatology: historical records of thirty years of diagnosis at the department of pathology of Botucatu Medical School, UNESP (1977-2007); Análise dos fatores relacionados a 26 casos de distocia em cabras no Agreste e Sertão de Pernambuco; e Divulgação da anatomia animal junto a produtores e trabalhadores do campo em dois municípios do estado do Rio de Janeiro.

Prof. Helio Langoni
Editor-Chefe

BRUCELOSE EM BUBALINOS: UMA REVISÃO COM ÊNFASE AO SORODIAGNÓSTICO OFICIAL

Geraldo de Nardi Júnior¹
Márcio Garcia Ribeiro²
Lilia Paulin³
André Mendes Jorge⁴

RESUMO

O sorodiagnóstico é um dos principais procedimentos para o controle e profilaxia da brucelose, bem como na vigilância epidemiológica da doença, visto que pode ser utilizado em grandes rebanhos, possui custo acessível, boa sensibilidade e especificidade, além de ter padrão internacional. O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose - PNCEBT, deflagrado em 2001, preconiza que o sorodiagnóstico da brucelose em fêmeas bubalinas seja realizado a partir dos 24 meses de idade, nas bezerras vacinadas com a amostra B19 entre 3 a 8 meses de idade, utilizando as provas do antígeno acidificado tamponado (AAT), 2-mercaptoetanol (2-ME) e/ou fixação de complemento (FC). Tal recomendação faz-se necessária no intuito de evitar dificuldades na interpretação das provas sorológicas, decorrentes da presença de imunoglobulinas residuais de origem vacinal, que poderiam dificultar a diferenciação entre animais vacinados e infectados. As investigações sorológicas voltadas à brucelose bubalina no Brasil têm foco na comparação de animais reagentes frente às diferentes técnicas diagnósticas. No entanto, são escassos os estudos no país voltados ao acompanhamento sorológico de bezerras bubalinas vacinadas, conforme as recomendações do PNCEBT. O presente artigo revisou os principais aspectos da brucelose bubalina, com ênfase ao sorodiagnóstico oficial.

Palavras-chave: brucelose, bubalinos, diagnóstico, sorodiagnóstico.

BRUCELLOSIS IN BUFFALOES: A REVIEW WITH EMPHASIS ON OFFICIAL SERODIAGNOSIS

ABSTRACT

The serodiagnosis is one of the main procedures for control and prevention of brucellosis, as well as surveillance of the disease. It can be used in large herds, is affordable, has good sensitivity and specificity, in addition to international standards. The National Program for Control and Eradication of Brucellosis and Tuberculosis - PNCEBT, which started in 2001, recommends that the serodiagnosis of brucellosis in water buffalo be performed from 24 months of age in calves vaccinated with B19 from 3 to 8 months of age, using the rose bengal plate test (RBPT), 2-mercaptoethanol (2-ME) and complement fixation (CF). This recommendation is necessary in order to avoid difficulties in interpretation of serological tests, due to the presence of residual immunoglobulin to vaccine strains that could hamper the differentiation between vaccinated and infected animals. Investigations on the serological

¹ Professor Ass. Doutor da Disciplina de Produção Animal do Curso de Tecnologia em Agronegócio da Faculdade de Tecnologia de Botucatu – Fatec-Bt (e-mail: gedenardijr@yahoo.com.br)

² Professor Doutor da Disciplina de Enfermidades Infecciosas dos Animais – DHVSP – FMVZ – UNESP/Botucatu/SP - Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu/SP, e-mail: mgribeiro@fmvz.unesp.br

³ Pesquisadora Científica do Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução – Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal do Instituto Biológico de São Paulo-SP.

⁴ Professor Doutor do Departamento de Produção Animal – FMVZ – UNESP – Lageado/Botucatu-SP.

brucellosis in water buffaloes in Brazil have focused on comparison of reactor animals in face of different diagnostic techniques. However, there are few studies in the country aiming serological monitoring of buffalo calves vaccinated according to recommendations of PNCEBT. This study reviewed the main aspects of brucellosis in water buffaloes, with emphasis on official serodiagnosis.

Keywords: brucellosis, buffaloes, diagnosis, serodiagnosis

BRUCELOSIS EN BÚFALO: UNA REVISIÓN CON ÉNFASIS EN EL SERODIAGNÓSTICO OFICIAL

RESUMEN

El serodiagnóstico es uno de los principales procedimientos para el control y profilaxis de la brucelosis, así como para la vigilancia epidemiológica de la enfermedad, ya que puede ser utilizado en grandes rebaños, es de bajo costo, sensible, específico y está de acuerdo con la norma internacional. El Programa Nacional de Control y Erradicación de la Brucelosis y Tuberculosis - PNCEBT expuesto en 2001, dicta que el serodiagnóstico de la brucelosis en hembras de búfalo sea realizado a partir de los 24 meses de edad en las terneras vacunadas con la muestra B19 entre 3 y 8 meses de edad, utilizando las pruebas de antígeno acidificado tamponado (AAT), 2-mercaptoetanol (2-ME) y/o fijación de complemento (FC). Tal recomendación se hace necesaria con el objetivo de evitar dificultades en la interpretación de las pruebas serológicas, derivadas de la presencia de inmunoglobulinas residuales de origen vacunal, que podrían dificultar la distinción entre animales vacunados e infectados. Las investigaciones serológicas de la brucelosis de búfalo en Brasil están enfocadas en la comparación de animales reactivos usando diferentes técnicas diagnósticas. Sin embargo, son escasos los estudios en el país con relación al seguimiento serológico de terneras de búfalo vacunadas conforme a las recomendaciones del PNCEBT. El presente artículo ha revisado los principales aspectos de la brucelosis de búfalo, con énfasis en el serodiagnóstico oficial.

Palabras clave: brucelosis, búfalos, diagnóstico, serodiagnóstico.

INTRODUÇÃO

A espécie bubalina apresenta como características peculiares a sua grande rusticidade e adaptabilidade a fatores climáticos, topográficos e solos pobres, somadas à dupla aptidão para produção de carne e leite, o que a torna boa alternativa para a produção de proteína animal, principalmente em países tropicais como o Brasil (1). O estreito contato com a espécie bovina, o padrão extensivo de criação dos bubalinos, o acesso contínuo desses animais a diversos tipos de ecossistemas, o hábito da espécie bubalina de banhar-se visando a termorregulação corpórea, bem como o pastoreio em aguadas e tanques, tornam esta espécie francamente exposta às infecções, incluindo a brucelose (2).

A brucelose em bubalinos e bovinos é reconhecida como doença infectocontagiosa causada pela *Brucella abortus* (*B. abortus*), caracterizada por manifestações clínicas da esfera reprodutiva e severos prejuízos aos produtores (3).

O sistema de manejo extensivo, as dificuldades do sucesso de programas de controle sanitário em países com grandes rebanhos e com extensa dimensão territorial, e o conceito equivocado de que os bubalinos são altamente resistentes às doenças que acometem os bovinos, são fatores que dificultam o controle da brucelose em bubalinos (2). Fosgate et al. (4) apontaram evidências de características distintas na cadeia epidemiológica da brucelose

em bovinos e bubalinos, que reforçam a necessidade de investigações específicas com a doença em bubalinos, visto que a maioria dos estudos enfoca a doença na espécie bovina.

O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose - PNCEBT (5), deflagrado em 2001, preconiza que o sorodiagnóstico da brucelose em fêmeas bubalinas seja realizado a partir dos 24 meses de idade, nas bezerras vacinadas com a B19 entre 3 e 8 meses de idade, utilizando as provas do antígeno acidificado tamponado (corado com rosa bengala) [AAT], 2-mercaptoetanol (2-ME) e/ou fixação de complemento (FC). Tal recomendação faz-se necessária no intuito de evitar dificuldades na interpretação das provas sorológicas decorrentes da presença de imunoglobulinas (Ig) residuais de origem vacinal, que poderiam dificultar a diferenciação entre animais infectados e doentes.

À semelhança da espécie bovina, o sorodiagnóstico da brucelose bubalina se constitui em um dos principais procedimentos para controle, profilaxia e vigilância epidemiológica da doença, particularmente nos países que atingiram “status” de erradicação.

REVISÃO DA LITERATURA

Generalidades sobre a criação de bubalinos

A população mundial de bubalinos é da ordem de 170 milhões de cabeças. O rebanho bubalino da América do Sul é estimado em cerca de 4 milhões de cabeças, das quais 3,5 milhões encontram-se no Brasil, 150 mil na Venezuela, 50 mil na Argentina, 30 mil na Colômbia e o restante distribuído pelos demais países (6, 7).

Os bubalinos são pouco seletivos em relação às forrageiras e transformam alimentos, usualmente não consumidos por outros animais do mesmo porte, em proteínas nobres (1). Apresentam resultados satisfatórios quanto ao rendimento de cortes primários da carcaça e podem até mesmo superar os bovinos em determinados cortes, o que contribui muito para desmistificar a espécie e esclarecer a cadeia produtiva quanto ao seu real potencial de produção (8, 9).

O leite bubalino apresenta menor teor de colesterol, maior teor de gordura e de proteínas quando comparado ao leite bovino, além de maior rendimento na produção de queijo (particularmente a *mozzarella*) e manteiga (10). A produção de leite dos bubalinos é uma atividade que tem crescido nos últimos anos no Brasil, particularmente nos estados da região Sudeste, nos quais o leite é destinado, quase na sua totalidade, à produção de queijo *mozzarella*, que possui mercado assegurado e preços compensatórios, em virtude da qualidade nutricional e palatabilidade do produto (10).

No Brasil, os búfalos foram introduzidos em 1895 pela ilha de Marajó, importados da Austrália, do Egito, da Índia, da Itália e de países do sudoeste asiático. Na ilha de Marajó, os bubalinos encontraram condições ótimas para sua adaptação. Nas décadas seguintes foram introduzidos nas demais regiões do país, particularmente as que apresentam clima quente e úmido (1).

A maior parte do rebanho bubalino brasileiro concentra-se, atualmente, na região norte do país (65,9%) e o restante localiza-se nas regiões Nordeste (7,1%), Sudeste (7,5%), Sul (13,3%) e Centro-Oeste (6,2%), distribuído entre as raças Carabao, Murrah, Jafarabadi e Mediterrâneo (1,11). A despeito da escassez de estatísticas oficiais, a criação de bubalinos no mundo todo, em particular no Brasil, tem apresentado crescimento substancial, rompendo fronteiras, produzindo e se adaptando aos locais nos quais outras espécies de ruminantes não têm apresentado índices zootécnicos satisfatórios (11).

Baruselli (12) infere que os bubalinos podem ser criados no Brasil em regiões topográficas impróprias para bovinos, tais como várzeas inundáveis do rio Amazonas, baixadas litorâneas como o Vale do Ribeira, SP, Pantanal do Mato Grosso e banhados da região Sul.

As características peculiares da criação de bubalinos têm despertado o interesse dos pecuaristas no Brasil, fazendo com que, na última década, a bubalinocultura aumentasse 12,7% ao ano, ganhando crescente importância econômica na pecuária nacional, tanto na produção de carne quanto de leite, colocando o Brasil no cenário dos maiores rebanhos comerciais do mundo (11).

Impacto econômico da brucelose em bubalinos

A brucelose em animais de produção possui distribuição mundial e determina severos prejuízos de ordem econômica (13).

Na América Latina, as perdas econômicas devidas à brucelose são da ordem de 600 milhões de dólares/ano. No Brasil, estima-se que os prejuízos com a brucelose em bovinos e bubalinos sejam ao redor de 100 milhões dólares/ano (14).

Os prejuízos para a bubalinocultura com a brucelose são determinados principalmente por problemas da esfera reprodutiva (13), sendo a doença, principal causa de abortamentos em rebanhos bubalinos na Índia, na Itália e no Brasil (15).

As fêmeas das espécies bubalina e bovina provenientes de rebanhos livres de brucelose apresentam altas taxas de abortamentos (5-30%) na primoinfecção, e nascimentos de bezerros fracos ou doentes (15%). Com a cronificação da doença, as vacas apresentam redução na produção de leite (10 a 25%), diminuição na vida útil, aumento nas taxas de reposição (30%) e no número de repetições de cio. Destaca-se também que uma em cada cinco vacas acometidas desenvolve sub ou infertilidade, aumento no intervalo entre partos (8,5 meses) e redução no número de concepções. Em suma, a doença determina alterações em todos os parâmetros reprodutivos do plantel. Ademais, os países nos quais a doença cursa de forma endêmica possuem sérias restrições à exportação de animais, produtos e derivados (15-17).

Implicações em saúde pública

A brucelose é considerada doença ocupacional em humanos. O advento da pasteurização do leite representou redução significativa no impacto da doença em saúde pública. Porém, nos países emergentes (em desenvolvimento), a brucelose permanece como doença preocupante (3).

As infecções pelo gênero *Brucella* em humanos possuem forte caráter ocupacional, afetando profissionais que desenvolvem atividades com certo risco de exposição aos animais, tais como médicos veterinários, magarefes, produtores e laboratoristas (18). A *Brucella melitensis* (*B. melitensis*) é reconhecida como a espécie mais patogênica para humanos, seguida por *Brucella suis* (*B. suis*), *Brucella abortus* e *Brucella canis* (*B. canis*). No entanto, a maioria das infecções em humanos é causada por *B. abortus*, visto que esta é a brucela mais difundida em animais de produção (3).

A doença em humanos por *B. abortus* se manifesta geralmente por sinais de febre intermitente, cefaléia, dor muscular e nas articulações. Em geral, as manifestações clínicas por *B. abortus* são mais brandas que as observadas nas infecções por *B. melitensis* ou *B. suis* (3, 7).

No Brasil, há poucas descrições de isolamento do micro-organismo em humanos, embora os registros disponíveis em investigações sorológicas sugiram altos níveis de exposição para os grupos de risco ou de vulnerabilidade, relacionados à ocupação profissional (19).

Nos humanos, a infecção pelo gênero *Brucella* pode ser provocada pelo contato direto com secreções de animais domésticos, fetos, placentas, secundinas, sangue e carcaças de animais infectados, bem como pelo consumo de produtos e subprodutos de origem animal (13).

O alto risco de infecção em humanos a partir dos bovinos e bubalinos tem sido frequentemente referido na literatura especializada, principalmente em indivíduos que possuem contato estreito com animais (3). Lacerda et al. (20) encontraram 11,8% de indivíduos sororreagentes em 59 trabalhadores de abatedouro, reforçando o comportamento ocupacional da doença.

O leite ingerido “in natura” ou sob a forma de derivados, sem pasteurização prévia, pode veicular o micro-organismo para os humanos (18). Botelho et al. (21) assinalaram alta ocorrência da infecção em humanos pela ingestão de leite de vaca e subprodutos “in natura”. Miyashiro (22), utilizando técnicas moleculares, detectou a presença de DNA do gênero *Brucella* em derivados de leite bovino comercializados de forma clandestina. Nesse estudo, o micro-organismo foi identificado em 29 (20,57%) dentre 141 queijos tipo minas frescal e 8 (15,69%) dentre 51 queijos minas meia cura.

As características físico-químicas peculiares do leite da espécie bubalina, que incluem maiores teores de proteína, gordura e caseína, propiciam a produção de derivados nobres como os queijos *mozzarella*, *provolone* e *ricota* (10). No entanto esses derivados podem ser elaborados sem prévia pasteurização ou outro tratamento térmico do leite, representando risco de contágio pelos humanos mediante o consumo desses produtos (18).

Brucelose em bubalinos

Propriedades gerais do gênero *Brucella*

A brucelose é causada por bactérias pertencentes ao gênero *Brucella*, que se apresentam microbiologicamente como cocobacilos Gram-negativos, aeróbios ou microaerófilos, imóveis, desprovidos de cápsulas e não formadores de esporos (23). Possuem metabolismo oxidativo baseado na utilização de nitratos. Nos testes bioquímicos, são classificados como micro-organismos catalase e oxidase-positivos, não fermentadores da lactose (24), uréase-positivos (reação em poucos minutos) e indol-negativos (25).

Micro-organismos do gênero *Brucella* são intracelulares. A patogenia e a natureza da resposta imune estão intimamente relacionadas à presença da bactéria no interior de fagócitos (26).

B. abortus é isolada entre 3 e 5 dias no ágar-*Brucella* ou no meio convencional de ágar enriquecido com sangue ovino ou bovino a 5% (desfibrinado), em condições de microaerofilia, a 37°C. A partir de três dias de incubação, as colônias apresentam 2 a 3 mm de diâmetro, são opacas, lisas e não hemolíticas (26). No cultivo microbiano de materiais suspeitos sujeitos à contaminação bacteriana secundária, são recomendados meios seletivos como o Farrel, constituído de vários antimicrobianos e antifúngicos impeditores para outros micro-organismos (26).

As brucelas são divididas em dois grandes grupos antigenicamente distintos, constituídos por amostras lisas (*B. abortus*, *B. melitensis* e *B. suis*) e amostras rugosas (*B. ovis* e *B. canis*) (27), diferenciadas com base nas características de primoincubação em meios de cultura e na estrutura da parede bacteriana (28).

As brucelas não apresentam espécie-especificidade. No entanto, mostram certa predileção por determinados hospedeiros. Dentre as brucelas lisas, *B. abortus* acomete preferencialmente bovídeos, enquanto *B. suis* e *B. melitensis* infectam, respectivamente, suínos e caprinos. Nas brucelas rugosas, *B. canis* é o principal agente causal da brucelose em canídeos e *B. ovis* em ovinos (28).

O gênero *Brucella* possui vários biotipos ou biovars. A diferenciação dos biotipos é fundamentada no requerimento de CO₂, na produção de H₂S, na multiplicação na presença de tionina e fucsina básica, na aglutinação com antissoros monoespecíficos (A, M, R) e na lise

por bacteriófagos (25, 26). Considera-se que *B. abortus* possua sete biotipos, embora outros tenham sido descritos até o momento, mas não reconhecidos na rotina de caracterização atual da espécie. Assume-se, também, que *B. suis* possua cinco biotipos e *B. melitensis* três, enquanto *B. ovis*, *B. canis* e *B. neotomae* não apresentariam biovariantes (25). Nielsen e Duncan (26) postularam que todas as espécies do gênero *Brucella* reconhecidas atualmente teriam derivado de *B. abortus* biotipo 2.

As biovariantes apresentam certas diferenças quanto à predileção pela infecção em determinadas espécies animais (28).

Em todo o mundo, a brucelose em bubalinos e bovinos é causada predominantemente pelo biotipo 1 (29). Estudo realizado em 37 países visando o isolamento de *B. abortus* das principais espécies domésticas constatou que, dentre 266 linhagens isoladas, 241 (90,6%) foram, predominantemente, os biotipos 1, 2 e 3 isolados de fêmeas bovinas, reforçando a espécie bovina como o principal reservatório de *B. abortus* (26).

No Brasil, até 1985, foram descritos os biotipos 1, 2 e 3 de *B. abortus*, e o biotipo 1 em isolados de *B. suis*, *B. ovis* e *B. canis* (30).

Megid et al. (31) investigaram no país a caracterização de biotipos em quatro fetos bovinos e um bubalino. Foram identificados o biotipo 1 (um feto bovino e um feto bubalino), o biotipo 2 (um feto bovino) e o biotipo 3 (dois fetos bovinos), representando o primeiro registro nacional da caracterização de biotipo em linhagem de *B. abortus* isolada de feto bubalino, além de ressaltar o predomínio dos biotipos 1, 2 e 3 nos abortamentos nessas espécies animais.

Epidemiologia

A bactéria é transmitida principalmente por alimentos contaminados, água, leite ou pelo contato direto com animais infectados, que a eliminam por todas as vias, sobretudo pelo feto, descargas uterinas e leite (3). É encontrada em concentrações elevadas no material abortado e na placenta. Os bubalinos e os bovinos geralmente contraem a doença ingerindo alimentos e água contaminados por fetos abortados (13).

A brucelose possui distribuição mundial (13), exceto nos países que a erradicaram utilizando ações sistemáticas de controle, como EUA, Japão, França e outros países da Europa (32).

A brucelose tem sido descrita em bubalinos, bovinos, suínos, pequenos ruminantes, equinos e cães (30), assim como em roedores, lobos, cervídeos, gambás e outras espécies selvagens, embora não haja evidências de que essas espécies contribuam significativamente na ocorrência da doença nos rebanhos de animais de produção (13).

Os micro-organismos do gênero *Brucella* resistem às condições adversas do ambiente (26), incluindo extremos de pH, temperatura e luz solar direta (33). Podem resistir por seis meses ou mais na água, nos fetos abortados, em restos de placenta, nas fezes, na lã, no feno ou no solo (34). No leite e derivados, mantêm-se viáveis por vários meses (35). A fervura e temperaturas usuais de pasteurização destroem o micro-organismo (15). Desinfetantes clorados (2,5% de cloro ativo), soluções de formaldeído (2%) e compostos fenólicos (2,5%) inativam o micro-organismo a partir de 15 minutos de exposição (36). O álcool (70%) destrói prontamente a bactéria (15). Sob ação do carbonato de cálcio (1:10), o micro-organismo é inativado após 30 minutos de exposição (35).

Patogenia

O ingresso da *Brucella* sp em rebanhos livres determina, inicialmente, elevado número de abortamentos (3). Nas gestações subsequentes ainda ocorre invasão do útero, mas a proporção de abortamentos decresce em 20 a 25%. Raramente os abortamentos reincidem na

terceira prenhez. Após a fase aguda sobrevém a crônica, quando abortam somente os animais recém-introduzidos no rebanho ou novilhas de primeira cria (13, 29).

Entre os ruminantes domésticos, a maioria das infecções ocorre pela ingestão de alimentos e água contaminados, embora também possa ocorrer pelo contato direto com animais infectados ou pelo sêmen (3, 15). A transmissão vertical pode desencadear o estado de “portador latente”, fenômeno relatado em 1 a 9% das novilhas nascidas de fêmeas infectadas. Esses animais apresentam-se sorologicamente negativos ou com títulos oscilantes (26). As fêmeas latentes geram grandes dificuldades nas ações de controle da doença (29).

As brucelas penetram no organismo dos mamíferos pelas mucosas do trato digestório, genital, nasal, conjuntiva ocular ou por soluções de continuidade da pele. Em bubalinos e bovinos, a principal porta de entrada é a mucosa orofaríngea. A partir do trato digestório, a bactéria é carregada aos linfonodos mesentéricos e fagocitada, principalmente por macrófagos. Nos fagócitos, podem permanecer quiescentes por vários meses. A bacteremia ocorre por cerca de duas semanas nos bovinos e bubalinos, com o micro-organismo livre no plasma ou no interior dos macrófagos (26).

O micro-organismo possui tropismo por células do sistema mononuclear fagocitário, como baço, fígado e linfonodos (37). A multiplicação da bactéria é estimulada pelo produto da degradação do eritritol, reconhecido como um açúcar presente nos tecidos osteoarticulares, mamários e órgãos reprodutores femininos e masculinos. O eritritol atinge grandes concentrações no útero gravídico, principalmente nos líquidos fetais, nos placentomas e no tecido córion-alantoideano (38). A presença do eritritol no útero gravídico justificaria, em parte, a brucelose como doença da esfera reprodutiva em certas espécies, incluindo os bubalinos (39).

A produção do eritritol cresce na razão direta da evolução da gestação, porém apresenta alta concentração até os cinco meses da prenhez (40). Tal fato sugere que outras substâncias possam estimular a multiplicação das brucelas, potencializando a ação do micro-organismo na placenta e/ou feto (39).

A multiplicação de *B. abortus* nos placentomas determina necrose, lise das vilosidades e subsequente descolamento do cotilédone e da carúncula. Somente a lesão placentária é suficiente para desencadear o sofrimento fetal por má absorção e oxigenação, culminando com o abortamento. No entanto, o micro-organismo frequentemente invade o feto, determinando infecções em órgãos como pulmão, fígado e baço. Paralelamente, certas fêmeas podem levar a gestação a termo, gerando o nascimento de bezerros doentes e debilitados, que podem vir a óbito em poucos dias. O processo cicatricial e o depósito de fibrina nos placentomas resultam em aderências da placenta nas gestações subsequentes, que determinam altas taxas de retenção de placenta em rebanhos nos quais a doença cursa de forma crônica (3). Ademais, as bubalinas acometidas podem apresentar quadros de metrite, subfertilidade e/ou infertilidade (37).

Após o abortamento, a bactéria migra para outros órgãos, como a glândula mamária e os linfonodos supramamários, podendo determinar mastite crônica ou manter-se quiescente nos linfonodos até a gestação subsequente (41). Os animais infectados eliminam a bactéria em grandes quantidades pelos produtos do abortamento, no parto ou pela secreção vaginal durante todo o puerpério, contaminando o ambiente e propiciando a infecção de novos suscetíveis. A eliminação do agente pelo leite é intermitente e pode persistir por vários meses (3).

Nos touros, a brucela se instala principalmente nos órgãos acessórios do sistema reprodutivo, particularmente na vesícula seminal, podendo ser eliminada pelo sêmen. No entanto, a transmissão do micro-organismo pela monta natural é epidemiologicamente menos frequente se comparada à via oral (42).

Manifestações Clínicas

Na espécie bubalina, as manifestações clínicas da brucelose estão relacionadas principalmente à esfera reprodutiva, causadas predominantemente pela infecção por *B. abortus*. Essa espécie de brucela determina placentite necrótica, morte fetal e abortamentos geralmente no terço final do período gestacional. A gestação poderá também vir a termo, gerando produtos fracos, que poderão morrer nas primeiras semanas (43). Metrites, retenções placentárias e higroma articular ocorrem como sequela da infecção por *B. abortus* (17).

Nos touros, a patogenicidade da bactéria está relacionada à lesão testicular e das glândulas acessórias, manifestada por quadros de orquite, epididimite e vesiculite (13), levando comumente os animais infectados à subfertilidade e/ou infertilidade, somados aos baixos indicadores reprodutivos do rebanho (44).

Controle

A capacidade de sobrevivência das brucelas em condições naturais é elevada se comparada à de outras bactérias patogênicas não esporuladas, sobretudo em ambientes úmidos, ao abrigo da luz solar direta, pH próximo ao neutro e na presença de matéria orgânica. A bactéria pode permanecer viável por até seis meses em pastos nos quais ocorreram casos de abortamento (18). Em geral, a remoção dos animais e produtos infectados, a eliminação da matéria orgânica, a desinfecção do local do abortamento e a adoção do vazio das instalações (no mínimo seis meses) são recomendadas para evitar a transmissão para animais suscetíveis nas propriedades em que a doença cursa de forma endêmica (5, 18).

Embora os mecanismos de transmissão da brucelose bovina e bubalina sejam semelhantes, certas particularidades do comportamento da criação de bubalinos devem ser consideradas previamente ao estabelecimento de programas de controle. A criação bubalina é quase que exclusivamente extensiva, com a utilização de grandes áreas, proporcionando acesso contínuo a diversos tipos de ecossistemas. Ademais, são animais fortes, possuem hábitos migratórios e gregários. Movimentam-se principalmente à noite pelos pastos, rios e aguadas. Na procura de alimento ou água, podem invadir outros pastos e entrar em contato com outros grupos de animais, aumentando a possibilidade de difusão da doença. O hábito dos bubalinos de banharem-se visando à termorregulação corpórea, bem como o pastoreio em aguadas e açudes, contribui para a exposição da espécie a determinados micro-organismos, entre os quais as brucelas, visto que esses ambientes permitem a sobrevivência da bactéria (4).

Em todo o mundo, os países que alcançaram “status” de controle ou erradicação da brucelose fundamentaram seus programas na adoção de medidas semelhantes às preconizadas pelo Brasil no PNCEBT, particularmente pela vacinação sistemática das bezerras, adoção de quarentena e medidas higiênico-sanitárias nos rebanhos, realização de diagnóstico sorológico continuado nos plantéis, aliado ao abate sanitário dos animais reagentes (5, 43).

Diagnóstico

O isolamento de *B. abortus* dos fetos abortados, da placenta e do leite é considerado o método mais fidedigno no diagnóstico individual da brucelose. No entanto, a dificuldade de isolamento do micro-organismo em rebanhos dificulta o uso do diagnóstico microbiológico como método de controle massal da doença (32).

O surgimento de técnicas de biologia molecular, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), tem facilitado o diagnóstico direto das doenças infecciosas, pela demonstração do ácido nucleico do agente, surgindo como alternativa ao diagnóstico microbiológico (45). A tecnologia de PCR tem sido aplicada à detecção de contaminação por *Brucella* em alimentos, principalmente leite e queijos frescos, que constituem importantes

vias de transmissão da brucelose em humanos. Essa técnica também tem sido empregada em amostras isoladas de material clínico como sangue total, secreções, sêmen e abortamentos, permitindo, inclusive, o diagnóstico da doença nos fetos ainda que o agente não esteja mais viável para o isolamento microbiano (45).

Embora a PCR seja promissora, a padronização de métodos de extração, infraestrutura, equipamentos e conhecimentos específicos ainda requerem tempo para que a técnica possa ser incluída na rotina dos laboratórios de diagnóstico (46).

Neste contexto, devido às limitações dos procedimentos laboratoriais que se apoiam no cultivo microbiano do gênero *Brucella*, o diagnóstico da brucelose bubalina tem sido fundamentado na investigação de Ig anti-*B. abortus* no soro sanguíneo e no leite (47).

A persistência de Ig séricas pós-vacinais e a ocorrência de reações inespecíficas nos métodos sorológicos convencionais têm-se constituído no principal entrave no sorodiagnóstico da doença em bubalinos. Dentre estas reações inespecíficas incluem-se as reações cruzadas entre as linhagens lisas (*B. abortus*, *B. melitensis* e *B. suis*) ou com outros micro-organismos Gram-negativos, quais sejam dos gêneros *Pasteurella*, *Francisella*, *Proteus*, *Campylobacter*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Escherichia* e *Yersinia* (0:9) (32).

Tanto nos humanos como nos animais, a infecção natural por *Brucella* sp estimula o aparecimento quase simultâneo de Ig das classes IgM e IgG. Durante a evolução da doença ocorre declínio e tendência do desaparecimento dos níveis de IgM, enquanto IgG persiste em níveis elevados. O desaparecimento de IgG significa, geralmente, a eliminação da infecção (47).

Em contraste, bubalinos e bovinos vacinados com a cepa padrão B19 apresentam predomínio da classe IgM, que mostram concentrações máximas por volta do 13º dia após a vacinação, enquanto a classe IgG - particularmente a subclasse IgG1 - é observada em pequenas quantidades, com picos máximos entre o 28º e o 42º dia pós-vacinais (42). Ribeiro et al. (48), no Brasil, acompanharam o perfil de aglutininas anti-*B. abortus* em bezerras bovinas vacinadas entre três e oito meses de idade com a dose padrão de B19 e observaram títulos sorológicos máximos na prova de soroaglutinação rápida em placa (SAR) - que detecta ambas IgM e IgG - entre o 14º e o 42º dias pós-vacinais e, no 2-ME - que prioriza reações com IgG - , entre o 28º e o 42º dia, com ausência de animais reagentes aos 308 dias após a vacinação.

O diagnóstico sorológico da brucelose em bubalinos e bovinos no Brasil foi modificado pela Instrução normativa nº 2, de 10 de janeiro de 2001, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, no Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (5). O PNCEBT preconiza as provas do AAT, 2-ME e FC para o diagnóstico sorológico da brucelose bubalina e bovina. O AAT é recomendado como método de rotina (triagem), enquanto o 2-ME e a FC, como provas confirmatórias, embora somente a FC seja preconizada para o trânsito e comércio internacional de animais (5).

Após a deflagração do PNCEBT no Brasil, em 2001, a prova do AAT tem sido utilizada como método de rotina, em substituição à prova clássica de soroaglutinação rápida em placa, em virtude da boa sensibilidade e especificidade do AAT, apesar da detecção preferencialmente da classe IgG nesta prova, fato que limita a identificação de animais no início de infecção (5).

Na prova do AAT, a presença de qualquer reação de aglutinação classifica o animal como reagente. A critério do médico veterinário, os animais reagentes no AAT poderão ser submetidos às provas confirmatórias 2-ME ou FC. A prova do AAT é constituída do antígeno a 8%, realizada em placa de vidro, com leitura em quatro minutos de reação. A acidificação do antígeno a pH 3,65 limita a aglutinação da classe IgM, ao contrário da IgG, que mantém a capacidade aglutinante nesse pH ácido (42).

A prova de 2-ME possui boa sensibilidade e alta especificidade, e se caracteriza pela detecção de IgG, considerada a principal classe de Ig presente em animais infectados por *B.*

abortus. A reação de 2-ME é realizada em tubos mantidos em estufa, com antígeno em concentração de 0,045% e leitura com 48 horas. O composto 2-ME rompe as pontes dissulfídicas (enxofre) dos pentâmeros de IgM, resultando em monômeros de IgM que perdem a capacidade aglutinante, priorizando assim as reações com IgG, que se mantém inalterada na presença do radical 2-ME (42).

A prova de fixação de complemento fundamenta-se na habilidade do complexo antígeno-anticorpo em ativar o sistema complemento. Esta prova apresenta boa sensibilidade, alta especificidade e detecta preferencialmente IgG, principalmente da subclasse IgG₁, que predomina em animais infectados (43). A prova de FC é realizada em placas em “U” com 96 poços, com leitura em uma hora. O método é mais laborioso se comparado a AAT e 2-ME. Desta forma, é realizado em número restrito de laboratórios, visto que exige controle rígido de todos os reagentes (antígeno, sistema hemolítico) (24). A técnica detecta precocemente IgG₁ no soro em torno do 14^o dia e também é capaz de revelar casos crônicos nos quais os níveis de IgM praticamente desapareceram e os níveis de IgG₁ são baixos, devido ao baixo limiar de detecção da prova (15).

Os estudos realizados no Brasil com a brucelose em bubalinos praticamente estão restritos à comparação de reações dos animais em diferentes métodos sorológicos (49).

Inquérito sorológico da brucelose em bubalinos no Estado de Goiás revelou 17,31% de animais positivos e 15,82% de suspeitos, em 199 amostras de soros examinadas pela prova de soroaglutinação em placa (50). Sandoval et al. (51) investigaram 992 soros provenientes de rebanhos bubalinos do Estado de São Paulo e encontraram prevalência de 4,33% e 5,69% para brucelose, respectivamente, nas provas de soroaglutinação rápida em placa e “card test”.

Feitosa et al. (52) relataram 21,92% de animais reagentes em 8.845 bubalinos do Estado de São Paulo, utilizando a prova do AAT, e salientaram que a frequência de bubalinos reagentes foi superior a de estudos similares em bovinos.

Na região do Vale do Ribeira, SP, Mathias et al. (53) assinalaram 10,39% de bubalinos reagentes para brucelose em 462 animais, utilizando a prova de FC.

Alternativamente, tem-se investigado também o uso de vacinas com dose reduzida de *B. abortus*, no intuito de minimizar a interferência dos títulos residuais pós-vacinais no diagnóstico sorológico. No Brasil, Kuchembuck (54) vacinou bubalinas adultas, experimentalmente, utilizando dose reduzida da vacina B19 (2×10^9 bactérias/dose, por instilação conjuntival). O autor concluiu que essa prática evitou a disseminação da doença, limitou a ocorrência de manifestação clínica nas fêmeas e reduziu o número de animais reagentes ao longo de seis meses após a vacinação. Porém salientou a necessidade de estudos visando avaliar o declínio dos títulos residuais em bubalinas vacinadas, que poderiam interferir com as provas sorológicas convencionais preconizadas para o diagnóstico no país.

São praticamente incipientes as investigações de acompanhamento do perfil sorológico de bubalinas vacinadas com B19 no Brasil. Estudos dessa natureza podem determinar a interferência provocada por Ig de origem vacinal nos testes sorológicos recomendados no PNCEBT (49), fornecendo subsídios à avaliação continuada das ações de controle e profilaxia, necessárias para o sucesso do programa.

A vacinação com a cepa atenuada B19 é recomendada para bezerras entre 3 e 8 meses de idade, visto que esses animais ainda não são sexualmente maduros, impedindo a patogenicidade da cepa vacinal nas fêmeas vacinadas. Ademais, as bezerras vacinadas tornam-se negativas ao atingirem a idade de cobertura (28). King e Frank (55) afirmaram que 90% das fêmeas vacinadas entre 3 e 8 meses resultaram negativas em testes sorológicos convencionais após nove meses da vacinação. Portanto, a idade das fêmeas na época da vacinação é um fator limitante no uso da vacina B19, visto que em animais vacinados após oito meses de idade os anticorpos oriundos da vacinação não são diferenciados dos induzidos por linhagens de campo nas provas sorológicas de rotina (28).

Domingues et al. (56), no Brasil, acompanharam por 240 dias o perfil de aglutininas anti-*B. abortus* em bezerras bubalinas, entre 3 e 8 meses de idade, vacinadas com a dose padrão de B19, e com dose reduzida (750×10^6 bactérias/dose, via subcutânea). Os autores observaram que 7,7% dos animais vacinados com a dose padrão ainda apresentavam título 100 na soroaglutinação rápida em placa aos 240 dias pós-vacinais, enquanto 45% dos animais vacinados com dose reduzida possuíam título 25 no mesmo período.

Ribeiro et al. (49) investigaram o perfil de aglutininas anti-*B. abortus* em bezerras bubalinas vacinadas entre 3 e 8 meses com a dose padrão de B19. Foi observado que os títulos sorológicos máximos nas provas convencionais de soroaglutinação rápida em placa e 2-ME ocorreram entre o 15^o e o 45^o dia após a vacinação e, na média, as fêmeas não apresentaram títulos na prova de 2-ME após dez meses de aplicação da vacina.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A brucelose, por ser zoonose e causar prejuízos à produção de carne e leite, tornou-se alvo de programas de controle e erradicação em vários países. Esses programas geralmente não fazem distinção entre as espécies bovina e bubalina, adotando estratégias comuns para ambas. No entanto, certas características peculiares dos bubalinos requerem estudos específicos voltados à espécie, notadamente quanto à epidemiologia, ao diagnóstico e às ações de controle e profilaxia.

O diagnóstico microbiológico é fidedigno na brucelose em bubalinos, mas apresenta como inconvenientes a dificuldade de isolamento e limitações de uso massal. A caracterização molecular da *Brucella* é promissora, especialmente na identificação do microrganismo em leite e abortamentos.

Desta forma, o sorodiagnóstico permanece como técnica factível na rotina da maioria dos laboratórios em todo mundo, de custo acessível, padronizada, com boa sensibilidade e especificidade, servindo como um dos principais procedimentos para controle, profilaxia e vigilância epidemiológica da doença em bubalinos.

REFERÊNCIAS

1. Nardi Júnior G. Perfil de anticorpos anti-*Leptospira* spp em búfalas (*Bubalus bubalis*) vacinadas com dois tipos de vacinas comerciais anti-leptospirose (Bacterina e Membrana externa) [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2005.
2. Nardi Júnior G, Genovez ME, Ribeiro MG, Castro V, Jorge AM. Interference of vaccinal antibodies on serological diagnostic of leptospirosis in vaccinated buffalo using two types of commercial vaccines. *Braz J Microbiol.* 2007;38:363-8.
3. Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3^a ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud; 2003.
4. Fosgate GT, Adesiyun AA, Hird DW, Johnson WO, Hietala SK, Schrig GG, et al. Comparison of serologic tests for detection of *Brucella* infections in cattle and water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Am J Vet Res.* 2002;63:1598-605.
5. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Departamento de Defesa Animal. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose bovina. Brasília; 2009 [cited 2009 Jul 8]. Available from: <<http://www.agricultura.gov.br/sda/dda/programa.htm>>.

6. Food and Agriculture Organization. Bovine brucellosis. Health, diseases cards. [cited 2003 Maio 23]. Available from: <<http://www.fao.org>>.
7. Paulin LMS. Estudo comparativo de diferentes técnicas sorológicas para diagnóstico de infecções por *Brucella abortus* em búfalos (*Bubalus bubalis*) [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2009.
8. Jorge AM. Desempenho em confinamento e características de carcaça em bubalinos. In: Barnabé VH. Bubalinos: sanidade, reprodução e produção. Jaboticabal: Funep; 1999. p.51-67.
9. Jorge AM. Produção e qualidade da carne bubalina. In: Franzolin Neto R, editor. Anais do 2º Simpósio Paulista de Bubalinocultura; 2001, Pirassununga. Pirassununga: USP; 2001. p.1-47.
10. Andrighetto C. Efeito da monensina sódica na produção, composição do leite e escore de condição corporal de búfalas Murrah no início da lactação [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2004.
11. Jorge AM. Produção de carne bubalina. Rev Bras Reprod Anim. 2005;29:84-95.
12. Baruselli PS. Manejo reprodutivo de bubalinos. São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento; 1993.
13. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats. 10th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2007.
14. Folha de São Paulo. Jornal a Folha de São Paulo. Saiba mais sobre a doença do aborto da vaca, a brucelose. São Paulo; 2000 [cited 2000 Set 2]. Available from: <<http://www.folhaonline.com.br>>.
15. Paulin LMS, Ferreira Neto JS. O combate à brucelose bovina: situação atual. Jaboticabal: Editora Funep; 2003.
16. Joint Food Agricultural Organization. Expert committee on brucellosis. Genebra: World Health Organization; 1986.
17. Láu HD. Doenças em búfalos no Brasil, diagnóstico, epidemiologia e controle. Brasília: Embrapa; 1999.
18. United States Department of Agriculture. National Center for Animal Health Programs. Facts about brucellosis. New Jersey; 2009 [cited 2009 Ago 10]. Available from <<http://www.aphis.usda.gov>>.
19. Homem VSF, Heinemann MB, Moraes ZM, Veiga JB, Láu HD, Tourrand JF, et al. Some zoonosis in the Eastern Amazon. Case of Uruará, Brazil. In: Proceedings of the 10th International Congress on Animal Hygiene; 2000, Netherlands. Netherlands: ISAH; 2000. p.204-10.

20. Lacerda LM, Alves LMC, Mathias LA, Rodrigues ALB, Almeida FM. Brucelose em trabalhadores de matadouros do município de São Luís, MA. Hig Aliment. 1997;14:62-5.
21. Botelho AP, Mota RA, Silva LBG, Santos Filho AS, Coelho RMS, Lima ET. Recuperação de *Brucella abortus* do leite 'in natura' procedente de vacas soropositivas dos municípios de Pedra e Venturosa-PE: aspectos de saúde pública. Hig Aliment. 1990;14:72-7.
22. Miyashiro S. Presença de DNA de *Brucella abortus* em subprodutos lácteos clandestinos: diferenciação da origem da cepa vacinal (B19) ou de campo pela reação da polimerase em cadeia (PCR) [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2004.
23. Nielsen K, Smith P, Widdison J, Gall D, Kelly L, Kelly W, et al. Serological relationship between cattle exposed to *Brucella abortus*, *Yersinia enterocolitica* O:9 and *Escherichia coli* O157:H7. Vet Microbiol. 2004;100:25-30.
24. Paulin LMS. Brucelose. Arq Inst Biol. 2003;70:239-49.
25. Quinn PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR. Clinical veterinary microbiology. London: Wolfe; 2005.
26. Nielsen K, Duncan JR. Animal brucellosis. Boca Raton: CRC Press; 1990.
27. Metcalf HE, Luchsinger DW, Ray WC. Brucellosis. In: Beran GW, Steele JH. Handbook of zoonoses. Section A: bacterial, rickettsial, chlamydial, and mycotic. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 1994. p.9-39.
28. Adans LG. Development of live brucella vaccines. In: Advances in brucellosis research. Austin: Texas A&M University Press College Station; 1990. p.251-76.
29. Bishop GC, Bosman PP, Herr S. Bovine brucellosis. In: Coetzer JAN, Thomson GR, Tustin RC. Infectious diseases of livestock. Austin: Texas A&M University Press College Station; 1994. p.1053-66.
30. Garcia-Carrillo C. Animal and human brucellosis in the Americas. Paris: Office International des Epizooties; 1990.
31. Megid J, Albert D, Fagliari JJ, Paes AC, Listoni FJP, Pinto MRA, et al. Isolation of *Brucella abortus* from cattle and water buffalo in Brazil. Vet Rec. 2005;156:147-8.
32. Molnár L, Molnár E, Tury E, Souza JS. Concepções modernas para o diagnóstico da brucelose. Rev Bras Med Vet. 1997;19:157-62.
33. Nielsen K. A brief review of diagnosis of bovine brucellosis by detection of antibody. Arch Med Vet. 1995;27:9-17.
34. Lucero NE, Ayala SM, Ecobar GI, Jacob NR. *Brucella* isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. Epidemiol Infect. 2008;136:496-503.

35. Omer MK, Skjerve E, Holstad G, Woldehiwet Z, Macmillan AP. Prevalence of antibodies to *Brucella* spp. in cattle, sheep, goats, horses and camels in the State of Eritrea; influence of husbandry systems. *Epidemiol Infect.* 2000;125:447-53.
36. Castro AC, González RS, Prat IM. Brucellosis: uma revisão pratica. *Acta Bioquim Clin Latinoam.* 2005;39:203-16.
37. Bathke W. Brucellosis. In: Beer J. Doenças infecciosas em animais domésticos: doenças causadas por vírus, clamídias, rickettsiose, micoplasmose. São Paulo: Roca; 1988. p.144-60.
38. Paulin LMS, Ferreira Neto JS. Artigo de revisão: brucelose em búfalos. *Arq Inst Biol.* 2008;75:389-401.
39. Kindahl H, Kornmatitsuk B, Gustafssoon H. The cow in endocrine focus before and after calving. *Reprod Domest Anim.* 2004;39:217-21.
40. Samartino LE, Enright F, Baker R. Is the erythritol the cause of abortion by brucellosis? In: Anais do 15º Congresso Panamericano de Ciências Veterinárias; 1996, Campo Grande. Campo Grande: Associação Panamericana de Ciências Veterinárias; 1996. p.34.
41. Grasso-Paulin LMS. O combate à brucelose bovina [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2000.
42. Sutherland SS. Immunology of bovine brucellosis. *Vet Bull.* 1980;50:359-68.
43. Grasso LMPS, Cardoso MV. Brucelose bovina. *Biológico.* 1998;60:71-9.
44. Nicoletti P. Brucellosis on bovine reproductive efficiency. In: Morrow DA. Current therapy in theriogenology. Philadelphia: W.B. Saunders; 1986. p.271-4.
45. Bricker BJ. PCR as a diagnostic tool for brucellosis. *Vet Microbiol.* 2002;90:435-46.
46. Navarro E, Casao MA, Solera J. Diagnosis of human brucellosis using PCR. *Expert Rev Mol Diagn.* 2004;4:115-23.
47. Casas Olascoaga R. Diagnóstico serológico de la brucelosis. *Zoonosis.* 1976;18:107-41.
48. Ribeiro MG, Spago N, Ratti JR, Megid J. Perfil sorológico anti-*Brucella abortus* em bezerras vacinadas com amostra B19. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 1997;49:137-50.
49. Ribeiro MG, Megid J, Nardi Junior G, Kuroda BS, Jorge AM. Perfil de aglutininas anti-*Brucella abortus* em provas de triagem e confirmatórias, em bezerras búfalas vacinadas com a B19. In: Anais do 28º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária; 2001, Salvador. Salvador: SBMV; 2001. p.160.
50. Costa EO, Cury R, Rocha UF. Sobre a ocorrência da brucelose em búfalos no Estado de Goiás. Inquérito sorológico. *Biológico.* 1973;6:162-4.

51. Sandoval LA, Arruda NM, Teruya JM, Giorgi W, Amaral LBS, Mazanti MT. Pesquisa em bubalinos: prevalência da brucelose e leptospirose no Estado de São Paulo. *Biológico*. 1979;45:209-12.
52. Feitosa MH, Bitar CR, Gomes SP. Brucelose: levantamento sorológico no estado de São Paulo no período de 1977 a 1987. *Vet Zootec*. 1991;3:9-15.
53. Mathias LA, Girio RJS, Del Fava C. Avaliação de um teste imunoenzimático competitivo no diagnóstico da brucelose em búfalos (*Bubalus bubalis*). *Pesqui Vet Bras*. 1998;18:111-4.
54. Kuchembuck MRG. Estudo imunológico clínico do uso em dose reduzida da vacina contra brucelose (amostra B19) em búfalas adultas [tese]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 1983.
55. King NB, Frank NA. Effect of age on resistance and retention of titer in cattle vaccinated with strain 19 Brucella abortus vaccine. *J Am Vet Med Assoc*. 1961;131:100-3.
56. Domingues PF, Langoni H, Padovani CR, Fessel YN. Pesquisa de aglutininas anti-Brucella sp em soros de bezerras bubalinas vacinadas com dose padrão e reduzida de amostras B-19. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 1992;44:491-500.

Recebido em: 11/02/10

Aceito em: 19/03/12

UTILIZAÇÃO DO COLESTEROL NA CRIOPRESERVAÇÃO DE ESPERMATOZÓIDES NA ESPÉCIE EQUINA: UMA REVISÃO

Felipe Pires Hartwig^{1*}
Frederico Ozanam Papa²
José Antonio Dell'Aqua Junior²

RESUMO

A biotecnologia do sêmen proporciona inúmeras vantagens para os atuais programas reprodutivos. Possibilidade de transporte de sêmen a longas distâncias, incremento da utilização de reprodutores geneticamente superiores e diminuição dos riscos de disseminação de doenças para a égua e o potro são alguns dos benefícios proporcionados. Apesar dos avanços, existe ainda uma grande disparidade entre ganhões em relação à qualidade seminal frente aos processos da criopreservação, fato que gera grandes variações nas taxas de fertilidade. Nesse sentido, estudos têm sido desenvolvidos a fim de testar substâncias que possam ser incorporadas aos espermatozóides e que tenham condições de conferir maior resistência frente às injúrias geradas pela refrigeração e congelamento. A adição de colesterol ligado à ciclodextrina (CLC) tem demonstrado *in vitro* ser uma alternativa promissora para os ganhões conhecidos por possuírem baixa viabilidade após a criopreservação. No entanto, até o momento os resultados de fertilidade não justificam a aplicação comercial dessa técnica. O objetivo dessa revisão é de compilar artigos sobre o efeito da adição do colesterol à membrana dos espermatozóides equinos criopreservados.

Palavras-chave: criopreservação, ganhão, sêmen, colesterol.

USE OF CHOLESTEROL IN EQUINE SPERM CRYOPRESERVATION: A REVIEW

ABSTRACT

Semen biotechnology provides several advantages to current reproductive programs. The benefits include the possibility of transporting semen over long distances, increased use of genetically superior stallions, and reducing the risk of spreading diseases to both the mare and the foal. Even with these advances, there is still a wide disparity among stallions regarding semen quality due to the processes of cryopreservation, which generates significant variation in fertility rates. In this regard, studies have been conducted to test new substances that can be incorporated into sperm and confer increased resistance against injuries caused by cooling and freezing. The addition of cholesterol bound to cyclodextrin (CLC) *in vitro* has been suggested as a promising alternative for stallions known to have poor semen viability after cryopreservation. However, to date the results regarding fertility do not justify commercial applicability of this approach. The objective of this review is to compile articles on the effect of adding cholesterol into the membrane of cryopreserved equine sperm.

Keywords: cryopreservation, stallion, semen, cholesterol

¹ Pós-graduando do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP/Botucatu/Brasil.

*Endereço para correspondência: Felipe Pires Hartwig, Rua Dr. Ranimiro Lotufo nº 593, Vila São Judas Thadeu, Botucatu-SP, Brasil. CEP: 18600-000. Tel (53) 81155430. Email: felipe_hartwig@hotmail.com

² Professor do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP/Botucatu/Brasil

USO DE COLESTEROL EN LA CRIOPRESERVACIÓN DE ESPERMA EN EQUINOS: UNA REVISIÓN

RESUMEN

La biotecnología para el manejo del semen proporciona varias ventajas en los programas reproductivos actuales, algunas de las cuales incluyen: la posibilidad de transportar el semen a través de grandes distancias, el aumento de la utilización de reproductores genéticamente superiores y la disminución de riesgos de diseminación de enfermedades para la yegua y potro. A pesar esto, aún existe una gran desigualdad entre los sementales con relación a la calidad espermática en lo referente a los procesos de criopresevación, lo que genera grandes variaciones en las tasas de fertilidad. En ese sentido, se han desarrollado estudios con el objetivo de probar sustancias que puedan ser incorporadas a los espermatozoides y que tengan condiciones de proporcionar una mayor resistencia contra lesiones generadas por refrigeración y congelación. La adición de colesterol unido a la ciclodextrina (CLC) *in vitro*, ha demostrado ser una alternativa prometedora para sementales con baja viabilidad después de la criopreservación. Sin embargo, hasta el momento los resultados de fertilidad no justifican la aplicación comercial de esta técnica. El objetivo de esta revisión es recopilar artículos sobre el efecto de la adición del colesterol a la membrana de los espermatozoides criopreservados de equinos.

Palabras clave: criopreservación, semental, semen, colesterol

INTRODUÇÃO

O avanço da reprodução assistida nas espécies animais vem sendo alcançado por meio da aplicação de biotécnicas cada vez mais modernas. O desenvolvimento de técnicas adequadas para a preservação e armazenamento de sêmen é uma das etapas mais importantes nesse avanço, visto os diversos benefícios proporcionados para os atuais programas reprodutivos.

Por meio do uso da inseminação artificial (IA) com sêmen criopreservado é possível a utilização do reprodutor em momentos nos quais não seria possível a monta natural ou a utilização do sêmen fresco. É o caso de animais que se encontram em campanhas esportivas, situações de comprometimento físico ou mesmo de óbito. Esta biotécnica possibilita ainda o transporte de sêmen a longas distâncias e um melhor aproveitamento de ganhões geneticamente superiores (1).

Após a aprovação pela maioria das associações das raças de equinos, a IA foi amplamente difundida entre os criatórios desta espécie (2). No entanto, apesar dos benefícios, existem fatores que limitam o uso da IA com sêmen criopreservado e contribuem para a ocorrência de variações nos resultados de fertilidade (3, 4).

Em condições naturais, a espécie equina apresenta os menores índices de fertilidade entre as espécies domésticas. Um dos motivos para essa situação são os critérios de seleção utilizados, os quais levam em consideração principalmente a genealogia e o desempenho em competições, deixando em segundo plano os parâmetros de fertilidade (5).

Outro fator limitante é a diferença entre ganhões em relação à resistência dos espermatozoides frente aos processos de criopreservação (6). Em casos extremos, somente é possível a utilização do sêmen no estado a fresco, situação que reduz os benefícios gerados pela IA em um considerável número de reprodutores (3).

As espécies que apresentam espermatozoides com alta relação de molaridade de colesterol:fosfolipídio de membrana possuem maior resistência frente aos processos de criopreservação (7). A partir desta informação, estudos têm sido desenvolvidos em diferentes

espécies para avaliar o efeito da adição do colesterol à membrana dos espermatozoides criopreservados (8, 9).

Em equinos, os resultados obtidos *in vitro* com a adição de colesterol são muito promissores, no entanto, até o momento, as taxas de prenhez por ciclo não ultrapassaram 25% (10, 11), valor muito inferior em comparação a média de 53% descrita por Loomis (12) para inseminações que utilizam sêmen criopreservado. Por esta razão, tem sido proposto que a presença de altos níveis de colesterol incorporada à membrana espermática interfira no padrão fisiológico de capacitação espermática e reação acrossômica (10, 11).

O objetivo dessa revisão é de compilar artigos sobre a adição do colesterol à membrana dos espermatozoides equinos criopreservados e a sua influência sobre a capacitação espermática e reação acrossômica.

Princípios da Criopreservação

Inicialmente o sêmen deve ser resfriado da temperatura corpórea à temperatura ambiente (37°C até 20°C). Este resfriamento não causa maiores danos aos espermatozoides, desde que estejam diluídos adequadamente (13).

O estresse inicial ocorre quando os espermatozoides passam da temperatura ambiente para 5°C (14). Esta é uma faixa crítica no processo de refrigeração, devido à ocorrência da fase de transição dos fosfolípidios da membrana plasmática do estado líquido-cristalino para o estado de gel (15). Os espermatozoides devem ser resfriados de forma correta neste período crítico para que não sofram danos irreversíveis, que causarão queda na fertilidade. Os danos decorrentes dessa faixa de refrigeração são denominados conjuntamente de “choque frio” (16).

Para evitar o choque térmico, é fundamental o controle da curva de refrigeração e a utilização de meios diluentes adequados (15). Até o presente, os diluentes de refrigeração mais utilizados na espécie equina são derivações do meio criado por Kenney et al. (17), que tem na sua composição básica leite desnatado, glicose e antibióticos.

Com o emprego de equipamentos específicos para transporte de sêmen, a taxa de refrigeração é controlada, sendo obtida uma curva de refrigeração lenta e progressiva de aproximadamente 0,3°C por minuto até a estabilização a 5°C. Com isso, mínimos efeitos estressantes e deletérios são gerados aos espermatozoides, proporcionando uma viabilidade de até 72 horas pós-ejaculação para grande parte dos ganhões (1).

O processo de congelação de sêmen envolve os seguintes passos: queda de temperatura, desidratação celular, congelação e descongelação (18). Estas etapas promovem lesões celulares devido a choque térmico, formação de cristais de gelo intracelulares, injúrias oxidativas, estresse osmótico e alterações no DNA (19). A faixa crítica de danos durante a congelação ocorre entre -15°C e -60°C. Após o sêmen atravessar esta faixa de temperatura, a atividade metabólica cessa e as células permanecem inativas (15).

A congelação modifica a membrana celular de modo que altera a habilidade do gameta masculino de interagir com as estruturas do trato reprodutivo feminino. De acordo com Bailey et al. (20), os espermatozoides congelados possuem menor capacidade de aderir-se às células epiteliais do oviduto. Este local atua como reservatório para manutenção dos espermatozoides em metabolismo basal, proporcionando assim, viabilidade às células até o momento da ovulação (20). Adicionalmente, segundo Moore et al. (21), a congelação promove perdas de aproximadamente 28% do conteúdo de colesterol da membrana espermática. Tal fato contribui para a ocorrência de reações acrossômicas prematuras e conseqüentemente diminuição da viabilidade pós-descongelação.

Este fenômeno que ocorre no processo de congelação é conhecido como “criocapacitação” (20). Esta condição deve ser levada em consideração para o momento da fertilização, principalmente nas espécies que possuem o estro prolongado, como é o caso da

equina. Em condições fisiológicas, o espermatozóide equino fica viável por pelo menos 72 horas no oviduto da égua, diferente do oócito que possui viabilidade máxima de 12 horas (22).

Devido às alterações que a criopreservação promove nos espermatozoides, existe a necessidade da aplicação de medidas para a obtenção de melhores índices de fertilidade. Utilização de dose inseminante com maior concentração espermática, inseminação na extremidade do corno uterino, controle folicular intensivo para aproximar o momento da IA e a ovulação, são estratégias comumente utilizadas em programas reprodutivos de equinos (23). No entanto, estas ações acarretam mudanças no manejo na propriedade, elevação dos custos de produção e muitas vezes com baixos resultados de prenhez.

Atuação do colesterol na criopreservação celular

As espécies podem ser classificadas de acordo com a resistência de seus espermatozoides frente à criopreservação. O coelho e o humano são muito resistentes, em contrapartida, os ovinos, suínos, bovinos e equinos são considerados susceptíveis às lesões causadas pelo frio. Ao ser analisada a composição da membrana espermática, foi constatado que as espécies resistentes à criopreservação possuem alta taxa de molaridade de colesterol:fosfolípido (7, 24, 25). O garanhão tem uma taxa molar de colesterol:fosfolípido de membrana de 0,36 (25), valor consideravelmente menor que no coelho e no homem que possuem respectivamente 0,88 e 0,99 (7).

O colesterol apresenta efeitos que reduzem os danos celulares decorrentes da criopreservação. O choque térmico é minimizado na presença de níveis elevados de colesterol, ocorrendo diminuição da temperatura ou até mesmo evitando a ocorrência da fase de transição dos fosfolípidos da membrana, promovendo um estado fluído intermediário ao invés da fase transicional gel. O colesterol possui ainda ação estabilizadora e moduladora da fluidez da membrana (24, 26).

O espermatozóide equino, quando comparado ao bovino, possui uma estreita faixa de tolerância frente a variações osmóticas. A adição e remoção de crioprotetores, congelamento e descongelamento são eventos promotores de grandes estresses osmóticos (19, 27, 28).

Glazar et al. (28) demonstraram em espermatozoides equinos, que a adição de colesterol incrementou a viabilidade pós-descongelamento devido à redução do estresse osmótico. Com o aumento dos níveis de colesterol da membrana foi gerada uma elevação no limiar osmótico e conferida maior permeabilidade à água e aos crioprotetores.

Em contrapartida, o colesterol causa um decréscimo na permeabilidade aos cátions (29), como é o caso do cálcio, que sabidamente está envolvido no desencadeamento da capacitação espermática. Com essa característica do colesterol, são reduzidas as chances da ocorrência de reação acrossômica antes da chegada dos espermatozoides ao local da fertilização.

Utilização de ciclodextrinas

As ciclodextrinas foram isoladas primeiramente como produtos da degradação enzimática do amido e foram classificadas como oligossacarídeos cíclicos. Ao reconhecer-se que estas substâncias eram capazes de formar compostos de inclusão, passou-se a trabalhar na síntese de ciclodextrinas puras (30).

Dentre os três tipos de ciclodextrinas (α , β , γ), as β -ciclodextrinas apresentam a estrutura mais adequada para englobar componentes lipídicos. Devido à alta afinidade por esteróides, as ciclodextrinas são utilizadas para modificar as concentrações de colesterol das membranas (31-33).

As ciclodextrinas possuem habilidade de formar compostos de inclusão com uma variedade de moléculas naturais e sintéticas como hormônios, vitaminas e compostos

lipídicos. Para desenvolver a função carreadora para as membranas, a ciclodextrina deve estar previamente ligada às moléculas a serem carreadas e as mesmas devem caber inteira ou parcialmente na cavidade da ciclodextrina (30, 34).

Estas substâncias carreadoras possuem uma face externa hidrofílica e uma face interna hidrofóbica, e por essa característica são capazes de dissolver, carrear e aumentar a solubilidade em soluções aquosas de compostos hidrofóbicos, como o colesterol (35).

A aptidão da β -ciclodextrina e seu complexo de inclusão de alterar o conteúdo lipídico da membrana plasmática são devido à capacidade de estabelecer um equilíbrio entre os níveis de colesterol ligados à ciclodextrina com o colesterol contido na membrana. Portanto, a incubação da membrana celular somente com ciclodextrina provoca a retirada de colesterol, diferentemente, após a incubação de células contendo baixos níveis de colesterol ocorre incorporação desse lipídio na membrana plasmática (36).

Oliveira et al. (33) testaram em espermatozoides equinos criopreservados e tratados com colesterol ligado à ciclodextrina (CLC), a utilização da β -ciclodextrina isoladamente para remover parte do colesterol da membrana após a descongelação. No entanto, com as concentrações utilizadas nesse estudo, a β -ciclodextrina não foi capaz de remover o colesterol até níveis considerados fisiológicos.

Capacitação espermática e reação acrossômica

Após a ejaculação, grandes quantidades de espermatozoides são depositadas no trato reprodutivo da fêmea. No entanto, normalmente apenas um espermatozoide irá fertilizar o oócito. Para garantir que ocorra esse processo, existem mecanismos altamente regulados de interação entre os gametas e a fertilização.

O espermatozoide maduro é composto por três porções especializadas. A cabeça, que contém o DNA e é fundamental para a interação do espermatozoide com o oócito. A peça intermediária, na qual estão as mitocôndrias responsáveis pela produção de energia, e o flagelo, que atua na motilidade espermática (37).

A região da cabeça do espermatozoide, além do núcleo, possui no seu extremo apical o acrossomo, uma vesícula que contém enzimas hidrolíticas necessárias para a penetração na zona pelúcida e subsequente fertilização do oócito (38). Ainda no limite entre a membrana que recobre o acrossomo e a região caudal ao mesmo, existe a zona equatorial, local de fusão do espermatozoide com o oolema (37).

Para que o espermatozoide exerça sua função, é necessário adquirir a capacidade de realizar as etapas que antecedem a fertilização. Para tanto, a célula sofre uma série de mudanças metabólicas e estruturais durante o seu transporte pelas secreções do trato reprodutivo feminino. Essas mudanças sofridas, coletivamente são denominadas capacitação espermática (38). O papel mais importante da capacitação são as modificações que tornam o espermatozoide capaz de sofrer reação acrossômica em resposta à ligação à zona pelúcida (16).

O primeiro passo na capacitação espermática é o aumento intracelular de cálcio, bicarbonato e peróxido de hidrogênio, que juntos irão estimular a produção de AMPc, que por sua vez ativará a proteína quinase A para fosforilar proteínas da membrana (39). A capacitação também promove mudanças no padrão do movimento, conferindo à célula um estado de hiper motilidade. Com isso, o espermatozoide consegue se desprender do epitélio do oviduto, progredir pelo mesmo e penetrar na zona pelúcida (38, 40, 41).

O processo de interação entre o espermatozoide e o oócito envolve uma sequência de eventos. Após se ligar ao oócito, o espermatozoide desencadeia o processo de reação acrossômica (Figura 1, itens a, b). Mais especificamente, a ligação à zona-pelúcida estimula um influxo de cálcio na célula, que vai gerar aumento da fluidez e fusão das membranas

plasmática e acrossomal externa. Após essa fusão são liberadas enzimas hidrolíticas do interior do espermatozóide que irão permitir sua passagem pela zona pelúcida (37, 42).

Com a perda das membranas externas, a membrana acrossomal interna se liga à zona pelúcida e ocorre a penetração no espaço perivitelínico (Figura 1, item c). Pela zona equatorial o espermatozóide e o oolema se fundem e o gameta masculino é englobado para o interior do oócito (Figura 1, itens d, e). Finalmente, após a ativação do gameta feminino é iniciado o bloqueio à polispermia pela liberação de grânulos corticais (Figura 1, item 6) (37, 42).

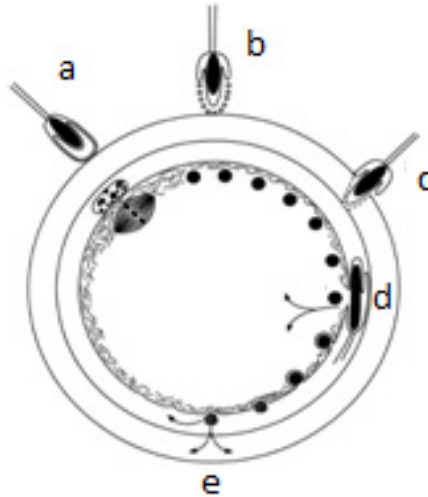


Figura 1. Representação sequencial dos eventos de interação entre o espermatozóide e oócito que antecedem a fertilização. Fonte: Gadella (37). Ligação do espermatozóide à zona pelúcida (a) e reação acrossômica (b). Penetração pela zona pelúcida ao espaço perivitelínico (c). Ligação e fusão do espermatozóide ao oolema (d). Secreção de grânulos corticais causando o bloqueio a polispermia (e).

Uma importante etapa da capacitação e reação acrossômica é a ocorrência de uma desestabilização da membrana plasmática. Alterações na composição dos lipídios e fosfolipídeos geram essa desestabilização, que por sua vez, aumentará a fluidez da membrana, possibilitando a fusão com a membrana acrossomal externa. Portanto, o colesterol possui um papel fundamental nesse mecanismo, visto que seu efluxo da membrana acrossomal durante a passagem pelo trato feminino é um acontecimento obrigatório para o processo de capacitação espermática (43, 44).

O colesterol é considerado um lipídeo não integral de membrana, isto é, pode se desassociar facilmente da membrana plasmática (45). Após a ejaculação, substâncias decapacitantes originadas do trânsito epididimário e do contato com o plasma seminal encontram-se ligadas à superfície do acrossomo. De acordo com Gadella et al. (37), a taxa de capacitação depende do efluxo de colesterol da membrana do espermatozóide.

Davis (46) demonstrou que quanto maior a taxa molar de colesterol:fosfolipídio da membrana, maior o tempo necessário para ocorrer a capacitação espermática. Espécies como os suínos e ovinos demoram no máximo duas horas para capacitar, em contrapartida coelhos e humanos demoram até sete horas.

Incorporação de colesterol à membrana dos espermatozóides

Após o conhecimento das propriedades fisiológicas do colesterol sobre as membranas, estudos são desenvolvidos nas espécies susceptíveis ao choque térmico, a fim de melhorar os

resultados de fertilidade dos programas reprodutivos que utilizam o sêmen congelado (9, 10, 47, 48).

Combes et al. (8) foram os primeiros a testar a incorporação de CLC à membrana de espermatozoides equinos. Melhoras significativas foram obtidas nos parâmetros de motilidade total, progressiva e porcentagem de células rápidas, além de aumento de integridade de membrana. Mesmo alcançando bons resultados laboratoriais, não foi realizado teste de fertilidade.

Segundo Moore et al. (21), pelo tratamento dos espermatozoides com CLC, é possível aumentar os níveis de colesterol na membrana mais de duas vezes em relação às concentrações iniciais. Dessa forma, os espermatozoides adquirem taxas de colesterol semelhantes aos animais resistentes ao choque térmico.

Assim como em equinos, todas as espécies susceptíveis ao choque térmico avaliadas quanto à adição de CLC à membrana espermática responderam positivamente, pelo aumento da viabilidade pós-descongelamento. Os parâmetros mais favorecidos foram de motilidade e integridade de membrana (8, 9, 47, 48).

Além do sêmen congelado, a adição de colesterol também é benéfica para os espermatozoides refrigerados. Torres et al. (49) testaram a incorporação de CLC em espermatozoides equinos refrigerados a 5°C. Ocorreu um aumento nos parâmetros de motilidade total, progressiva e de integridade de membrana até 72 horas após o início da refrigeração. Estes resultados são semelhantes aos de Kirk et al. (50), que também observaram que espermatozoides de garanhões com baixa resistência à criopreservação são os mais favorecidos com o tratamento com CLC (21, 50). Apesar de bons resultados *in vitro*, até o presente momento, não foram realizados testes de fertilidade com o sêmen equino refrigerado tratado com CLC.

Durante o processo de capacitação, o efluxo de colesterol da membrana é essencial para o desencadeamento da capacitação e reação do acrossomo (37). Portanto, o colesterol presente em altos níveis na membrana, possui a capacidade de interferir no padrão fisiológico de capacitação e reação do acrossomo (10).

Spizziri et al. (11) testaram três indutores de reação acrossômica em espermatozoides equinos tratados e não tratados com CLC. Quando utilizado o cálcio ionóforo (A23187) e lisofosfatidilcolina (LPC) ambos os grupos responderam positivamente à indução de reação acrossômica. Diferentemente, a dilauroilfosfatidilcolina (PC12) empregada em diferentes concentrações, não promoveu reação acrossômica ao grupo tratado com CLC.

Tais achados indicam que a membrana dos espermatozoides tratados com CLC, em função de adquirir maior nível de colesterol, torna-se mais estável e provavelmente necessita de mais tempo ou maior estímulo para sofrer a capacitação espermática e posteriormente a reação acrossômica. Adicionalmente, diferente do que foi cogitado por Brinsko et al. (51), a membrana do espermatozoide tratado com CLC não sofre modificações a ponto de perder a habilidade de capacitação e reação acrossômica (11, 33).

Outro aspecto importante foi demonstrado por Spizziri et al. (11) e Moore et al. (21), que comprovaram não haver mudanças na composição da membrana que pudesse prejudicar a ligação dos espermatozoides tratados com CLC à zona pelúcida.

A adição de colesterol à membrana dos espermatozoides equinos possibilita um aumento da resistência à criopreservação (8, 21, 49, 50). No entanto, mesmo com o incremento da viabilidade, os resultados de fertilidade são inferiores em relação aos animais não tratados (10, 11).

Zahn et al. (10) investigaram a fertilidade do sêmen equino congelado previamente tratado com CLC. Apesar do aumento significativo da integridade de membrana pós-descongelamento do grupo CLC (48.7% CLC contra 43.9% grupo controle), a incorporação do colesterol à membrana dos espermatozoides diminuiu a fertilidade (25% prenhez CLC contra 75% grupo controle). Estes resultados são semelhantes aos de Spizziri et al. (11), que

observaram que mesmo os espermatozoides tratados com CLC tendo respondido aos indutores de reação acrossômica e se ligado normalmente à zona pelúcida, apresentaram baixas taxas de prenhez (28,6% grupo controle contra 15% grupo CLC).

Assim como relatado na espécie humana (52, 53), existe uma população de ganhões classificados como sub-férteis, porém, sem causa definida. Esses animais apresentam parâmetros espermáticos adequados, mas com taxas de prenhez por ciclo variando entre 0% e 15% (51).

Ao ser analisada a composição do plasma seminal e membrana dos espermatozoides dos animais sub-férteis, foi constatado que as taxas molares de colesterol:fosfolipídios eram mais que o dobro em relação aos ganhões considerados férteis. Diferente dos resultados de Spizziri et al. (11), os animais sub-férteis apresentaram baixa porcentagem de reação acrossômica frente à indução com cálcio ionóforo (51).

Os dados apresentados corroboram a influência do colesterol sobre a capacitação e a reação do acrossomo. Uma hipótese para a diminuição da fertilidade dos espermatozoides tratados com CLC seria pelas modificações nas características de permeabilidade e de fluidez, tornando a célula mais estável, dificultando o influxo de cálcio. Com esse influxo diminuído, a adenilciclase não é ativada e o padrão de capacitação espermática e reação acrossômica são alterados (29, 33, 54).

Uma alternativa a ser estudada, é a criação de protocolos específicos de IA com sêmen criopreservado tratado com CLC. Devido ao maior teor de colesterol na membrana plasmática, pode haver atraso da capacitação espermática, portanto, seria plausível testar a realização da IA em diferentes momentos pré-ovulação (10, 11).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A incorporação de colesterol à membrana espermática constitui uma forma eficiente de aumentar a viabilidade do sêmen criopreservado, principalmente para os reprodutores com baixa resistência ao choque térmico. Porém, para esse método tornar-se uma realidade na prática reprodutiva, melhores taxas de fertilidade necessitam ser alcançadas.

Devido à grande influência do colesterol sobre a capacitação e reação acrossômica, são necessários novos estudos para o desenvolvimento de protocolos específicos de IA e realização de testes laboratoriais mais completos utilizando espermatozoides equinos criopreservados e tratados com colesterol.

REFERÊNCIAS

1. Pimentel CA, Carneiro GF. Biotécnicas aplicadas à reprodução de equinos. In: Gonçalves BDG, Figueiredo RF, Freitas VJF. Biotécnicas aplicadas à reprodução animal. 2ª ed. São Paulo: Roca; 2008. p.145-59.
2. Aurich JE, Aurich C. Developments in european horse breeding and consequences for veterinarians in equine reproduction. *Reprod Domest Anim.* 2006;41:275-9.
3. Aurich C. Recent advances in cooled-semen technology. *Anim Reprod Sci.* 2008; 107:268-75.
4. Loomis PR, Graham JK. Commercial semen freezing: individual male variation in cryosurvival and the response of stallion sperm to customized freezing protocols. *Anim Reprod Sci.* 2008;105:119-28.

5. Varner DD, Love CC, Blanchard TL, Bliss SB, Carrol BS, Macpherson ML. Breeding-management strategies and semen-handling techniques for stallions - case scenarios. In: Proceedings of the 56th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; 2010, Baltimore. Maryland: AAEP; 2010. p.56.
6. Brinsko SP, Crockett EC, Squires EL. Effect of centrifugation and partial removal of seminal plasma on equine spermatozoal motility after cooling and storage. *Theriogenology*. 2000;54:129-36.
7. Darin-Bennett A, White IG. Influence of the cholesterol content of mammalian spermatozoa on susceptibility to cold-shock. *Cryobiology*. 1977;14:466-70.
8. Combes GB, Varner DD, Schroeder F, Burghardt RC, Blanchard TL. Effect of cholesterol on the motility and plasma membrane integrity of frozen equine spermatozoa after thawing. *J Reprod Fertil Suppl*. 2000;56:127-32.
9. Purdy PH, Graham JK. Effect of cholesterol-loaded cyclodextrin on the cryosurvival of bull sperm. *Cryobiology*. 2004;48:36-45.
10. Zahn FS, Papa FO, Dell'Aqua JA. Cholesterol incorporation on equine sperm membrane: effects on post-thaw sperm parameters and fertility. *Theriogenology*. 2002; 58:237-40.
11. Spizziri BE, Fox MH, Bruemmer JE, Squires EL, Graham JK. Cholesterol-loaded-cyclodextrins and fertility potential of stallion's spermatozoa. *Anim Reprod Sci*. 2010; 118:255-64.
12. Loomis PR. The equine frozen semen industry. *Anim Reprod Sci*. 2001;68:191-200.
13. Moran DM, Jasko DJ, Squires EL, Amann RP. Determination of temperature and cooling rate which induce cold shock in stallion spermatozoa. *Theriogenology*. 1992; 38:999-1012.
14. Squires EL, Pickett BW, Graham JK, Vanderwall DK, Mccue PM, Bruemmer JE. Cooled and frozen stallion semen. Colorado: Animal Reproduction and Biotechnology Laboratory, Colorado State University; 1999. Bulletin 9.
15. Graham JK. Cryopreservation of stallion spermatozoa. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 1996;12:131-47.
16. Watson PF. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *Reprod Fertil Dev*. 1995;7:871-91.
17. Kenney RM, Bergmann RV, Cooper WL, Morse G. Minimal contamination techniques for breeding mares: technique and preliminary findings. *Proc Am Assoc Equine Pract*. 1975;21:327-49.
18. Medeiros CMO, Forell F, Oliveira ATD, Rodrigues JL. Current status of sperm cryopreservation: why isn't it better? *Theriogenology*. 2002;57:327-44.

19. Ball BA, Voss A. Osmotic tolerance of equine spermatozoa and effects of soluble cryoprotectants on equine sperm motility, viability and mitochondrial membrane potential. *J Androl.* 2001;22:1061-9.
20. Bailey JL, Bilodeau JF, Cormier N. Sperm cryopreservation in domestic animals: a damaging and capacitating phenomenon. *J Androl.* 2000;21:1-7.
21. Moore AI, Squires EL, Graham JK. Adding cholesterol to the stallion sperm plasma membrane improves cryosurvival. *Cryobiology.* 2005;51:241-9.
22. Hafez ESE, Hafez B. Fisiologia da reprodução animal. In: Hafez ESE, Hafez B. *Reprodução animal.* 2ª ed. São Paulo: Manole; 2004. p.104-26.
23. Watson PF. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim Reprod Sci.* 2000;61:481-92.
24. Watson PF. The effects of cold shock on sperm cell membranes. In: Morris GJ, Clark A. *Effects of low temperatures on biological membranes.* London: Academic Press; 1981. p.189-218.
25. Parks JE, Lynch DV. Lipid composition and thermotropic phase behavior of boar, bull, stallion, and rooster sperm membranes. *Cryobiology.* 1992;29:255-66.
26. Crockett EL. Cholesterol function in plasma membranes from ectotherms: membrane-specific roles in adaptation to temperature. *Am Zool.* 1998;38:291-304.
27. Guthrie HD, Liu J, Critser JK. Osmotic tolerance limits and effects of cryoprotectants on motility of bovine spermatozoa. *Biol Reprod.* 2002;67:1811-6.
28. Glazar A, Mullen SF, Liu J, Benson JD, Critser JK, Squires EL, et al. Osmotic tolerance limits and membrane permeability characteristics of stallion spermatozoa treated with cholesterol. *Cryobiology.* 2009;59:201-6.
29. Yeagle PL. Cholesterol and the cell membranes. *Biochim Biophys Acta.* 1985; 822:267-87.
30. Saenger W. Cyclodextrin inclusion compounds in research and industry. *Angew Chem Int Ed Engl.* 1980;19:344-62.
31. Kilsdonk EPC, Yancey PG, Stoudt GW, Wen Bangerter F, Johnson W, Phillips MC, et al. Cellular cholesterol efflux mediated by cyclodextrins. *J Biol Chem.* 1995; 270:17250-6.
32. Choi YH, Toyoda Y. Cyclodextrin removes cholesterol from mouse sperm and induces capacitation in protein-free medium. *Biol Reprod.* 1998;59:1328-33.
33. Oliveira CH, Vasconcelos FA, Souza AO, Martins-Filho MX, Silva FC, Varago MA, et al. Cholesterol addition protects membrane intactness during cryopreservation of stallion sperm. *Anim Reprod Sci.* 2010;118:194-200.

34. Navratil AM, Bliss SP, Berghorn KA, Haughian JM, Farmerie TA, Graham JK, et al. Constitutive localization of the gonadotropin releasing hormone (GnRH) receptor to low density membrane microdomains is necessary for GnRH signaling to ERK. *J Biol Chem.* 2003;278:31593-602.
35. Dobziuk H. Molecules with holes – cyclodextrins. In: *Cyclodextrins and their complexes.* Weinheim: Wiley-VCH; 2006. p.1-30.
36. Klein U, Gimpli G, Fahrenholz F. Alteration of the myometrial plasma membrane cholesterol content with β -cyclodextrin modulates the binding affinity of the oxytocin receptor. *Biochemistry.* 1995;34:13784-93.
37. Gadella BM, Rathi R, Brouwers JFHM, Stout TAE, Colenbrander B. Capacitation and acrosome reaction in equine sperm. *Anim Reprod Sci.* 2001;68:249-65.
38. Yanagimachi R. Mammalian fertilization. In: Knobil E, Neill JD. *The physiology of reproduction.* New York: Raven Press; 1994. p.189-317.
39. Witte TS, Schäfer-Somi S. Involvement of cholesterol, calcium and progesterone in the induction of capacitation and acrosome reaction of mammalian spermatozoa. *Anim Reprod Sci.* 2007;102:181-93.
40. Demott RP, Suarez SS. Hyperactivated sperm progression in the mouse oviduct. *Biol Reprod.* 1993;46:779-85.
41. Rathi R, Colenbrander B, Bevers MM, Gadella BM. Evaluation of in vitro capacitation of stallion spermatozoa. *Biol Reprod.* 2001;65:462-70.
42. Gadella BM. Sperm membrane physiology and relevance for fertilization. *Anim Reprod Sci.* 2008;107:229-36.
43. Cross NL. Role of cholesterol in sperm capacitation. *Biol Reprod.* 1998;59:7-11.
44. Flesch FM, Gadella BM. Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1469:197-235.
45. Nolan JP, Hammerstedt RH. Regulation of membrane stability and the acrosome reaction in mammalian sperm. *Faseb J.* 1997;11:670-82.
46. Davis BK. Timing of fertilization in mammals: sperm cholesterol/ phospholipid ratio as a determinant of the capacitation interval. *Proc Natl Acad Sci.* 1981;78:7560-4.
47. Mocé E, Purdy PH, Graham JK. Treating ram sperm with cholesterol-loaded cyclodextrins improves cryosurvival. *Anim Reprod Sci.* 2010;118:236-47.
48. Farshad A, Amidi F, Koohi Khor A, Rashidi A. Effect of cholesterol-loaded-cyclodextrin in presence and absence of egg yolk during freezing step on quality of Markhoz Buck's spermatozoa. *Asian Australas J Anim Sci.* 2011;24:181-9.

49. Torres P, Serres C, Gomez-Cuétera C, Santiago I, Mateos E, Álvarez AL. Effect of cholesterol-loaded cyclodextrin on motility and plasma membrane integrity of cooled stallion sperm. *Anim Reprod Sci.* 2006;94:148-51.
50. Kirk ES, Graham JK, Squires EL. Increasing membrane cholesterol content benefits the motility of cooled equine semen. *Anim Reprod Sci.* 2001;68:315-65.
51. Brinsko SP, Love CC, Bauer JE, Machperson ML, Varner DD. Cholesterol-to-phospholipid ratio in whole sperm and seminal plasma from fertile stallions and stallions with unexplained subfertility. *Anim Reprod Sci.* 2007;99:65-71.
52. Moghissi KS, Wallach EE. Unexplained infertility. *Fertil Steril.* 1983;39:5-21.
53. Calvo L, Dennison-Lagos L, Banks SM, Sherins RJ. Characterization and frequency of acrosome reaction among normal and infertile men. *Hum Reprod.* 1994;9:1875-9.
54. Holt WV, North RD. Thermotropic phase transitions in the plasma membrane of ram spermatozoa. *J Reprod Fertil Suppl.* 1986;78:447-57.

Recebido em: 23/08/11

Aceito em: 20/03/12

COMPONENTES DO PLASMA SEMINAL E SUA INFLUÊNCIA SOBRE A CRIOPRESERVAÇÃO E FERTILIDADE DE ESPERMATOZÓIDES EQUINOS

Priscilla Nascimento Guasti¹
Gabriel Augusto Monteiro¹
Frederico Ozanam Papa²

RESUMO

Após sua formação no ambiente testicular, o espermatozóide necessita passar por um processo de maturação para que ele seja capaz de fertilizar o oócito. Durante o trânsito epididimário e a ejaculação, as células espermáticas entram em contato com os produtos secretórios das glândulas anexas e passam a adquirir motilidade progressiva, habilidade de reconhecimento e ligação com a zona pelúcida e fusão com a membrana plasmática do oócito. Sabe-se que algumas proteínas aderidas à membrana espermática são semelhantes às existentes no plasma seminal, sugerindo que estas são provenientes da interação dos produtos secretórios das glândulas anexas com as células espermáticas. Deste modo, a determinação dos componentes do plasma seminal poderia ser considerada uma forma de avaliação do ejaculado. Estudos indicam que o plasma seminal exerce várias funções sobre o metabolismo espermático e o processo de fecundação como a ativação da motilidade espermática, ação antimicrobiana, neutralização dos metabólitos espermáticos, proteção contra a acrosina por meio de inibidores de proteases, entre outros. Além disso, é mediador da capacitação espermática e da resposta inflamatória pós-coital no útero de éguas. Portanto, o estudo do perfil bioquímico e proteico do plasma seminal permite o isolamento e caracterização de substâncias correlacionadas positivamente com a criopreservação e a fertilidade do sêmen de garanhões, possibilitando o aprimoramento das técnicas de armazenamento de espermatozoides equinos e a identificação precoce de animais férteis em relação àqueles subférteis.

Palavras-chave: plasma seminal, espermatozóide, criopreservação, fertilidade, equino.

SEMINAL PLASMA COMPONENTS AND ITS INFLUENCE ON CRYOPRESERVATION AND FERTILITY OF EQUINE SPERMATOOA

ABSTRACT

After its formation in the testicular environment, sperm needs to go through a maturation process for enabling it to fertilize the oocyte. During epididymal transit and ejaculation, sperm cells come into contact with secretory products of the accessory glands and acquire progressive motility, ability to recognize and bind zona pellucida, and fusion with the plasma membrane of the oocyte. It is known that some proteins attached to the sperm membrane are similar to those present in seminal plasma, suggesting that these are from the interaction of secretory products of the accessory glands with spermatozoa. Thus, the determination of seminal plasma components could be considered a form of ejaculate evaluation. Studies indicate that seminal plasma plays several roles on metabolism and sperm fertilization process such as activation of sperm motility, antimicrobial activity, neutralization of sperm metabolites, protection against acrosin by protease inhibitors, among others. Furthermore, it

¹ Pós graduanda do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária –Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP/Botucatu/Brasil, priguasti@gmail.com

² Professor Titular do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária –Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP/Botucatu/Brasil, papa@fmvz.unesp.br

mediates sperm capacitation and post-coital inflammatory response in the uterus of mares. Therefore, the study of biochemical and protein profile of seminal plasma allows the isolation and characterization of components positively related to cryopreservation and fertility of stallion semen, enabling improvements in the storage techniques and early identification of fertile and subfertile animals.

Keywords: seminal plasma, sperm, cryopreservation, fertility, equine.

COMPONENTES DEL PLASMA SEMINAL Y SU INFLUENCIA SOBRE LAS CRIOPRESERVACIÓN Y FERTILIDAD DE ESPERMATOZOIDES EQUINOS

RESUMEN

Después de su formación en el ambiente testicular, el espermatozoide necesita pasar por un proceso de maduración antes de ser capaz de fertilizar al ovocito. Durante el trayecto epididimario y la eyaculación, las células espermáticas entran en contacto con los productos de secreción de las glándulas anexas y comienzan a adquirir motilidad progresiva, capacidad de reconocimiento y unión con la zona pelúcida así como de fusión con la membrana plasmática del ovocito. Se sabe que algunas proteínas unidas a la membrana espermática son similares a aquellas existentes en el plasma seminal, lo que sugiere que estas son procedentes de la interacción de los productos secretorios de las glándulas anexas con las células espermáticas. De este modo, la determinación de los componentes del plasma seminal podría ser considerada una forma de evaluación del semen. Los estudios indican que el plasma seminal desempeña varias funciones en el metabolismo espermático y el proceso de fertilización, entre las que se incluyen: activación de la motilidad, actividad antimicrobiana, neutralización de los metabolitos de los espermatozoides y protección contra acrosina por inhibidores de la proteasa. Además, interviene en la capacitación espermática y respuesta inflamatoria post-coital en el útero de las yeguas. Por lo tanto, el estudio del perfil bioquímico y de las proteínas del plasma seminal permite el aislamiento y caracterización de sustancias correlacionadas positivamente con la criopreservación y la fertilidad del semen de caballo, lo que permite mejorar las técnicas de almacenamiento y la identificación precoz de animales fértiles en relación con los sub-fértiles.

Palabras claves: plasma seminal, espermatozoides, criopreservación, fertilidad, equino

INTRODUÇÃO

A espécie equina possui baixos índices de fertilidade quando comparada com as demais espécies domésticas. Parte dessas observações relaciona-se ao fato de que a equinocultura não seleciona os animais pela fertilidade. Além disso, há tendências de se atribuir à fêmea os problemas de infertilidade, comprometendo uma avaliação mais criteriosa envolvendo o macho (1).

Dentre os fatores que podem alterar os índices reprodutivos, a qualidade seminal assume um efeito considerável. Neste contexto, estudos têm sido conduzidos com o objetivo de correlacionar resultados de investigações laboratoriais com aqueles dos testes de fertilidade.

Sabe-se que o plasma seminal exerce várias funções sobre o metabolismo espermático e o processo de fecundação como: ativação da motilidade espermática, ação antimicrobiana, neutralização dos metabólitos espermáticos, proteção contra a acrosina por meio de inibidores de proteases, entre outros. Além disso, é mediador da capacitação espermática e da resposta inflamatória pós-coital no útero de éguas (2, 3).

Entretanto, as técnicas de criopreservação de sêmen equino preconizam a retirada do plasma seminal, uma vez que a presença do plasma seminal promove um efeito deletério sobre a preservação das células espermáticas (4).

Apesar de alguns estudos terem demonstrado que as proteínas aderidas à membrana espermática serem semelhantes às existentes no plasma seminal, a comprovação da fertilidade de espermatozoides colhidos da cauda do epidídimo tem questionado a necessidade dos componentes do plasma seminal no processo de fertilização, já que estes são capazes de fertilizar o oócito, sem nenhum contato prévio com as secreções das glândulas anexas (5-7).

O isolamento e caracterização dos componentes do plasma seminal possibilitam a avaliação de sua influência sobre as células espermáticas, o aprimoramento das técnicas de armazenamento e a identificação precoce de animais férteis em relação àqueles subférteis. O presente trabalho tem por objetivo revisar os componentes do plasma seminal e sua correlação com a criopreservação e a fertilidade de espermatozoides equinos.

REVISÃO DE LITERATURA

Maturação Espermática Pós-testicular

Os espermatozoides ao saírem do testículo ainda não são capazes de fertilizar o oócito. À medida que passam pelo epidídimo, os espermatozoides sofrem importantes alterações morfofuncionais, onde passam a ter capacidade fecundante (8).

O epidídimo é anatomicamente conectado ao testículo e pode ser dividido em cabeça, corpo e cauda. Cada região secreta substâncias específicas que promovem mudanças na composição química e protéica do fluido epididimário, essenciais para a manutenção da viabilidade da célula espermática (9).

As mudanças funcionais envolvem alterações do padrão de atividade flagelar e habilidade de se ligar à zona pelúcida. Mudanças na composição da membrana plasmática contribuem para estas mudanças funcionais. Elas são refletidas por mudanças na carga elétrica da superfície celular, ligação de lecitinas, distribuição de partículas intramembranas, fluidez da membrana, composição de lipídeos e proteínas e ligação de anticorpos (10).

Portanto, tanto os eventos da espermatogênese quanto a maturação pós-testicular são necessários para a competência das células espermáticas frente à fertilização (10).

Plasma Seminal

O sêmen é composto por duas frações distintas: os espermatozoides, que compõem menos que 1% do volume total e o plasma seminal (11). O plasma seminal consiste em um fluido produzido pela rede testis, epidídimo e glândulas acessórias, sendo expelido em frações durante a ejaculação por meio de contrações uretrais (4).

A primeira porção ejaculada é a fração pré-espermática, translúcida, e provém das glândulas bulbouretrais e da próstata. Esta fração possui a função de limpeza da uretra. A segunda fração possui aspecto leitoso, é rica em espermatozoides, glicerilfosforilcolina (GPC) e ergotina, e é composta por secreções do epidídimo e da ampola do ducto deferente. A terceira porção contém poucos espermatozoides, porém grandes quantidades de ácido cítrico e gel proveniente das glândulas vesiculares, com a função de carrear os poucos espermatozoides que restaram na uretra (12).

O volume do ejaculado do garanhão pode chegar a 200 mL, sendo 10 a 20 vezes maior do que o ejaculado de touros e 50 a 100 vezes maior do que o ejaculado de carneiros. Entretanto, o número total de espermatozoides por ejaculado é similar nas três espécies, demonstrando a grande contribuição do plasma seminal no sêmen de equinos (13).

Principais Componentes do Plasma Seminal

Alguns constituintes do plasma seminal equino já foram isolados e identificados, entretanto informações sobre sua origem, estrutura e funções continuam limitados (14). A variabilidade individual entre garanhões com relação à composição bioquímica e protéica do plasma seminal (15) dificulta a obtenção de resultados consistentes em relação a estes componentes.

Proteínas

A maioria das proteínas presentes no plasma seminal é proveniente do epidídimo e estão envolvidas na remodelação da membrana espermática, que ocorre durante o trânsito epididimário e após a ejaculação (9).

A secreção de proteínas no epidídimo é altamente regionalizada, sendo a cabeça e o corpo as regiões mais ativas. Na espécie equina, cerca de 73% dos compostos protéicos são secretados na cabeça do epidídimo (9, 10).

As proteínas epididimárias adquiridas pela membrana espermática durante o trânsito epididimário são classificadas de acordo com o tipo de interação com a célula espermática. Podem ocorrer ligações fracas, responsáveis pela quiescência dos espermatozoides; ligações fortes, importantes no trato reprodutivo da fêmea e na fertilização; modificações das proteínas da membrana plasmática, encobrendo ou expondo receptores; ou presença de proteínas livres no fluido epididimário, colaborando com a manutenção do meio (16).

Em relação às proteínas provenientes do plasma seminal, oito proteínas de baixo peso molecular (14 a 30 kDa) foram isoladas e caracterizadas, e são denominadas proteínas do plasma seminal equino (HSP-1 a HSP-8). Todas as HSP agregam-se à superfície espermática durante a ejaculação, exceto a HSP-4 (17).

Até o momento, sabe-se que a maioria das proteínas seminais pertence a três grupos, são elas: proteínas transportadoras de dois ou quatro módulos de fibronectina tipo II (Fn-2), proteínas secretórias ricas em cisteína (CRISPs), e as espermadesinas (4).

As proteínas do grupo Fn-2 apresentam número variável de domínios de fibronectina do tipo II e estão presentes ao longo de todo o trato reprodutivo masculino, sendo expressas no corpo e cauda do epidídimo e na ampola do ducto deferente (18). Essas proteínas interagem especificamente com colina-fosfolipídios da membrana plasmática do espermatozoide no momento da ejaculação e possuem habilidade de se ligar à heparina. A heparina é estruturalmente semelhante aos glicosaminoglicanos (GAGs), estes são secretados em grandes quantidades no oviduto e nos fluidos uterinos durante a fase folicular da égua, e parece mediar o processo de capacitação espermática por meio do efluxo de colesterol e fosfolipídeos (19).

As proteínas HSP-1 e HSP-2 representam 70-80% das proteínas totais do plasma seminal equino e pertencem ao grupo das proteínas Fn-2, sendo caracterizadas pela habilidade de ligação à heparina (18).

O segundo grupo de proteínas importantes em equinos é representado pelas CRISP, estas são caracterizadas por apresentarem 16 resíduos de cisteína em sua estrutura molecular e são divididas em CRISP1, CRISP2 e CRISP3. A CRISP 1 é expressa ao longo do epidídimo, enquanto a CRISP 2 é expressa no testículo, epidídimo e glândulas vesiculares. Segundo Töpfer-Petersen et al. (17), foi observada a completa perda de expressão de CRISP 2 no testículo e no epidídimo de um garanhão criptorquídico.

Em maior quantidade, proteínas da classe CRISP 3 são expressas desde o epidídimo até o resto do trato genital, com alta expressão na ampola do ducto deferente. As CRISPs são expressas sob controle androgênico e ligam-se na região equatorial, pós-acrossomal e na peça intermediária dos espermatozoides, estando intimamente relacionadas com a fusão do espermatozoide ao oócito. A proteína HSP-3 pertence ao grupo CRISP, sendo estruturalmente semelhante às proteínas deste grupo (20).

As espermedesinas possuem de 110 a 113 aminoácidos na sua estrutura e compreendem um único domínio CUB (domínio protéico) estabilizado por pontes dissulfídicas. Estas proteínas são multifuncionais e exibem habilidade para se ligar à heparina, a inibidores de proteinase, fosfolipídeos e a carboidratos (17). A HSP-7 é a maior representante das espermatodesinas em ganhões, e é secretada durante o trajeto do espermatozóide pelo ducto epididimário. Esta se liga à zona pelúcida intacta, mostrando seu papel na interação espermatozóide-zona pelúcida (21).

Além disso, o plasma seminal possui evidente efeito imunossupressor sobre a endometrite pós-cobertura, por meio da supressão da ativação do complemento e da quimiotaxia das células polimorfonucleares. Estudos indicam que esta atividade imunossupressora está relacionada com a presença de determinadas proteínas no plasma seminal, ao impedir a ligação do espermatozóide às células polimorfonucleares (3, 22).

Enzimas

A grande maioria das enzimas encontradas no plasma seminal funciona como agente antioxidante, prevenindo a peroxidação dos lipídeos de membrana pelas espécies reativas ao oxigênio e, conseqüentemente, fragmentação do DNA espermático (23).

A catalase, superóxido dismutase (SOD) e o sistema glutatona peroxidase/reductase (GPx/GRD) são as principais enzimas com ação antioxidante encontradas no sêmen (24). O plasma seminal equino possui uma alta atividade da enzima catalase, e esta provém principalmente das secreções prostáticas (25).

A enzima aspartame-amino-transferase (AST) presente no plasma seminal equino parece estar correlacionada com a motilidade dos espermatozoides. Defeitos na membrana plasmática do espermatozóide na região da peça intermediária, onde localiza-se a AST, levam à perda desta enzima, causando o bloqueio da produção de adenosina trifosfato (ATP), responsável pela cinética espermática (26).

A enzima fosfatase alcalina (FA) é expressa em grandes quantidades nos testículos e epidídimos. A quantificação desta enzima pode ser utilizada como marcador para diferenciar azoospermia verdadeira (altos níveis de FA) de falhas na ejaculação (baixos níveis de FA) e azoospermia por bloqueio da ampola do ducto deferente (27).

Hormônios

As secreções dos órgãos acessórios do trato genital masculino são essenciais para o desenvolvimento e a maturação dos espermatozoides. Em equinos, a presença de prostaglandinas (PGF_{2α} e PGE₂), estrógeno e ocitocina está associada ao transporte espermático e à eliminação de espermatozoides não viáveis, auxiliando na limpeza uterina de éguas susceptíveis à endometrite (3).

Particularmente em ganhões, grandes quantidades de estrógeno são produzidas pelos testículos, principalmente pelas células germinativas (28). O papel fisiológico do alto nível de estrógeno no plasma seminal de ganhões ainda não está elucidado. Entretanto, em suínos, o estrógeno em tais níveis promove o aumento da contratilidade uterina, facilitando o transporte espermático (29).

Estudos em roedores e suínos indicam que a prostaglandina E₂ (PGE₂) promove um efeito local na camada muscular longitudinal do oviduto levando ao aumento do diâmetro luminal (30). Um mecanismo regulatório similar ocorre em éguas, a PGE₂ é responsável pelo transporte do embrião e parece facilitar a passagem dos espermatozoides ao longo do oviduto (3).

A presença de prostaglandina F_{2α} e ocitocina no plasma seminal está relacionada à contração do miométrio. As contrações uterinas agem fisicamente para a remoção de líquido acumulado e produtos nocivos resultantes do processo de inflamação após a cobertura ou inseminação artificial (3).

Íons

A função espermática é altamente dependente do ambiente iônico. A composição iônica do plasma seminal varia entre as frações do ejaculado, e também entre animais da mesma espécie. As concentrações de cálcio, fosfato inorgânico e magnésio são maiores na fração espermática, composta por secreções do epidídimo e da ampola do ducto deferente (4).

O íon cálcio é um importante regulador da fisiologia espermática, apresenta-se em grandes concentrações nos produtos secretórios da próstata, da glândula vesicular e do epidídimo. Este íon é apontado como desencadeador da reação acrossômica em espermatozoides de mamíferos, e diversas evidências mostram seu envolvimento na motilidade (31).

O magnésio desempenha um papel fundamental como co-fator em mais de 300 reações enzimáticas que envolvem o metabolismo energético e a síntese de ácidos nucleicos. Sabe-se ainda que o magnésio é considerado um marcador da secreção das vesículas seminais e que age como antagonista intracelular do cálcio (31).

O zinco é originado principalmente da próstata, e desempenha um papel importante na motilidade espermática, exercendo atividade protetora antioxidante. É considerado também como fator antimicrobiano para bactérias gram-negativas e positivas (32).

O cobre é essencial para a funcionalidade de algumas enzimas. A enzima Cu-Zn-superóxido dismutase (SOD), envolvida na proteção dos espermatozoides contra radicais livres, e a enzima citocromo oxidase, responsável pelo fornecimento de energia e pela imunidade celular e humoral, são dependentes do íon cobre. Estudos indicam que elevados níveis de cobre reduzem o processo oxidativo e a glicólise, o que pode levar à imobilidade e redução de viabilidade dos espermatozoides (33).

Influência do Plasma Seminal na Criopreservação de Espermatozoides Equinos

As técnicas de congelamento de sêmen equino preconizam a retirada do plasma seminal, uma vez que estudos demonstraram efeito deletério sobre a preservação das células espermáticas quando este não é removido do sêmen (4).

Rigby et al. (34) demonstraram que o efeito do plasma seminal sobre a motilidade espermática para alguns ganhos pode ser prejudicial e se torna mais evidente em condições de refrigeração. Animais que apresentavam redução acentuada da motilidade espermática após o processo de refrigeração convencional (5°C/24-48h), demonstraram um aumento na cinética espermática quando há a remoção parcial do plasma seminal antes da refrigeração.

Alghamdi et al. (35) demonstraram que a adição de plasma seminal em concentração reduzida (<5%) melhora a qualidade do sêmen descongelado, ocorrendo o oposto quando houve a remoção total ou adição de altas concentrações (10-30%) de plasma seminal. No entanto, Moore et al. (36) verificaram que a criopreservação de espermatozoides com mais de 80% de plasma seminal não alterou a motilidade espermática.

Diversos trabalhos demonstram que a criopreservação do sêmen aumenta a produção de ROS (espécies reativas ao oxigênio). As ROS induzem dano ao DNA espermático e causam rápida perda do potencial fertilizante dos espermatozoides por meio da peroxidação lipídica da membrana plasmática (37).

Agentes antioxidantes enzimáticos (catalase, superóxido desmutase, glutathione peroxidase) e não enzimáticos (albumina, taurina, hipotaurina, piruvato, ácido ascórbico, tocoferol e ergotionina) são encontrados no plasma seminal, a fim de proteger os espermatozoides do dano celular causado pelo estresse oxidativo (38).

Kankofer et al. (39) investigaram a atividade das enzimas catalase, superóxido dismutase e glutathione peroxidase, em sêmen equino resfriado. Observaram que a preservação do sêmen por 24 horas a 5°C não alterou a atividade enzimática, bem como não aumentou a

lipoperoxidação, sugerindo que a atividade das enzimas inibe a peroxidação dos lipídios da membrana pelas ROS.

Almeida (24) avaliou diferentes concentrações de plasma seminal (0%, 5%, 25% e 50%) na proteção contra o estresse oxidativo e danos aos espermatozóides eqüinos criopreservados, e concluiu que a adição de plasma seminal protege contra a peroxidação lipídica durante a criopreservação. Entretanto, quando utilizado em concentrações acima de 25%, leva a uma redução na viabilidade dos espermatozóides, indicando que baixas concentrações de plasma seminal são essenciais para a manutenção da qualidade espermática.

A criopreservação de espermatozóides eqüinos também está associada ao aumento da fragmentação do DNA, sendo prejudicial à manutenção da integridade do material genético. Um dos motivos pode estar relacionado com a retirada do plasma seminal, que confere proteção aos espermatozóides contra o estresse oxidativo (24, 40). No entanto, Love et al. (41) constataram que a remoção prévia de plasma seminal do sêmen eqüino refrigerado por 24-48 horas conferiu proteção à integridade do DNA espermático. Além disso, danos ao DNA aumentaram à medida que foi adicionado plasma seminal às amostras, sugerindo que substâncias que compõem o plasma seminal são prejudiciais à integridade do DNA espermático.

Estudos relataram que a adição de plasma seminal de garanhões de alta congelabilidade ao sêmen de animais de baixa congelabilidade melhorou a resistência ao processo de congelamento e descongelamento, ocorrendo o oposto quando se adicionou plasma seminal proveniente de garanhões de baixa congelabilidade. Este trabalho demonstrou que a variabilidade individual na composição do plasma seminal é um dos fatores que determinam a congelabilidade do sêmen de garanhões (42).

Apesar da evidente influência do plasma seminal sobre a viabilidade espermática, estudos demonstraram que espermatozóides epididimários são mais resistentes ao processo de criopreservação do que espermatozóides ejaculados (43, 44). Acredita-se que as mudanças no conteúdo e composição dos lipídeos da membrana plasmática que ocorrem no contato dos espermatozóides com o plasma seminal durante a ejaculação conferem maior fluidez à membrana plasmática e, conseqüentemente, menor resistência ao choque térmico (43).

A grande variabilidade dos resultados obtidos com plasma seminal deve-se principalmente à utilização de diferentes métodos de pesquisa. Fatores como diluição, temperatura, tempo, método de centrifugação e variação individual entre garanhões afetam a viabilidade espermática durante o armazenamento (4).

Influência do Plasma Seminal na Fertilidade de Espermatozóides Equinos

O sucesso da reprodução depende de uma cascata de eventos, primeiramente da espermatogênese, que corresponde ao processo de divisão e diferenciação das células espermáticas ainda no testículo. Em seguida, durante o trânsito epididimário e a ejaculação, os espermatozóides entram em contato com diferentes secreções provenientes das glândulas acessórias que promovem importantes mudanças na composição da membrana espermática e nas proteínas de superfície. Na seqüência, os espermatozóides são capacitados durante a passagem pelo trato genital feminino, e sofrem a reação acrossomal, até que um deles seja capaz de penetrar a zona pelúcida e, finalmente, fundir-se com o oócito (45).

Relatos na literatura sobre o perfil eletroforético de proteínas do plasma seminal de equinos indicam que certas proteínas demonstram relação com a fertilidade de espermatozóides equinos. Da mesma forma, estas possuem propriedades biológicas semelhantes à de proteínas do plasma seminal de outros mamíferos que estimulam ou inibem a fertilidade, podendo ser utilizadas como marcadores de fertilidade (4, 46, 47).

Recentemente, Heise et al. (48) verificaram a influência do plasma seminal na fertilidade de espermatozóides epididimários equinos. Constatou-se que a exposição destes

espermatozoides ao plasma seminal aumenta a taxa de concepção quando utilizado a fresco ou congelado. Contudo, Morris et al. (49) não obtiveram resultados similares, onde a adição de plasma seminal aos espermatozoides criopreservados da cauda do epidídimo de garanhões não demonstrou influência sobre os índices de concepção, independente do método de inseminação (histeroscopia ou pipeta flexível).

No entanto, a função das secreções das glândulas anexas durante o processo de fertilização ainda é duvidosa. Muitos estudos têm questionado sua necessidade no processo de fertilização, visto que os espermatozoides do epidídimo são capazes de fertilizar o ócito, ou seja, sem nenhum contato com o produto de secreção destas glândulas (5-7).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O efeito do plasma seminal sobre a congelabilidade e a fertilidade de espermatozoides equinos permanece controverso, já que relatos de literatura são conflitantes. Do mesmo modo, comparações diretas entre os vários estudos tornam-se difíceis, devido à grande variabilidade individual com relação à composição do plasma seminal e a utilização de diferentes métodos de pesquisa, como taxa de diluição, temperatura, tempo ou método de centrifugação.

O estudo do perfil bioquímico e proteico do plasma seminal permite o isolamento e caracterização de substâncias correlacionadas positivamente com a criopreservação e a fertilidade do sêmen de garanhões, possibilitando o aprimoramento das técnicas de armazenamento de espermatozoides equinos e a identificação segura e precoce de animais férteis em relação àqueles subférteis.

Novas pesquisas devem ser realizadas no intuito de ampliar os conhecimentos sobre a influência dos componentes do plasma seminal na célula espermática e se este é essencial durante o processo de fertilização, visto que foi comprovado que os espermatozoides recuperados da cauda do epidídimo são capazes de fertilizar o ócito, ou seja, sem nenhum contato com o produto de secreção das glândulas anexas.

REFERÊNCIAS

1. Pimentel CA. Aspectos da patologia espermática e a fertilidade no garanhão. In: Anais do Congresso Brasileiro de Reprodução Animal; 1989, Belo Horizonte. Belo Horizonte: CBRA; 1989. v.8, p.127-32.
2. Elzanaty S, Richthoff J, Malm J, Giwercman A. The impact of epididymal and accessory sex gland function on sperm motility. *Hum Reprod.* 2002;17:2904-11.
3. Troedsson MHT, Desvousges AS, Alghamdi AS, Dahms B, Dow CA, Hayna J, et al. Components in seminal plasma regulating sperm transport and elimination. *Anim Reprod Sci.* 2005;89:171-86.
4. Kareskoski M, Katila T. Components of stallion seminal plasma and the effects of seminal plasma on sperm longevity. *Anim Reprod Sci.* 2008;107:249-56.
5. Papa FO, Melo CM, Fioratti EG, Dell'Aqua Junior JA, Zahn FS, Alvarenga MA. Freezing of stallion epididymal sperm. *Anim Reprod Sci.* 2008;107:293-301.
6. Guasti PN. Efeito do meio diluidor e da dose inseminante sobre a congelabilidade e fertilidade de espermatozoides colhidos da cauda do epidídimo [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2010.

7. Monteiro GA. Criopreservação e fertilidade de espermatozoides recuperados da cauda do epidídimo [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2010.
8. Barth AD, Oko RJ. Abnormal morphology of bovine spermatozoa. Iowa: Iowa State University Press; 1989.
9. Dacheux JL, Gatti JL, Dacheux F. Contribution of epididymal secretory proteins for spermatozoa maturation. *Microsc Res Tech.* 2003;61:7-17.
10. Gatti JL, Castella S, Dacheux F, Ecroyd H, Metayer S, Thimon V, et al. Post-testicular sperm environment and fertility. *Anim Reprod Sci.* 2004;82-83:321-39.
11. Wite RG. Secreções do trato reprodutivo masculino e plasma seminal. In: Hafez ESE. *Reprodução animal.* 4a ed. São Paulo: Manole; 1988. p.212-28.
12. Amann RP, Graham JK. Spermatozoal function. In: Mckinnon AO, Voss JL. *Equine reproduction.* Philadelphia: Saunders; 1993. p.715-45.
13. Varner DD, Blanchard TL, Love CL, Garcia MC, Kenney RM. Effects of semen fractionation and dilution ratio on equine spermatozoal motility parameters. *Theriogenology.* 1987;28:709-23.
14. Mcdowell KJ, Little TV, Timoney PJ, Adams MH. Characterization of proteins in the seminal plasma of stallions, geldings and geldings supplemented with testosterone. *J Vet Sci.* 1996;61:33-7.
15. Zahn FS. Avaliação dos constituintes bioquímicos e protéicos do plasma seminal e do soro sanguíneo e das proteínas de membrana espermática e sua correlação com a qualidade do sêmen congelado em garanhões [tese]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2006.
16. Marengo SR. Maturing the sperm: unique mechanisms for modifying integral proteins in the sperm plasma membrane. *Anim Reprod Sci.* 2008;105:52-63.
17. Töpfer-Petersen E, Ekhlasi-Hundrieser M, Kirchhoff C, Leeb T, Sieme H. The role of stallion seminal proteins in fertilization. *Anim Reprod Sci.* 2005;89:159-70.
18. Ekhlasi-Hundrieser M, Schafer B, Kirchhof C, Hess O, Bellair S, Müller P, et al. Structural and molecular characterization of equine sperm-binding fibronectin-II module proteins. *Mol Reprod Dev.* 2005;70:45-57.
19. Manjunath P, Thérien I. Role of seminal plasma phospholipid-binding proteins in sperm membrane lipid modification that occurs during capacitation. *J Reprod Immunol.* 2002;53:109-19.
20. Schambony A, Hess O, Gentzel M, Töpfer-Petersen E. Expression of CRISP proteins in the male equine genital tract. *J Reprod Fertil.* 1998;53:67-72.

21. Reinert M, Calvete JJ, Sanz L, Mann K, Töpfer-Petersen E. Primary structure of stallion seminal plasma protein HSP-7, a zona-pellucida-binding protein of the spermadhesin family. *Eur J Biochem.* 1996;242:636-40.
22. Alghamdi AS, Foster DN, Troedsson MHT. Equine seminal plasma binding to polymorphonuclear neutrophils (PMN) and improves the fertility of fresh semen inseminated into inflamed uteri. *Reproduction.* 2004;127:593-600.
23. Lewis SEM, Sterling ESL, Young IS. Comparison of individual antioxidants of sperm and seminal plasma in fertile and infertile men. *Fertil Steril.* 1997;67:142-7.
24. Almeida JL. Efeito de diferentes concentrações de plasma seminal na criopreservação do sêmen equino [dissertação]. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília; 2006.
25. Ball BA, Gravance CG, Medina V, Baumber J, Liu IK. Catalase activity in equine semen. *Am J Vet Res.* 2000;61:1026-69.
26. Colenbrander B, Fazelli AR, Van Buiten A, Parlevliet J, Gadella BM. Assessment of sperm cell membrane integrity in the horse. *Acta Vet Scand.* 1992;88:49-58.
27. Turner RMO, McDonnell SM. Alkaline phosphatase in stallion semen: characterization and clinical applications. *Theriogenology.* 2003;60:1-10.
28. Hess RA. Estrogen in the adult male reproductive tract: a review. *Reprod Biol Endocrinol.* 2003;1:52.
29. Claus R, Ellendorf F, Hoang-Vu C. Spontaneous electromyographic activity throughout the cycle in the sow and its change by intrauterine oestrogen infusion during oestrus. *J Reprod Fertil.* 1989;87:543-51.
30. Rodriguez-Martinez H, Einarsson S. Influence of prostaglandins on the spontaneous motility of pig oviducts. *Anim Reprod Sci.* 1985;8:259-79.
31. Wong WY, Flik G, Groenen PMW, Swinkles DW, Thomas CMG, Copius-Peereboom JHJ, et al. The impact of calcium, magnesium, zinc, and copper in blood and seminal plasma on semen parameters in men. *Reprod Toxicol.* 2001;15:131-6.
32. Barrier-Battut I, Delajarrad H, Legrand E, Bruyas JF, Fiéni F, Tainturier D, et al. Calcium, magnesium, copper and zinc in seminal plasma of fertile stallions, and their relationship with semen freezability. *Theriogenology.* 2002;58:229-32.
33. Leonard-Marek S. Influence of drugs, pollution and trace elements on male fertility. In: Busch W, Holzmann A. *Andrology in veterinary medicine.* Schattauer: Stuttgart; 2001. p.474-81.
34. Rigby SL, Brinsko SP, Cochran M, Blanchard TL, Love CC, Varner DD. Advances in cooled semen technologies: seminal plasma and semen extender. *Theriogenology.* 2001;68:171-80.

35. Alghamdi AS, Troedsson MH, Xue JL, Crabo BG. Effect of seminal plasma concentration and various extenders on post-thaw motility and glass wool-Sephadex filtration of cryopreserved stallion semen. *Am J Vet Res.* 2002;63:880-5.
36. Moore AI, Squires EL, Graham JK. Effect of seminal plasma on the cryopreservation of equine spermatozoa. *Theriogenology.* 2005;63:2372-81.
37. Ball BA, Vo AT, Baumber J. Generation of reactive species by equine spermatozoa. *Am J Vet Res.* 2001;62:508-15.
38. Bustamante Filho IC. Estresse oxidativo na criopreservação do sêmen equino [dissertação]. Porto Alegre: Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2006.
39. Kankofer M, Kolm G, Aurich J, Aurich C. Activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase and lipid peroxidation intensity in stallion semen during storage at 50C. *Theriogenology.* 2005;63:1354-65.
40. Baumber J, Ball BA, Linfor JJ, Meyers SA. Reactive oxygen species and cryopreservation promote DNA fragmentation in equine spermatozoa. *J Androl.* 2003; 24:621-8.
41. Love CC, Brinsko SP, Rigby SL, Thompson JA, Blanchard TL, Varner DD. Relationship of seminal plasma level and extender type to sperm motility and DNA integrity. *Theriogenology.* 2005;63:1584-91.
42. Aurich JE, Kühne A, Hoppe H, Aurich C. Seminal plasma affects membrane integrity and motility of equine spermatozoa after cryopreservation. *Theriogenology.* 1996; 46:791-7.
43. Johnson L, Amann RP, Pickett BW. Maturation of equine epididymal spermatozoa. *Am J Vet Res.* 1980;41:1190-6.
44. Monteiro GA, Papa FO, Guasti PN, Freitas NPP, Melo CM, Avanzi BR, et al. Fertilidade de espermatozoides recuperados da cauda do epidídimo de garanhões subfêrteis. *Vet Zootec.* 2011;18:255-63.
45. Leeb T, Sieme H, Töpfer-Petersen E. Genetic markers for stallion fertility – lessons from humans and mice. *Anim Reprod Sci.* 2005;89:21-9.
46. Brandon CI, Heusner GL, Caudle AB, Fayer-Hosken. Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis of equine seminal plasma proteins and their correlation with fertility. *Theriogenology.* 1999;52:863-73.
47. Novak S, Smith TA, Paradis F, Burwash L, Dyck MK, Foxcroft GR, et al. Biomarkers of in vivo fertility in sperm and seminal plasma of fertile stallions. *Theriogenology.* 2010;74:956-67.
48. Heise A, Kahn W, Volkmann DH, Thompson PN, Gerber D. Influence of seminal plasma on fertility of fresh and frozen-thawed stallion epididymal spermatozoa. *Anim Reprod Sci.* 2010;118:48-53..

49. Morris L, Tiplady C, Allen WR. The in vivo fertility of cauda epididymal spermatozoa in the horse. Theriogenology. 2002;58:643-6.

Recebido em: 02/08/11

Aceito em: 26/04/12

CONTRIBUIÇÃO DA ULTRASSONOGRAFIA PARA O DIAGNÓSTICO DA DISPLASIA RENAL EM CÃES

Viviam Rocco Babicsak¹
Karen Maciel Zardo¹
Débora Rodrigues dos Santos¹
Alexandra Frey Belotta¹
Hugo Salvador Oliveira¹
Maria Jaqueline Mamprim²
Vânia Maria de Vasconcelos Machado²
Luiz Carlos Vulcano²

RESUMO

A displasia renal é uma doença congênita causadora de nefropatia crônica em indivíduos jovens, cujo diagnóstico se dá por do exame histopatológico. A ultrassonografia é um método complementar que pode auxiliar na identificação de alterações renais. Neste relato descrevemos os aspectos ultrassonográficos renais de três cães com displasia renal.

Palavras-chave: ultrassonografia, displasia renal, canino.

ULTRASONOGRAPHIC CONTRIBUTION TO THE DIAGNOSIS OF RENAL DYSPLASIA IN DOGS

ABSTRACT

Renal dysplasia is a congenital disease that causes chronic kidney disease in young individuals, whose diagnosis is made through histopathological examination. Ultrasound is a complementary method that may aid the identification of renal changes. In this report we describe the renal sonographic aspects of three dogs with renal dysplasia.

Keywords: ultrasound, renal dysplasia, canine.

CONTRIBUCIÓN DE LA ECOGRAFÍA PARA EL DIAGNÓSTICO DE DISPLASIA RENAL EN PERROS

RESUMEN

La displasia renal es una enfermedad congénita que causa una nefropatía crónica en animales jóvenes y cuyo diagnóstico se realiza mediante el examen histopatológico. La ecografía es un método complementar que puede ayudar en la identificación de las alteraciones sonográficas renales. En este informe se describen los aspectos ecográficos de los riñones de tres cánidos con displasia renal.

Palabras clave: ecografía, displasia renal, canino.

¹ Pós-graduando do setor de Diagnóstico por Imagem - FMVZ - UNESP/Botucatu, SP, Brasil. viviam.babicsak@gmail.com. Autor para correspondência.

² Docente do setor de Diagnóstico por Imagem - FMVZ - UNESP/Botucatu, SP, Brasil. Endereço: Distrito de Rubião Júnior s/n; CEP 18.618-180; Botucatu/São Paulo

INTRODUÇÃO

A displasia renal é uma doença caracterizada por um desenvolvimento desorganizado do parênquima renal como resultado de uma anormalidade na nefrogênese (1). Essa enfermidade pode ter origem hereditária ou adquirida, sendo a obstrução ureteral intrauterina, a infecção neonatal por herpesvirus e os agentes teratogênicos, os seus possíveis causadores (2,3). Essa afecção, que evolui para uma nefropatia crônica em animais jovens, já foi diagnosticada em diversas raças, incluindo cairn terriers (1), lhasa apso, shih tzu, poodle, chow chow, schnauzer miniatura (4), cocker spaniel (5), bull mastiff (6), finnish harriers, boxer (7), entre outros.

Os animais acometidos por essa enfermidade geralmente começam a apresentar os sinais clínicos de nefropatia entre um e dois anos de idade. Anorexia, letargia, perda de peso, poliúria, polidipsia e êmese são os sinais clínicos mais observados nesses indivíduos, que geralmente apresentam desidratação, ulceração oral, halitose e palidez de mucosas, ao exame físico. Os exames laboratoriais comumente indicam azotemia, hiperfosfatemia, isostenúria e anemia arregenerativa (4).

O diagnóstico dessa enfermidade é realizado por meio da identificação de glomérulos imaturos ou fetais, hiperplasia ou proliferação adenomatóide dos ductos coletores medulares e mesenquima persistente na medula renal no exame histopatológico (2). No entanto, a ultrassonografia, por permitir a avaliação do tamanho, formato e arquitetura interna renal, pode sugerir a existência dessa nefropatia assim como, determinar o prognóstico do paciente (8). Neste estudo descrevemos os achados ultrassonográficos renais de três cães com displasia renal.

RELATO DE CASO

Caso 1

O primeiro caso de displasia renal trata-se de um animal macho da raça doberman pinscher de dois anos cujo exame ultrassonográfico revelou a existência de rins com dimensões diminuídas e margens irregulares. Ausência de arquitetura normal renal e elevação generalizada da sua ecogenicidade foram visibilizadas no exame ultrassonográfico. Além disso, pela ultrassonografia também foi possível observar imagens hiperecogênicas focais, formadoras de sombra acústica, localizadas em região média da face ventral renal bilateral (mineralizações). (Figura 1)

Caso 2

O segundo caso refere-se a um cão macho de um ano da raça lhasa apso. A ultrassonografia revelou a presença de rins com dimensões diminuídas, contornos irregulares e perda da arquitetura renal. Bilateralmente, em região cortical renal foi observada uma ecotextura grosseira hiperecogênica e em região subcapsular, discreta coleção de líquido livre. Além dessas alterações, foram observadas algumas áreas hiperecogênicas formadoras de discreta sombra acústica em córtex renal direita (mineralizações) e áreas circulares circunscritas com conteúdo anecogênico formador de reforço acústico posterior, medindo 0,29 centímetros de diâmetro, na mesma região renal bilateral, sendo mais evidente no rim esquerdo (áreas císticas). (Figura 2)

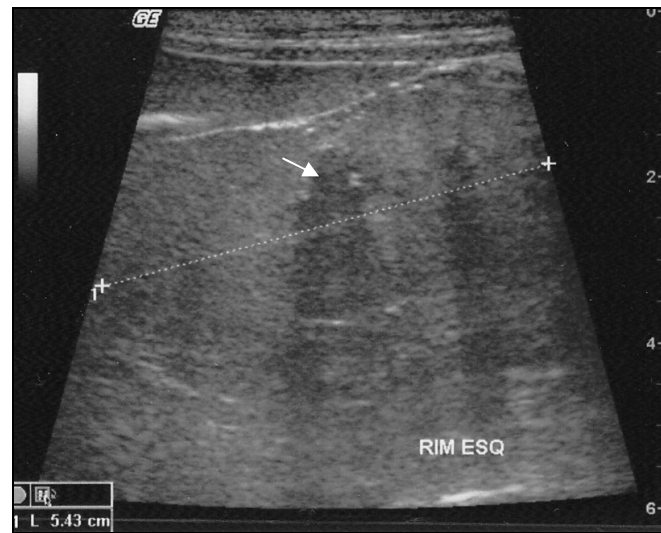


Figura 1. Imagem ultrassonográfica do rim esquerdo do cão um, demonstrando a perda da arquitetura renal e a presença de formações de sombra acústica decorrente de mineralizações (seta).

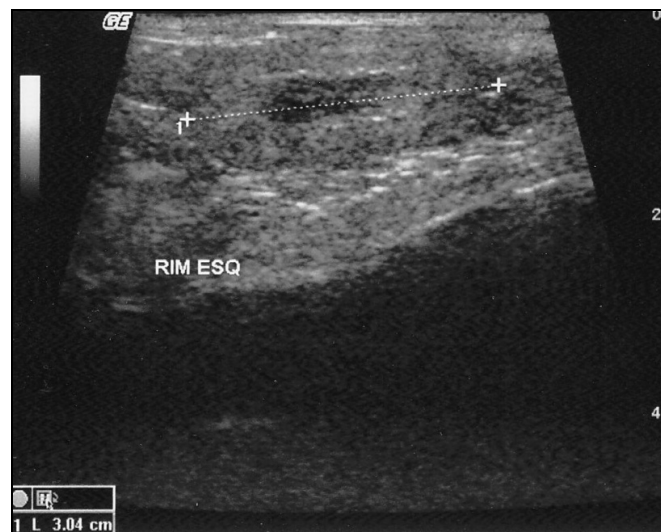


Figura 2. Imagem ultrassonográfica do rim esquerdo do cão dois ilustrando a perda da arquitetura renal.

Caso 3

O terceiro caso foi diagnosticado em uma fêmea da raça lhasa apso de nove meses, a ultrassonografia revelou rins com dimensões diminuídas, contornos pouco definidos e irregulares, e perda total de relações e delimitações corticomedulares. Além disso, foi constatado também um aumento de ecogenicidade generalizado do parênquima renal. Algumas áreas circulares circunscritas apresentando conteúdo anecogênico, medindo aproximadamente 0,54 cm de diâmetro, com reforço acústico posterior, foram observadas em pólo cranial de ambos os rins (cistos renais). Mineralizações no parênquima renal direito também foram identificadas. (Figura 3)

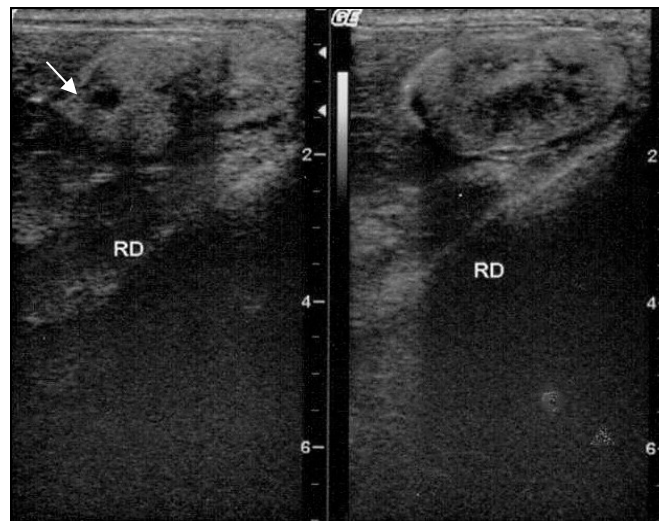


Figura 3. Imagem ultrassonográfica do rim displásico direito do cão três, demonstrando a presença de uma área cística (seta).

DISCUSSÃO

Os aspectos ultrassonográficos renais de cães com displasia, relatados em estudos prévios incluem uma diversidade de características, dependendo do grau de comprometimento renal pelos processos inflamatório e fibrótico, que se instalam nessas estruturas em consequência à afecção primária. Em estudo, em que se avaliaram os aspectos ultrassonográficos de animais assintomáticos da raça cairn terriers, foi constatada uma perda de definição corticomedular e uma hiperecogenicidade cortical associada a uma elevação generalizada da ecogenicidade medular renal ou a presença de algumas áreas hiperecogênicas multifocais. Como o estudo foi realizado em animais ainda não sintomáticos, os autores sugerem que as alterações ultrassonográficas renais referem-se às imagens de rins com displasia renal isoladamente, ou seja, sem o desenvolvimento de processo fibrótico (1).

No estudo de Felkai et al. (5), no qual foram avaliados os achados ultrassonográficos de sete cães sintomáticos da raça cocker spaniel com displasia renal, um adelgaçamento da córtex renal também foi observado. No entanto, não foram identificadas alterações medulares, como as relatadas por Seiler et al. (1). Uma diminuição das dimensões de seu parênquima também foi observada por Felkai et al. (5), contrastando com Seiler et al. (1), que não identificaram alterações dimensionais.

Nos casos mais avançados, em que já há o desenvolvimento de fibrose, os aspectos ultrassonográficos renais incluem irregularidade de margens e hiperecogenicidade do parênquima renal com acentuada perda de definição corticomedular (6,8). Além disso, os rins, que comumente se encontram com as suas dimensões diminuídas, também podem apresentar uma diminuição na espessura da região medular (7).

Os pacientes aqui relatados apresentaram semelhante aparência ultrassonográfica renal, sendo observada irregularidade de suas margens, perda de relações e delimitações corticomedulares, e elevação generalizada de sua ecogenicidade. Em todos os animais foram visibilizadas mineralizações no parênquima renal. Nos animais dois e três, também foram observados cistos renais, identificados ultrassonograficamente como áreas de limites definidos e regulares, apresentando conteúdo anecogênico em seu interior com formação de reforço acústico posterior. Além disso, um fluido subcapsular foi identificado no animal dois. Os achados ultrassonográficos renais dos três cães indicam um grau severo de doença renal, e consequentemente, um prognóstico desfavorável aos mesmos.

Apesar da ultrassonografia não ser o método de eleição para o diagnóstico da displasia renal, a sua realização é indicada em casos de nefropatias, uma vez que, o ultrassom auxilia na determinação do grau de comprometimento renal, e conseqüentemente, do prognóstico do paciente.

REFERÊNCIAS

1. Seiler GS, Rhodes J, Cianciolo R, Casal ML. Ultrasonographic findings in Cairn Terriers with preclinical renal dysplasia. *Vet Radiol Ultrasound*. 2010;51:453-7.
2. Maxie MG. The urinary system. In: Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. *Pathology of the domesticated animals*. 4th ed. San Diego: Academic Press; 1993. p.447-538.
3. Matsell DG, Mok A, Tarantal AF. Altered primate glomerular development due to in utero urinary tract obstruction. *Kidney Int*. 2002;61:1263-9.
4. DiBartola SP. Familial renal disease in dogs and cats. In: Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of veterinary internal medicine*. 6th ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2005. p.1819-24.
5. Felkai C, Vörös K, Vrabély T, Vetési F, Karsai F, Papp L. Ultrasonographic findings of renal dysplasia in cocker spaniels: eight cases. *Acta Vet Hung*. 1997;45:397-408.
6. Abraham LA, Beck C, Slocombe RF. Renal dysplasia and urinary tract infection in a Bull Mastiff puppy. *Aust Vet J*. 2003;81:336-9.
7. Hoppe A, Karlstam E. Renal dysplasia in boxers and finnish harriers. *J Small Anim Pract*. 2000;41:422-6.
8. Nyland TG, Mattoon JS, Herrgesell EJ, Wisner ER. Trato urinário. In: Nyland TG, Mattoon JS. *Ultra-som diagnóstico em pequenos animais*. 4º ed. São Paulo: Roca; 2004. p.166-75.

Recebido em: 16/01/12

Aceito em: 19/04/12

CYTOLOGIC DIAGNOSIS AND TREATMENT OF FELINE SPOROTRICHOSIS: CASE REPORT

Didier Quevedo Cagnini^{1*}
Marcela Marcondes Pinto Rodrigues¹
Mariana Isa Poci Palumbo¹
Marta Cristina Thomas Heckler¹
Anaiara Silgueiro Peixoto²
Renée Laufer Amorim³
Luiz Henrique de Araújo Machado²

ABSTRACT

Sporotrichosis is a mycotic disease of humans and animals caused by a dimorphic fungus called *Sporothrix schenckii*. Domestic animals, particularly cats, play an important role for human infections. The diagnosis of sporotrichosis can be made by using cytologic and histopathologic examination, culturing the fungus, immunofluorescence or molecular methods. This paper describes the cytologic diagnosis by fine-needle aspiration and treatment of a case of feline sporotrichosis.

Keywords: sporotrichosis, *Sporothrix schenckii*, fine-needle aspiration cytology, feline, zoonosis.

DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO E TRATAMENTO DA ESPOROTRICOSE FELINA: RELATO DE CASO

RESUMO

A esporotricose é uma micose de humanos e animais, causada por um fungo dimórfico chamado *Sporothrix schenckii*. Os animais domésticos, particularmente os gatos, são importantes fontes de infecção para humanos. O diagnóstico da esporotricose pode ser realizado com o uso de exames citológicos e histopatológicos, isolamento fúngico, imunofluorescência ou por métodos moleculares. O presente trabalho relata o diagnóstico citológico com agulha fina e o tratamento de esporotricose em um felino.

Palavras-chave: esporotricose, *Sporothrix schenckii*, citologia aspirativa por agulha fina, felinos, zoonose.

DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO Y TRATAMIENTO DE LA ESPOROTRICHOSIS FELINA: CASO CLÍNICO

RESUMEN

La esporotricosis es una enfermedad micótica que afecta a los humanos y a los animales provocada por el hongo dimórfico *Sporothrix schenckii*. La infección es usualmente

¹ Pós-graduandos do Departamento de Clínica Veterinária, FMVZ/UNESP-Botucatu. Distrito de Rubião Jr. S/N. Botucatu, CEP 18618-000-SP, Brasil. Telefone: (14) 8170-6918, didiercagnini@yahoo.com.br

² Médica Veterinária, PUC Minas, Campus Poços de Caldas.

³ Prof. Ass. Dr. do Depto. de Clínica Veterinária – FMVZ – UNESP, Botucatu. Distrito de Rubião Jr. S/N. Botucatu, CEP 18618-000-SP, Brasil.

*Autor para correspondência

provocada por la inoculación traumática con tierra, plantas y materia orgánica contaminada por el hongo. Los animales domésticos, en particular los gatos, son fuentes importantes de transmisión para el hombre. El diagnóstico de esporotricosis puede ser realizado mediante el examen citológico y histopatológico, aislamiento del hongo, inmunofluorescencia y métodos moleculares. En este trabajo, se reporta el diagnóstico por medio de citología por aspiración con aguja fina así como el tratamiento de un caso de la esporotricosis felina.

Palabras clave: esporotricosis, *Sporothrix schenckii*, citología por aspiración con aguja fina, felino, zoonosis.

INTRODUCTION

Sporotrichosis is a chronic, primary skin and subcutaneous tissue disease caused by the dimorphic fungus, *Sporothrix schenckii*. The microorganism is a saprophyte which is found in soil and decomposing organic matter (1). Other *Sporothrix* species, however, have been reported as agents of sporotrichosis (2). In general, infections are due to contamination of puncture wounds, however they may also occur, rarely, through inhalation of the agent (1). Feline sporotrichosis has been reported in the literature because of its continuing importance as a source of infections for humans, particularly for veterinarians and animal owners. In cats, sporotrichosis causes ulcerative lesions in the head, face, ears, nails, forelimbs and hindlimbs (3). Ascending lymphangitis may arise from the primary wound site but rarely spreads to other organs (1).

Outbreaks in USA and Australia have been linked to contact with plant material (4). The largest outbreak of human sporotrichosis by zoonotic transmission was described in Rio de Janeiro (5). Between 1998 and 2004, at the Institute of Clinical Research Evandro Chagas, Fiocruz, 1503 cats, 64 dogs and 759 humans were diagnosed with sporotrichosis through isolation of the microorganism in culture (6, 7).

Clinical signs in dogs and cats with sporotrichosis are similar to those found in deep bacterial skin infections and in other fungal skin infections. The clinician should suspect sporotrichosis or another fungal infection if antibiotic therapy for cellulitis or deep pyoderma results in minimal or partial improvement (8). The diagnosis using fine needle aspirate cytology and treatment of a case of feline sporotrichosis is described in this paper.

CASE REPORT

A 2-year-old, male, neutered, domestic short hair cat from (Poços de Caldas/MG) without others contactants at home, but with free access to the street, was examined in cooperation by Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais and School of Veterinary Medicine and Animal Science (Unesp/Botucatu). At the time of examination, the animal was presenting an ulcerative, erythematous lesion, with serosanguineous exudate, measuring four centimeters in diameter in the right periocular region (Figure 1). The lesion evolved over 15 days and the owner did not report previous injury or pruritus. Physical examination did not evidence any systemic alterations, except reported hyporexia. Complete blood count, biochemical profile and urinalysis were within normal limits and serum was not tested for viral diseases. Samples were collected by fine-needle aspiration, placed on a slide and stained with Giemsa (Romanowsky). Cytopathologic examination revealed large amounts of oval to elongate, occasionally cigar-shaped, yeast cells, measuring 3 to 5 μm , inside or outside macrophages, which were consistent with *Sporothrix schenckii* (Figure 2). It was also observed an inflammatory process composed by neutrophils, lymphocytes, plasma cells and macrophages. After the diagnosis, treatment with itraconazol (10 mg/kg SID) was initiated and the animal was monitored through return visits at 13 and 30 days into treatment.

Progressive improvement of dermatological features was observed and therapy was discontinued 30 days after complete remission of clinical signs (Figure 3), which in this case occurred after six months of treatment.



Figure 1. Presence of an ulcerative, erythematous lesion, with serosanguineous exudate in the right periocular region.

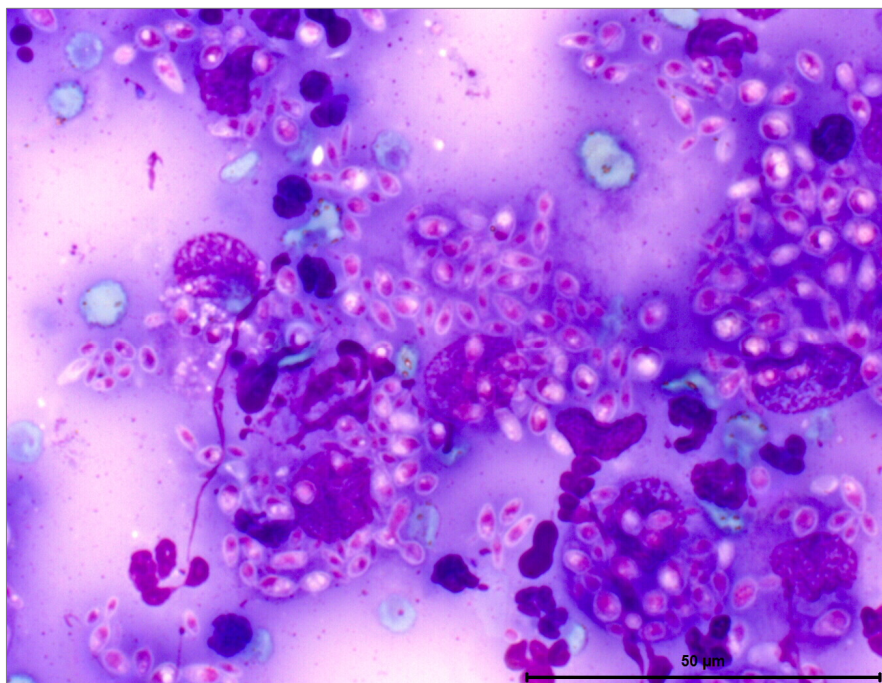


Figure 2. Large amounts of oval to elongate microorganisms, occasionally cigar-shaped, mainly within macrophages, consistent with *Sporothrix schenckii* (Giemsa staining, 100x).



Figure 3. Clinical improvement of the periocular lesion 30 days after the beginning of treatment with itraconazole.

DISCUSSION AND CONCLUSION

Cytopathologic examination of skin lesions has been an excellent diagnostic tool, not only because of its low cost, but also because it is less invasive, safer and produces accurate results equal to or greater than histopathology for the identification of microorganisms and certain neoplasias (3, 9). Its effectiveness was proven in some studies by comparing this technique with histopathologic diagnosis of neoplasia where they found a diagnostic correlation of 86.6% of cases (10).

The finding of a great number of yeasts in lesions and exudates is a markedly feature in feline sporotrichosis, while in other species it has been observed few numbers of organism. Due to the distinct cytological features of *S. schenkii*, feline sporotrichosis may also be diagnosed through cytological evaluation of samples aspirated and swab imprinting of lesions (11).

Feline sporotrichosis has been described as an important source for human infection, specially veterinarians and owners (12). Veterinarians should advise owners for the zoonotic potential of cutaneous sporotrichosis and they should take care when handling cats with cutaneous lesions (13). Besides, veterinarians should also be aware that health cats may play important role on sporotrichosis epidemiology, since the fungus can be recovered from nails, nasal and oral mucosa of health cats, mainly those who have free access to environment (14).

Cats are susceptible to side effects of iodides and ketoconazole and it represents a major challenge for treatment of feline sporotrichosis (15). In dogs, the treatment of choice is oral administration of a supersaturated solution of potassium iodide at a dose of 20 mg/kg SID or BID, with food, continuing until 30 days after clinical recovery (8). Ketoconazole or itraconazole should be used in those animals that do not tolerate, like cats, or do not respond to iodides (9). In this report itraconazole was used and recovery occurred within six months.

In conclusion, the technique of fine-needle aspiration herein employed is consistent with previous ones described in literature and represents a non-invasive, quick and low cost approach to diagnose feline sporotrichosis. Since the diagnosis was performed, the animal

started treatment and remission of clinical signs were observed after six months, other feature that confirms the etiology of this case.

REFERENCES

1. Ginn PE, Mansell JEKL, Rakich PM. Skin and appendages. In: Maxie MG, Kenneth VF, Kennedy PC, Palmer NC. Jubb Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals. Edinburgh: Elsevier Saunders; 2007. p.703-4.
2. Oliveira MME, Almeida-Paes R, Muniz MM, Barros MBL, Galhardo MCG, Zancop-Oliveira RM. Sporotrichosis caused by *Sporothrix globosa* in Rio de Janeiro, Brazil: case report. *Mycopathologia*. 2010;169:359-63.
3. Rosser EJ, Dunstan RW. In: Greene CE. Infectious diseases of the dog and cat. 2nd ed. St Louis: Saunders Elsevier; 1998. p.399-401.
4. Feeney KT, Arthur IH, Whittle AJ, Altman SA, Speers DJ. Outbreak of Sporotrichosis, Western Australia. *Emerg Infect Dis*. 2007;8:1228-31.
5. Schubach A, Barrosa MBL, Wanke B. Epidemic sporotrichosis. *Curr Opin Infect Dis*. 2008;21:129-33.
6. Barros MB, Schubach TMP, Galhardo MCG, Schubach AO, Monteiro PCF, Reis RS, et al. Sporotrichosis an emergent zoonosis in Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2001;96:777-9.
7. De Lima Barros MB, Schubach TM, Galhardo MC, Oliveira Schubach A, Monteiro PC, Reis RS, et al. Cat-transmitted Sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases. *Clin Infect Dis*. 2004;38:529-35.
8. Schubach TM, Schubach A, Okamoto T, Barros MB, Figueiredo FB, Cuzzi T, et al. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998-2001). *J Am Vet Med Assoc*. 2004;224:1623-9.
9. Rocha NS. Exame citológico no diagnóstico de lesões da pele e subcutâneo. *Clin Vet*. 2008;76:76-80.
10. Magalhães AM, Ramadinha RR, Barros CSL, Peixoto PV. Estudo comparativo entre citopatologia e histopatologia no diagnóstico de neoplasias caninas. *Pesqui Vet Bras*. 2001;21:23-32.
11. Welsh RD. Sporotrichosis. *J Am Vet Med Assoc*. 2003;223:1123-6.
12. Schmitt FC. Citologia aspirativa em doenças infecciosas. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1997;30:177-9.
13. Nobre MO, Castro AP, Caetano D, Souza LL, Meireles MCA, Ferreiro L. Recurrence of sporotrichosis in cats with zoonotic involvement. *Rev Iberoam Micol*. 2001;18: 137-40.
14. Schubach TMP, Schubach AO, Reis RS, Cuzzi-Maya T, Blanco TCM, Monteiro DF, et al. *Sporothrix schenckii* isolated from domestic cats with and without sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Mycopathologia*. 2001;153:83-6.

15. Xu TH, Lin JP, Gao XH, Wei H; Liao W, Chen HD. Identification of *Sporothrix schenckii* of various mtDNA types by nested PCR assay. *Med Mycol.* 2010;48:161-5.

Recebido em: 02/03/11

Aceito em: 10/05/12

PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-*Toxoplasma* EM SERPENTES MANTIDAS EM CATIVEIRO NOS MUNICÍPIOS DE BELÉM E SANTO ANTÔNIO DO TAUÁ, ESTADO DO PARÁ, BRASIL

Patrícia Andréia Santos Oliveira¹
Andre Marcelo Conceição Meneses²
Nazaré Fonseca de Souza³
Monique Araújo Luz¹
Nívia Magalhães da Silva Freitas¹
Carla Cristina Guimarães de Moraes⁴
Rodrigo Costa da Silva⁵
Helio Langoni⁶

RESUMO

A toxoplasmose é uma importante zoonose que acomete diversas espécies de animais, no entanto, o desenvolvimento de estudos sobre infecção em animais selvagens, especialmente em répteis, ainda é pouco difundido. O presente estudo teve como objetivo avaliar a ocorrência de anticorpos específicos para *Toxoplasma gondii* em serpentes não peçonhentas mantidas em cativeiro, nos municípios de Belém e Santo Antônio do Tauá, Estado do Pará, Brasil. Foram utilizadas amostras sanguíneas de 27 serpentes da espécie *Boa constrictor* e avaliadas pelo Método de Aglutinação Direta Modificada (MAD) no diagnóstico laboratorial desta enfermidade. Nenhuma serpente apresentou presença de anticorpos específicos para este protozoário. Estudos adicionais são necessários para determinar a real ocorrência desta zoonose em animais selvagens mantidos em cativeiro no Estado do Pará.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*; diagnóstico; serpentes, *Boa constrictor*, répteis

RESEARCH OF ANTI-*Toxoplasma* ANTIBODIES IN SNAKES KEPT IN CAPTIVITY AT BELEM AND SANTO ANTÔNIO DO TAUÁ, PARÁ STATE, BRAZIL

ABSTRACT

Toxoplasmosis is an important zoonosis that affects several animals species, however, studies of infection in wild animals, especially reptiles, is scarce. This study aimed to evaluate anti-*Toxoplasma gondii* antibodies occurrence in snakes kept in captivity at Belém and Santo Antônio do Tauá, Pará State, Brazil. Twenty-seven (27) *Boa constrictor* blood samples were evaluated by Modified Direct Agglutination Test (MAT). Snakes had no specific antibodies to this protozoan. Additional studies are needed to determine the actual occurrence of this zoonosis in wild animals kept in captivity at Pará State.

Keywords: *Toxoplasma gondii*; diagnosis; snakes, *Boa constrictor*, reptile

¹ Médica Veterinária - Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, Instituto da Saúde e Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia, Av. Presidente Tancredo Neves 2501, Bairro Montese, Belém.PA 66077-530, Brasil. Email: pattysoliveira@hotmail.com, monique.luz@ufra.edu.br e niviasfreitas@hotmail.com

² Professor Adjunto do Instituto da Saúde e Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia, Av. Presidente Tancredo Neves 2501, Bairro Montese, Belém.PA 66077-530, Brasil. Email: andre.meneses@ufra.edu.br

* Fone (91)32105177, HOVET, Av. Presidente Tancredo Neves 2501, Bairro Montese, Belém.PA 66077-530, Brasil

³ Professor Associado do Instituto da Saúde e Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia, Av. Presidente Tancredo Neves 2501, Bairro Montese, Belém.PA 66077-530, Brasil. Email: nazavet@bol.com.br

⁴ Professor Adjunto da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará, Campus de Castanhal, Rua Maximino Porpino da Silva 1000, Pirapora, PA 68740-080. Email: ccmoraes@ufpa.br

⁵ Pós-Doutorando, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, FMVZ/UNESP, Botucatu/SP

⁶ Professor Titular, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, FMVZ/UNESP, Botucatu/SP

PESQUISA DE ANTICUERPOS ANTI-*Toxoplasma* EN SERPIENTES MANTENIDAS EN CAUTIVERIO EN LOS MUNICIPIOS DE BELÉN Y DE SAN ANTONIO TAUÁ, ESTADO DE PARÁ, BRASIL.

RESUMEN

La toxoplasmosis es una zoonosis importante que afecta a varias especies animales, sin embargo, el desarrollo de estudios relacionados con esta infección en animales salvajes, especialmente en reptiles, es poco difundida. Este trabajo tuvo como objetivo detectar anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en serpientes no venenosas en cautiverio en los municipios de Belén y de San Antonio Taua, estado de Pará, Brasil. Se utilizaron muestras de sangre de 27 especies de serpientes *Boa constrictor* que fueron evaluadas a través del Método de Aglutinación Directa Modificada (MAD). Ninguna serpiente mostró la presencia de anticuerpos específicos contra este protozoario. Son necesarios estudios adicionales para determinar la incidencia real de zoonosis en animales silvestres mantenidos en cautiverio en el Estado de Pará.

Palabras clave: *Toxoplasma gondii*; diagnóstico; serpientes, *Boa constrictor*, reptiles

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial, já descrita em uma grande variedade de animais como suínos, caprinos, aves, animais silvestres, cães e gatos, bem como o homem (1). Os felídeos são os hospedeiros definitivos ou completos e o homem e outros animais são os intermediários ou incompletos (2).

Na maioria dos casos a infecção é assintomática, porém, em alguns animais, especialmente os imunossuprimidos, poderá ocorrer a doença clínica, sendo a gravidade do quadro dependente do estado imunitário do animal, dose infectante, da existência ou não, de uma co-morbidade (3).

O *Toxoplasma gondii* apresenta três estágios de desenvolvimento: taquizoítos, cistos teciduais (bradizoítos) e oocistos esporulados (esporozoítos) (4) e seu ciclo desenvolve-se em duas fases bem distintas: a fase assexuada, que ocorre nos linfonodos e nos tecidos de vários hospedeiros, e a fase coccidiana ou sexuada, que acontece somente no epitélio intestinal de gatos jovens não imunes (2).

Poucos autores mencionam os répteis como animais susceptíveis ao *T. gondii*. Entretanto, Lainson (5), afirma que experimentos e observações na natureza sugerem que animais pecilotérmicos têm imunidade natural à infecção, não tendo sido ainda provado que abriguem o parasito em condições naturais.

O homem e os animais podem infectar-se, classicamente, pelas seguintes vias: (1) ingestão de oocistos eliminados nas fezes dos felídeos, após esporulação em até um a cinco dias; (2) ingestão de cistos teciduais de hospedeiros intermediários e, (3) por meio da transmissão transplacentária de taquizoítos (6).

As provas sorológicas oferecem diagnóstico mais rápido e seguro da infecção toxoplásmica (7). Estes testes indicam o título de anticorpos circulantes correspondentes à fase da doença (2).

A presente pesquisa teve autorização do Ministério do Meio Ambiente (MMA), Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), Sistema de Autorização e Informações em Biodiversidade (SISBio), sob o número 16457-1.

Foram utilizados 27 animais da espécie *Boa constrictor*, sendo 16 machos e 11 fêmeas. Destes, nove pertenciam ao Parque Zoológico "Museu Paraense Emilio Goeldi" (MPEG), localizado na região metropolitana de Belém (latitude 01° 27' 21" sul e longitude 48° 30' 16"

oeste). As demais serpentes (n=18) eram mantidas no Criatório Comercial “Sítio Xerimbabo”, localizado no município de Santo Antônio do Tauá, Pará (latitude 01°09'07" sul e longitude 48°07'46" oeste).

A colheita de sangue foi realizada por cardiocentese, seguindo técnica descrita por Kolesnikovas et al. (8), no período de janeiro a abril de 2008. Após antissepsia do local de punção, foram colhidos 2mL de sangue, utilizando-se agulha hipodérmica 20 X 0,55 (24G^{3/4}) acoplada a uma seringa de 3mL. O sangue colhido foi vertido em tubos de vidro contendo heparina sódica, centrifugado para separação do soro e aliquoteado em microtubos plásticos com capacidade para 2mL, mantidos sob temperatura de -18 graus centígrados para posterior análise laboratorial.

As amostras foram devidamente acondicionadas em recipiente de polímero expandido contendo gelo, sendo devidamente embaladas e enviadas ao Núcleo de Pesquisas em Zoonoses-NUPEZO, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu/SP, onde foram processadas em julho de 2008.

A técnica utilizada para sorologia de *T. gondii* foi o Método de Aglutinação Direta Modificada (MAD) (9).

Dos 27 animais estudados, todos apresentaram sorologia negativa para a pesquisa de anticorpos anti *T. gondii*, nas condições do presente estudo.

Faz-se necessário destacar que o teste utilizado é considerado sensível e específico e não espécie-específico para detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma*, e por esta razão, pode ser utilizado tanto no diagnóstico de toxoplasmose em humanos como em soros de animais.

A MAD detecta apenas IgG, porque o 2-mercaptoetanol (2ME), utilizado no teste, inativa as IgM específicas e não específicas. No entanto o teste pode ser realizado com a utilização de acetona ou formalina como inativadores dos taquizoítos, permitindo assim diferenciar as IgGs de fase aguda e crônica da infecção (10).

Diversas peculiaridades podem explicar os resultados aqui encontrados, como o fato de que animais pecilotérmicos têm imunidade natural à infecção toxoplásmica, não tendo sido, ainda, comprovado que estes animais possam abrigar o parasito em condições naturais, segundo Lainson (5).

Os resultados obtidos não revelaram a presença de anticorpos específicos anti-*Toxoplasma gondii* nas serpentes estudadas no Pará. Sugere-se a realização de novos estudos incluindo maior número de animais para se avaliar os aspectos epidemiológicos referentes à toxoplasmose em boídeos.

REFERÊNCIAS

1. Martins CS, Viana JA. Toxoplasmose - o que todo profissional de saúde deve saber. Clin Vet. 1998;15:33-7.
2. Kawazoe U. *Toxoplasma gondii*. In: Neves DP. Parasitologia humana. 10ª ed. São Paulo: Atheneu; 2002. p.147-56.
3. Blood DC, Radostits OM. Moléstias protozoal por coccídios não entéricos: toxoplasmose. In: Blood DC, Radostits OM. Clínica veterinária. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1991. p.557-60.
4. Fortes E. Parasitologia veterinária. 4ª ed. São Paulo: Ícone; 2004.
5. Lainson R. The demonstration of *Toxoplasma* in animals, with particular reference to members of the mustelidae. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1957;51:111-7.

6. Tenter AM, Heckerth AR, Weiss LH. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol.* 2000;30:1217-58.
7. Lainson R, Leão RNQ, Crescente JAB. *Toxoplasmose*. In: Leão RNQ. *Doenças infecciosas e parasitárias: enfoque amazônico*. Belém: CEJUP; 1997. p.671-83.
8. Kolesnikovas CKM, Grego KF, Albuquerque LCR. *Ordem Squamata*. In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL. *Tratado de animais selvagens - medicina veterinária*. São Paulo: Roca; 2006. p.58-67.
9. Desmonts G, Remington JS. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: Method for increasing sensitivity and specificity. *J Clin Microbiol.* 1980;11:562-8.
10. Wilson M, Ware D, Juranek D. Serologic aspects of toxoplasmosis. *J Am Vet Med Assoc.* 1990;196:277-81.

Recebido em: 07/11/11

Aceito em: 22/05/12

ACHADOS CLÍNICOS DE BOVINOS COM ÚLCERA DE ABOMASO

Alonso P. Silva Filho¹
José Augusto B. Afonso²
José Cláudio de A. Souza³
Alexandre C. Dantas²
Nivaldo de A. Costa²
Carla L. Mendonça²

RESUMO

Avaliou-se a ocorrência de úlcera de abomaso em bovinos atendidos na rotina da Clínica de Bovinos de Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CBG-UFRPE) e descrever os principais achados clínicos observados. Esta enfermidade é a causa mais comum de hemorragias gastrintestinais proximal em bovinos, podendo resultar em perfuração e peritonite focal ou difusa, com morte súbita. Para este estudo utilizaram-se dados epizootiológicos, exames clínico-laboratoriais e anatomopatológicos obtidos das fichas clínicas de oito bovinos e laudos de necropsia dos seis óbitos com úlcera de abomaso. Esta enfermidade se faz presente na rotina clínica dos ruminantes representando 1% dos distúrbios digestivos na CBG-UFRPE, como causa primária. Em quatro bovinos observou-se úlcera perfurante com peritonite difusa (tipo IV), em um animal havia peritonite focal (tipo III), e três bovinos apresentaram úlceras hemorrágicas (tipo II), sendo que dois receberam alta, e um veio a óbito. Os principais sinais clínicos foram: apatia, diminuição da produtividade e moderado grau de desidratação. O apetite estava caprichoso ou ausente em 87,5% dos casos, o rúmen, abomaso e intestino com hipomotilidade e as fezes em pouca quantidade, pastosa com muco e de coloração enegrecida. Na avaliação hematológica, constatou hiperfibrinogenia (\bar{x} 888 mg/dL), leucocitose (\bar{x} 20.081/ μ L), com linfocitose (\bar{x} 8.867/ μ L), além de neutrofilia (\bar{x} 10.393/ μ L) com desvio a esquerda. Na mucosa abomasal observaram-se diversos pontos de hemorragias petequiais e sufusões, além de grande quantidade de líquido enegrecido, coágulos, edema, inflamação, úlceras multifocais de tamanhos variados, profundas na mucosa, cobertas com tecido necrosado, algumas recentes e outras crônicas e cicatrizadas. Contudo a adoção de práticas de manejo alimentar de forma correta é fundamental para prevenir a ocorrência desta enfermidade.

Palavras-chave: peritonite, melena, abomasite, hemorragias

CLINICAL FINDINGS OF CATTLE WITH ABOMASAL ULCER

ABSTRACT

The objective was to report the occurrence of abomasal ulcers in cattle treated at the Bovine Clinic of Garanhuns Federal Rural University of Pernambuco (CBG-UFRPE), and describe the major clinical findings observed. This disease is the most common cause of gastrointestinal bleeding in cattle, and proximal perforation may result in focal or diffuse peritonitis and sudden death. For this study we used epizootiological and clinical data, laboratory and pathological findings of the clinical records of eight cattle, and autopsy

¹ Mestrando do programa de Ciências Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, Av. Bom Pastor, S/N, Clínica de Bovinos, Caixa postal 152. CEP. 55.292 - 270. Tel: (87) 3761 - 3233. E-mail: alonsopsfilho@yahoo.com.br (Endereço para correspondência).

² Médico Veterinário da Clínica de Bovinos, Campus - Garanhuns / UFRPE, Av. Bom Pastor, CEP 55.292 - 901.

³ Professor adjunto da Unidade Acadêmica de Garanhuns - UFRPE, Av. Bom Pastor, CEP 55.292 - 901.

findings of the six deaths with abomasal ulcer. This disease accounts for 1% of digestive disorders in ruminants at the CBG-UFRPE. In four cattle there was a perforating ulcer with diffuse peritonitis (type IV), one animal developed focal peritonitis (type III), and three cattle developed bleeding ulcers (type II), of which two were discharged and died. The main clinical signs were: listlessness, decreased productivity and moderate degree of dehydration. The appetite was capricious or absent in 87.5% of cases, the rumen, abomasum and intestine presented hypomotility, and feces were in small amounts, sticky with mucus and blackish in color. Hematological evaluation noted a hyperfibrinogenemia (\bar{x} = 888 mg / dL), a leukocytosis (\bar{x} = 20.081/ μ L) with lymphocytosis (\bar{x} = 8.867/ μ L), and a neutrophilia (\bar{x} = 10.393/ μ L) with a left shift. Various parts of the abomasal mucosa, presented petechial hemorrhages and suffusion, and a large quantity of blackened liquid, blood clots, swelling, inflammation, multifocal ulcers of varying sizes deep in the mucosa covered with necrotic tissue, some recent and some chronic and healed. The adoption of proper sanitation practices associated with appropriate food supplementation is essential to prevent the occurrence of this disease.

Keywords: peritonitis, melena, abomasite, bleeding

HALLAZGOS CLÍNICOS EN BOVINOS CON ÚLCERA ABOMASO

RESUMEN

El objetivo de este trabajo es reportar la presencia de úlceras de abomaso en bovinos tratados en la Clínica de Garanhuns de la Universidad Federal Rural de Pernambuco (CBG-UFRPE) y describir los principales hallazgos clínicos. Esta enfermedad es la causa más común de hemorragia gastrointestinal proximal en bovinos y puede llevar a perforación y peritonitis focal o difusa provocando muerte súbita. Para este estudio se utilizaron datos epizootiológicos, exámenes de laboratorio y hallazgos patológicos obtenidos de los registros de ocho bovinos, así como los resultados de necropsia de seis de los animales con úlcera de abomaso. Esta enfermedad equivale al 1% de los trastornos digestivos primarios en la CBG-UFRPE. De los ocho animales evaluados, cuatro presentaron úlcera perforante con peritonitis difusa (tipo IV); uno presentó peritonitis focal (tipo III); y en tres de ellos fueron observadas úlceras hemorrágicas (tipo II). De estos últimos, dos fueron dados de alta y uno falleció. Los principales signos clínicos incluyeron apatía, disminución de la productividad y deshidratación moderada. Así mismo, 87,5% de los pacientes presentaron apetito irregular o anorexia. El rumen, el abomaso y el intestino sufrían hipomotilidad y las heces eran pastosas, negruzcas y escasas. Los exámenes hematológicos mostraron hiperfibrinogenemia (888 mg / dL), leucocitosis (20.081/ μ L) con linfocitosis (8.867/ μ L) y una neutrofilia (10.393/ μ L) con desviación a la izquierda. En la mucosa abomasal se observaron hemorragias petequiales multifocales y sufusiones, además de una gran cantidad de líquido oscuro, coágulos de sangre, edema, inflamación, úlceras profundas multifocales de diversos tamaños cubiertas por tejido necrótico, algunas de ellas recientes y otras crónicas y en proceso de cicatrización. Sin embargo, la adopción de prácticas correctas de alimentación es fundamental para prevenir esta enfermedad.

Palabras clave: Peritonitis, melena, abomasite, sangrado

INTRODUÇÃO

A intensa seleção genética dos animais vem melhorando a condição corporal e aumentando sua capacidade digestiva, visando incrementar a produtividade. Concomitante a

isso, observa-se maior susceptibilidade para ocorrência de doenças metabólicas e digestivas, entre elas as abomasopatias, especialmente no gado leiteiro e que estão associadas ao estresse lactacional, manejo nutricional inadequado e confinamento. As enfermidades do abomaso mais frequentes relatadas são úlceras, deslocamento e compactação associada à indigestão vaginal (1-3).

A úlcera de abomaso é a causa mais comum de hemorragias gastrintestinais proximal em bovinos de todas as idades, podendo causar indigestão, melena e, algumas vezes, perfuração, resultando em peritonite local aguda dolorosa ou difusa, com morte súbita. A úlcera abomasal primária é observada em vacas leiteiras de alta produção, touros adultos e em bezerros, nos quais a causa ainda não é bem definida. Alguns fatores de risco são sugeridos e incluem: as trocas alimentares, em particular as lesões traumáticas da mucosa associada à adição de alimentos grosseiros, e ao estresse, além do desmame precoce dos bezerros (2, 4, 5).

As úlceras podem ser classificadas como pépticas e não pépticas: a primeira ocorre quando a barreira mucosa é lesionada por distintos ácidos, como clorídrico, láctico, biliares e graxos de cadeia curta. O aumento destes ácidos está diretamente relacionado ao estresse, com a liberação de glicocorticóides, que aumenta a liberação de ácido clorídrico e com alimentação rica em carboidrato solúvel, que libera grande quantidade de ácidos graxos voláteis e ácido láctico. Outro fator importante é a formação de muco, comprometida pelo uso de glicocorticóides e anti-inflamatórios não-esteróides. As úlceras não pépticas são causadas por processos inflamatórios e necróticos (traumas por corpo estranho, tuberculose, micose) e neoplasias (linfossarcoma e carcinoma). A infecção por *Clostridium perfringens* tipo "A" foi relacionada à ocorrência de úlcera de abomaso, principalmente em bezerros, sua toxina pode provocar abomasite e timpanismo abdominal (5, 6).

Atualmente esta enfermidade pode ser distinguida em quatro tipos: I - erosões e/ou úlceras clinicamente inaparentes; II - úlceras com hemorragias; III - úlcera com peritonite focal e IV - úlcera perfurante com formação de abscesso do omento ao longo da curvatura maior, com bursite omental, podendo desenvolver peritonite generalizada; em alguns casos, pode ocorrer perfuração da musculatura abdominal e um quadro de choque hiperagudo e morte. Estas classificações são úteis na descrição dos vários quadros clínicos (5, 7, 8). Entretanto, são poucos os relatos sobre a manifestação e descrição dos achados clínicos de úlceras abomasais em bovinos. De acordo com a literatura, a maioria das descrições é baseada na observação de lesões em animais inspecionados em matadouro, especialmente aqueles criados para vitelo e abatidos entre três e cinco meses de idade (4).

Com base na relevância desta enfermidade objetivou-se relatar os principais achados clínico-laboratoriais e de necropsia observados em bovinos acometidos com úlcera de abomaso atendidos na rotina da Clínica de Bovinos de Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CBG-UFRPE).

MATERIAL E MÉTODOS

Para este estudo retrospectivo utilizaram-se dados epizootiológicos, exames clínico-laboratoriais e anatomopatológicos obtidos das fichas clínicas de oito bovinos e laudos de necropsia dos seis óbitos com úlcera de abomaso, durante o período de 2001-2010.

O exame clínico e a análise do fluido ruminal procederam-se de acordo com as recomendações de Dirksen (9). A dosagem do teor de cloreto no conteúdo ruminal de cinco animais foi processada pelo método colorimétrico empregando-se kit comercial (Labtest Diagnóstica), sendo a leitura efetuada em analisador bioquímico semi-automático (Labquest) (10). A avaliação hematológica foi realizada em todos os animais e as amostras de sangue foram coletadas mediante venopunção da jugular em tubos de vidro a vácuo com anticoagulante EDTA (10%), seguindo a metodologia proposta por Jain (11).

Em três animais foi realizada láparo-ruminotomia exploratória no flanco esquerdo de acordo com a técnica de Fubini e Trent (12). Apenas dois animais receberam alta; quatro morreram e dois foram encaminhados para eutanásia, conforme as normas humanitárias, sendo todos submetidos ao exame necroscópico.

A análise estatística dos dados foi realizada de forma descritiva, determinando as distribuições de freqüências das variáveis relativas analisadas, conforme propôs Curi (13).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As enfermidades digestivas são responsáveis por 20% da casuística da CBG-UFRPE; a úlcera de abomaso representa 1% destes distúrbios, se apresentando como causa primária ou secundária a outras doenças intercorrentes e/ou cirurgias (14). Neste trabalho foi observada em oito bovinos, fêmeas e machos de idades variadas, criados em regime de confinamento ou semi-confinamento (Tabela 1). Em todos os casos os sinais clínicos surgiram após episódio de estresse como: parto, mudança na alimentação e de ambiente. Corroborando com a literatura que descreve estes fatores como sendo responsáveis pelo desencadeamento desta enfermidade. Entretanto, alguns autores acrescentam o *Clostridium perfringens* “tipo A” e os fungos, também, como causa de úlceras abomasais em bezerros (15-18). Além disso, outro fator importante e que tem sido relacionado a ocorrência desta doença é a deficiência de mineral especialmente de cobre (7, 19), constatada pelas baixas concentrações deste mineral no fígado de bezerros acometidos pela doença (18). Esta deficiência está relacionada a transtornos nas ligações cruzadas da elastina, comprometendo assim a mucosa do abomaso e sua micro-vascularização. Houve também diminuição da atividade da citocromo oxidase de leucócitos, que contribui para a diminuição da função dos neutrófilos e aumento de susceptibilidade à infecção (16, 17). É importante ressaltar também, que o vírus da diarreia viral bovina tem sido isolado de bezerros com úlceras abomasais perfurantes (20).

A condição de estresse observada nestes casos, e que estão associadas a esta enfermidade, foi relatada por Radostits et al. (2) destacando que as vacas leiteiras de alta produção, especialmente as que estão na primeira lactação, podem ser acometidas depois de uma doença prolongada, como pneumonia, ou após mudança de ambiente. Guard (4) acrescenta que a maioria das vacas que apresentou úlcera abomasal estava no primeiro mês após o desmame e com doenças concomitantes, que incluíam distúrbios pós-parto comuns do gado leiteiro como: deslocamento de abomaso, metrite, mastite e cetose. Assim como foi observado em quatro vacas de alta produção que se encontravam no primeiro mês pós-parto. Nos touros adultos, a enfermidade, pode ocorrer principalmente depois de transportes longos e confinamentos, condizente com a história de um bovino de oito anos que havia sido adquirido recentemente e que passou a ser criado em regime intensivo.

Em bezerros as causas mais comuns desta enfermidade estão relacionadas ao desmame ou quando têm o leite substituído por aleitamento artificial e começam a consumir matéria seca e, nestes casos, a maioria destas úlceras presentes são subclínicas. Porém, bezerros de corte de dois a quatro meses podem ser acometidos por úlceras agudas e perfuradas do abomaso, enquanto se encontram nas pastagens de verão (4, 8). Nesta condição havia dois bezerros de dois meses com broncopneumonia, alimentados com leite e na época de inverno, e um de oito meses recentemente adquirido de outra propriedade, fatores que segundo a literatura podem estar associados diretamente com o surgimento desta doença (8). Porém em um estudo epidemiológico descritivo de úlceras abomasais em bezerros, realizado por Jelinski et al. (7), sugeriram que a alimentação, o fornecimento de pastagem nova, estação do ano, sexo ou tipo de raça não são fatores necessários na patogênese da úlcera abomasal. No entanto, os autores encontraram associação direta com as etapas transitórias do desenvolvimento dos pré-ruminantes. Esta associação se deve a fatores como alterações na

configuração anatômica e fisiológica do abomaso e no estado imunológico do bezerro, além da mudança da microbiota gastrointestinal.

Tabela 1. Principais achados clínicos, tipos de úlceras e desfecho dos bovinos com úlcera de abomaso atendidos na CBG-UFRPE

	1-SRD ^f	2-Girolando	3-Girolando	4-Holandesa	5-Girolando	6-Girolando	7-Holandesa	8-Holandesa
Tipo úlcera	II	II	III	IV	IV	IV	IV	II
Sexo	F	F	M	M	F	F	F	F
Idade	2 -M ^g	4 -A ^k	8 - A	8 - M	6 - A	4 - A	2 - M	4 - A
ECC^a	2	2	3	4	2,5	2	2	3
Exicse	3	1	2	1	2	3	3	1
FC^b	108	100	96	120	92	60	76	88
Apetite	Ausen. ^h	Presen. ^l	Ausen.	Ausen.	Capric. ^p	Capric.	Ausen.	Capric.
Abdômen	Lev. abau. ⁱ	Lev. abau.	Abau. ⁿ	Lev. abau.	Lev. abau.	Abau.	Lev. abau.	Abau.
Mot. Rumin.^c	Atonia	Lev. hipom. ^m	Atonia	Atonia	Atonia	Lev. hipom.	Borbor. ^q	Lev. hipom.
Mot. abom.^d	Fisiológ. ^j	Fisiológ.	Hipomot. ^o	Hipomot.	Hipomot.	Hipomot.	Hipomot.	Hipomot.
Mot. intes.^e	Fisiológ.	Fisiológ.	Hipomot.	Hipomot.	Hipomot.	Hipomot.	Hipomot.	Hipomot.
Desfecho	Alta	Alta	Eutanasiado	Óbito	Eutanasiado	Óbito	Óbito	Óbito

^a Escore corporal; ^b Frequência cardíaca; ^c Motilidade ruminal; ^d Motilidade abdominal; ^e Motilidade intestinal; ^f Sem raça definida; ^g Mês; ^h Ausente; ⁱ Levemente abaulado; ^j fisiológico; ^k Ano; ^l Presente; ^m Levemente hipomotilico; ⁿ Abaulado; ^o Hipomotilico; ^p Caprichoso; ^q Borborigmos.

Em quatro bovinos observou-se úlcera perfurante com peritonite difusa (tipo IV). Para Guard (4) e Marshall (8), neste tipo de úlcera, ocorre grande extravasamento de conteúdo abomasal para a cavidade abdominal, ocasionando peritonite difusa aguda. O curso desta doença é geralmente rápido, com sinais de choque séptico dentro de 24 horas do seu início. Whitlock (21) afirma que a úlcera perfurada apresenta sinais muito semelhantes aos da indigestão vaginal, sendo constantemente confundida com reticulo-peritonite traumática. Apenas um animal apresentou úlcera abomasal do tipo III, com peritonite focal e um abscesso de cinco centímetros de diâmetro e, segundo a literatura, estes abscessos são delimitados por tecido fibroso e fibrina, apenas no local perfurado (8). Em três bovinos observaram-se úlceras hemorrágicas (tipo II); destes, dois receberam alta e um veio a óbito. Conforme a literatura consultada, este tipo de úlcera aparece quando as erosões ocorrem dentro dos principais vasos sanguíneos gástricos e a perda de sangue pode ser suficiente para causar anemia e choque hemorrágico (4, 8).

As queixas clínicas relatadas pelos proprietários, de modo geral, eram: apatia, diminuição do apetite e da produtividade. Os principais sinais clínicos observados durante o exame clínico foram: escore corporal baixo em cinco animais, dois casos com problemas respiratórios, temperatura elevada em seis e moderado grau de desidratação em todos os casos. Observou-se apetite caprichoso ou ausente em 87,5% dos casos, rúmen, abomaso e intestino com hipomotilidade, abdômen distendido, fezes em pouca quantidade, pastosas, com muco, e de coloração enegrecida (Tabela 1). Na palpação retal, realizada em cinco animais, foi observada rugosidade de peritônio em apenas um animal. Estes achados corroboram com os descritos na literatura, cujos principais sinais clínicos característicos são inapetência, fraqueza crescente e depressão, desidratação, algumas vezes cólica leve, taquicardia, taquipneia e, em particular, fezes negras e fétidas. O animal pode estar moderadamente febril e parcialmente ou totalmente inapetente com produção de leite diminuindo gradativamente.

Os sinais mais graves da doença surgem em decorrência da hemorragia que pode comprometer os grandes vasos; a perda de sangue pode ser considerável e até mesmo causar a morte súbita (4, 22, 23). Contudo, Afonso (5) relata que os casos que surgem de forma inaparente não são fáceis de serem diagnosticados por meio dos exames clínicos de rotina e, na maioria das vezes, apresentam curso clínico mais brando e os sinais tornam-se mais evidentes quando ocorrem hemorragias acentuadas ou peritonite.

Na avaliação do fluido ruminal de oito animais observou consistência aquosa, odor pútrido, pH médio de 7, baixa porcentagem de infusórios vivos e, em cinco bovinos, o teor médio de cloreto estava elevado (\bar{x} 69,86 mEq/L). Estas alterações foram descritas por Bertone (24), em casos associados à ausência da motilidade ruminal. Whitlock (21) afirma que a úlcera perfurada de abomaso provoca estase gastrointestinal, que pode ser responsável pelo refluxo do conteúdo abomasal, elevando a concentração do teor de cloreto acima de 30 mEq/L, comprometendo a microbiota ruminal.

Na avaliação hematológica, de modo geral, não foi observado alteração na série vermelha, porém a concentração sérica de proteína total estava no limite inferior, havia hiperfibrinogenia com valor médio de (\bar{x} 888 mg/dL), além de leucocitose por linfocitose e neutrofilia com desvio à esquerda (Tabela 2). Estes achados corroboram com os descritos por Costa et al. (25). Segundo Guard (4), o hematócrito pode estar normal ou elevado nos casos de peritonite, mas o teor de proteína plasmática pode estar diminuído como resultado do acúmulo de proteínas na cavidade peritoneal. Se a hemorragia for grave o hematócrito tende a diminuir ou, em alguns casos, aumentar com a desidratação nas situações mais graves, conforme foi observado nestes casos (Tabelas 1 e 2). O fibrinogênio plasmático aumentado, acima de 700 mg/dL, associado à leucocitose com neutrofilia, na maioria das vezes, caracteriza um processo infeccioso já instalado, como foi observado nos cinco casos com úlceras perfuradas (Tabela 2). Para Marshall (8) o hematócrito é geralmente baixo nas úlceras do tipo – II, devido à perda de sangue decorrente do comprometimento dos grandes vasos. A concentração plasmática de fibrinogênio é frequentemente elevada nos tipos - III e IV, assim como a contagem de leucócitos do sangue, em razão da leucocitose por linfocitose e neutrofilia. Resultados estes semelhantes aos encontrados neste estudo.

Foi realizado láparo-ruminotomia exploratória em três casos, constatando rúmen timpânico, abomaso relativamente vazio e flácido, além de aderências do omento ao peritônio, cadeia linfática mesentérica aumentada e presença de peritonite sero-fibrinosa difusa. Estes mesmos achados foram descritos em um relato de caso de úlcera de abomaso em uma vaca Jersey por Pope e Bennett (26). A laparotomia exploratória é a forma mais prática no diagnóstico de úlceras do tipo IV (8).

No exame necroscópico, em quatro casos, observou-se na cavidade abdominal um quadro de peritonite instalado com presença de grande quantidade de líquido de aspecto turvo, coloração amarela-esverdeada, fétido e muita fibrina recobrimdo a serosa dos órgãos abdominais, além da presença de abscessos com parede capsular bem espessa. Nestes, o omento apresentava-se espessado com hemorragias petequiais e “debris” de fibrina, aderido às vísceras ao peritônio. Estes mesmos achados foram descritos por Guard (4) e Jelinski (7).

Todos os bovinos submetidos à necropsia apresentavam na mucosa abomasal diversos pontos de hemorragias petequiais e sufusões, além de grande quantidade de líquido enegrecido, coágulos, edema, inflamação, úlceras multifocais de tamanhos variados, profundas na mucosa e cobertas com tecidos necróticos, algumas recentes e outras crônicas e cicatrizadas, distribuídas por todo o órgão; em dois casos, havia areia e fitobezoares (Figura 1 A, B, C, D, E e F). Esses mesmos achados foram descritos por Pope e Bennett (26) e Mills et al. (18). Segundo Borges e Moscardini, (6) a úlcera de abomaso caracteriza-se pela presença dessas lesões na mucosa do abomaso que podem ser desde pequenas erosões até lesões extensas perfurando a mucosa, atingindo a muscular e às vezes a serosa. Neste trabalho foi observada, ainda, mucosa duodenal edemaciada, moderada quantidade de sangue e todo trato

intestinal com conteúdo enegrecido; em quatro casos o intestino estava aderido em bloco, com bastante fibrina, além de hemorragias petequiais no jejuno e íleo, decorrentes do quadro de peritonite instalado. Estes achados são condizentes com os observados na literatura (23, 27, 28).

Tabela 2. Resultados hematológicos dos oito bovinos com úlcera de abomaso, atendidos na CBG-UFRPE

	A 1	A 2	A 3	A 4	A 5	A 6	A 7	A 8	MÉDIA (\bar{x})	REFER. ^a
He^b (10 ⁶ /μL)	7,4	2,5	7,1	6,7	4,9	7,1	9,0	3,5	6,0	(5 - 10)
Ht^c (%)	42	13	35	37	27	33	27	20	28	(24 - 46)
Hb^d (g/dL)	12,7	4,0	10,8	11,0	8,1	9,9	6,2	5,9	8,6	(8 - 15)
VCM^e (fL)	56,6	52,0	49,1	56,0	54,8	30,0	29,8	57,47	49,2	(40 - 60)
CHCM^f (%)	30,31	30,7	31,0	29,9	30,3	46,3	22,9	29,7	31,4	(30 - 36)
PPt^g (g/dL)	8,1	6,5	7,1	5,8	7,0	8,5	7,2	4,9	6,9	(7 - 8,5)
FP^h (mg/dL)	1.000	600	900	800	1.000	1.100	1.400	300	888	(300- 700)
Leuc.ⁱ (/μL)	32.750	8.500	25.200	10.300	30.900	21.450	13.400	18.150	20.081	(4.000 -12.000)
Linf.^j (/μL)	7.205 (22%)	3.825 (45%)	20.412 (81%)	7.313 (71%)	10.197 (33%)	12.870 (60%)	3.484 (26%)	5.627 (31%)	8.867 (44,1%)	2.500 - 7.500 (45 - 75%)
Seg.^k (/μL)	22.270 (68%)	3.825 (45%)	4.032 (16%)	2.678 (26%)	20.703 (67%)	7.507 (35%)	9.782 (73%)	12.342 (68%)	10.393 (51,6%)	600 - 4.000 (15- 45%)
Bast.^l (/μL)	2.620 (8%)	85 (1%)	248 (1%)	252 (1%)	0	858 (4%)	134 (1%)	0	525 (2,5%)	0 - 120 (0 - 2%)
Basó.^m (/μL)	0	85 (1%)	0	0	0	134 (1%)	0	0	27 (0,17%)	0 - 200 (0 - 2%)
Eos.ⁿ (/μL)	0	0	170 (2%)	0	0	0	0	0	21 (0,13%)	0 - 2.400 (0 - 20%)
Mon.^o (/μL)	655 (2%)	510 (6%)	0	504 (2%)	0	0	0	182 (1%)	231 (1,5%)	25 - 840 (2 - 7%)

^a Kramer (29); ^b Hemácia; ^c Hematócrito; ^d Hemoglobina; ^e Volume corpuscular médio; ^f Concentração corpuscular média; ^g Proteína plasmática total; ^h Fibrinogênio plasmático; ⁱ Leucócitos; ^j Linfócitos; ^k Segmentados; ^l Bastonetes; ^m Basófilo; ⁿ Eosinófilo; ^o Monócito.

Em cinco casos, os locais mais acometidos por perfurações foram à região pilórica e curvatura maior do abomaso e, a abertura variava de aproximadamente dois a cinco centímetros de extensão, deixando fluir conteúdo abomasal. Esta região apresentava-se ainda, com coloração avermelhada e presença de moderada quantidade de sangue. As pregas abomasais estavam bastante edemaciadas e com presença de úlceras multifocais de tamanhos e formas variadas (Figura 1 C). Achados estes condizentes com a literatura, pois para Marshall (8) a maioria das úlceras pode ser encontrada, tanto na curvatura maior da região fúndica, quanto na região pilórica. As erosões geralmente estão localizadas nas bordas e laterais das pregas do abomaso. Segundo Guard (4), a porção ventral do abomaso é a mais frequentemente acometida. Porém, em um estudo realizado por Mills et al. (18) as lesões abomasais perfurantes encontradas, apesar de estarem presentes nestas regiões já citadas anteriormente, o maior número delas ocorreu no piloro.

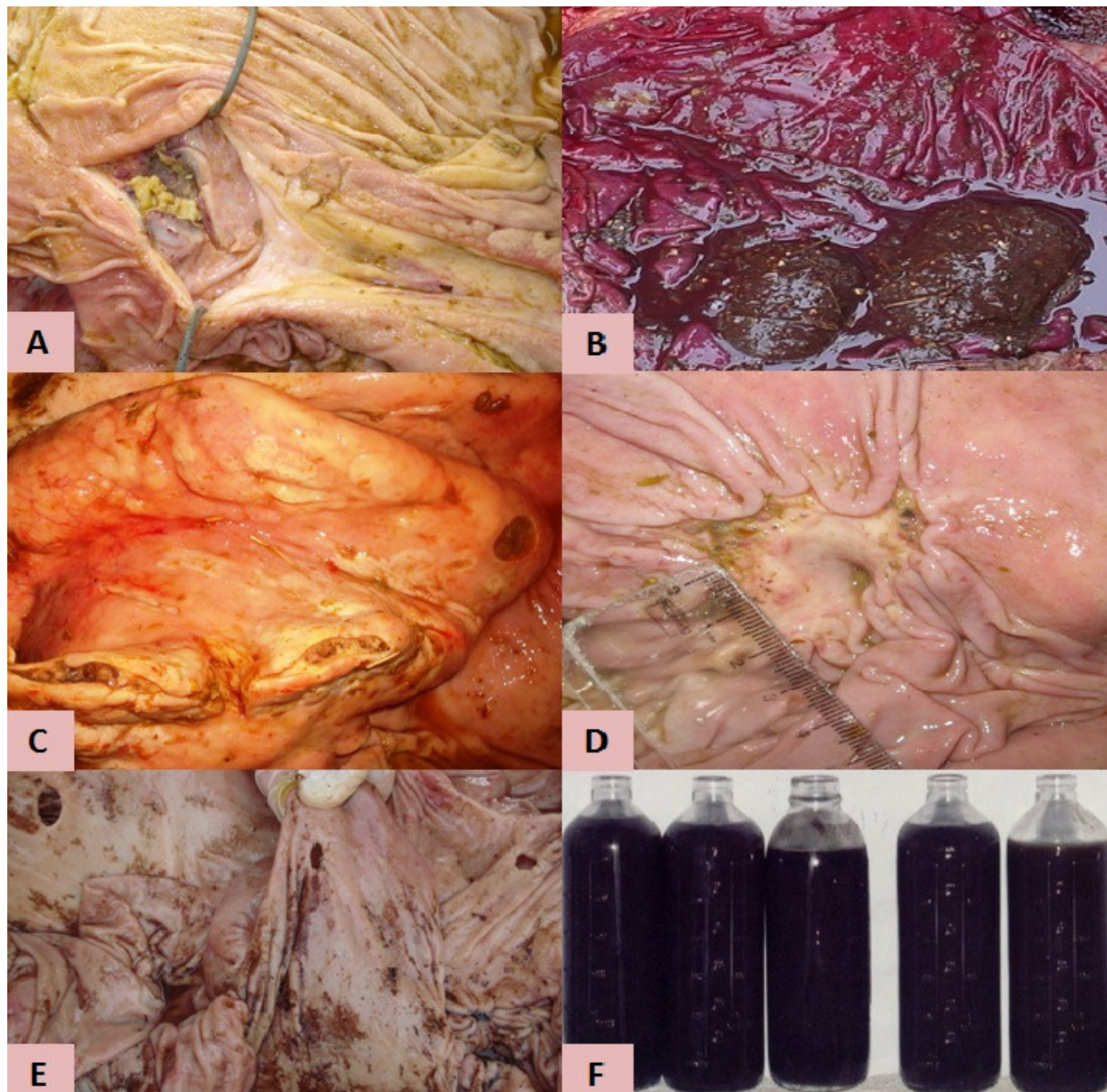


Figura 1. **A** – Úlcera perfurada; **B** – Abomasite, mucosa congesta e presença de dois fitobensoares; **C** – Presença de úlceras difusas e de tamanhos variados, além de edema na região das pregas abomasais; **D** – Úlcera cicatrizada; **E** – Úlceras cicatrizadas perfurando as pregas abomasais; **F** – Aspecto de líquido ruminal de coloração enegrecida, obtido de um bezerro acometido por úlcera de abomaso.

Os rins de dois bovinos apresentavam-se com áreas multifocais deprimidas, de coloração amarelo-acinzentada na superfície adentrando a cortical, além de pequenos cistos e áreas de infartos; o fígado encontrava-se aumentado, de consistência firme, e sua face visceral do lobo esquerdo, com aderência focal ao abomaso, em dois casos; no rúmen de um animal havia presença de cinco pilobezoares, de tamanhos variando entre dois e seis centímetros de diâmetro e esféricos, além da presença de grãos de areia em grande quantidade; o omaso de dois bovinos apresentava mucosa com úlceras perfuradas de tamanhos variados, algumas cicatrizadas. Estes mesmos achados foram descritos por Guard (4) e Jelinski (7).

CONCLUSÃO

A úlcera de abomaso se faz presente na rotina clínica dos ruminantes, decorrentes de falhas no manejo nutricional e sanitário, sendo de difícil diagnóstico no início da doença. Contudo, com sua evolução pode causar transtornos clínicos graves, levando os animais a óbito, gerando com isso grandes perdas econômicas. Portanto, a adoção de práticas sanitárias corretas, associadas à suplementação alimentar adequada, é fundamental para prevenir a ocorrência desta enfermidade.

REFERÊNCIAS

1. Hansen LB. Consequences of selection for milk yield from a geneticist's point of view. *J Dairy Sci.* 2000;83:1145-50.
2. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. Diseases of the alimentary tract. In: *Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats.* 10th ed. Edingurg: W.B. Saunders; 2007. p.236-310.
3. Wittek T, Sen I, Constable PD. Changes in abdominal dimensions during large gestation and early lactation in Holstein-Friesian heifers and cows and their relationship to left displaced abomasum. *Vet Rec.* 2007;161:155-61.
4. Guard C. Úlceras abomasais. In: Smith BP, editor. *Medicina interna dos grandes animais.* 3ª ed. São Paulo: Manole; 2006. p.760-2.
5. Afonso JAB. Abordagem clínica sobre a úlcera de abomaso em bezerros. *Jornal Veterinária e Zootecnia.* Porto Alegre; 2009 [cited 2009 Set 30]. Available from: <http://www.crmvrs.gov.br/jornal_medvet_zootec.html>.
6. Borges JRJ, Moscardini ARC. Úlcera de abomaso. In: Riet-Correa F, Schild AL, Lemos RAA, Borges JRJ, editores. *Doenças de ruminantes e equídeos.* 3ª ed. Santa Maria: Palotti; 2007. v.2, p.367-70.
7. Jelinski MD, Ribble CS, Campbell JR, Janzen ED. Descriptive epidemiology of fatal abomasal ulcers in Canadian beef calves. *Can Vet J.* 1996;26:9-15.
8. Marshall TS. Abomasal ulceration and tympany of calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2009;25:209-20.
9. Dirksen G. Sistema digestivo. In: Dirksen G, Gründer HD, Stöber M. *Exame clínico dos bovinos.* 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1993. p.204.
10. Afonso JAB, Costa NA. Doenças não transmissíveis do trato digestivo dos ruminantes: obstrução intestinal em bovinos. In: Riet-Correa F, Schild AL, Lemos RAA, Borges JRJ. *Doenças de ruminantes e equídeos.* 3º ed. Santa Maria: Palloti; 2007. v.2, cap.5, p.370-1.
11. Jain NC. *Essentials of veterinary hematology.* Philadelphia: Lea and Febiger; 1993.
12. Fubini SL, Trent AM. Small intestine surgery in cattle. In: Fubini SL, Ducharme NG, editors. *Farm animal surgery.* Missouri: W.B. Saunders; 2004. p. 240-56.

13. Curi PR. Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas. Botucatu: Tipomic; 1997.
14. Afonso JAB. Abordagem clínica das principais enfermidades do sistema digestivo de ruminantes [CD-ROM]. In: Anais do 2º Simpósio Mineiro de Buiatria; 2005, Belo Horizonte. Belo Horizonte: ABMG; 2005.
15. Wray C, Thomlinson JR. Abomasal ulceration in calves. *Vet Rec.* 1968;83:80-1.
16. Lilley CW, Hamar DW, Gerlach M, Johnson JL. Linking copper and bacteria with abomasal ulcers in beef calves. *Vet Med.* 1985;80:85-8.
17. Roeder BL, Chengappa MM, Nagaraja TG, Avery TB, Kennedy GA. Experimental induction of abdominal tympany, abomasitis, and abomasal ulceration by intraruminal inoculation of *Clostridium perfringens* type A in neonatal calves. *Am J Vet Res.* 1988;49:201-7.
18. Mills KW, Johnson JL, Jensen RL, Woodard LF, Doster AR. Laboratory findings associated with abomasal ulcers/tympany in range calves. *J Vet Diagn Invest.* 1990;2:208-12.
19. Jelinski MD, Janzen ED, Hoar B, Ribble CS. A field investigation of fatal abomasal ulcers in western Canadian beef calves. *Agri-Pract.* 1995;16:16-8.
20. Johnson JL, Hudson DB, Bohlender RE. Perforating abomasal ulcers and abomasal tympany in range calves. In: Proceedings of the Annual Meeting American Association Veterinary Laboratory Diagnosticians; 1981, Madison. Madison: AAVLD; 1981. p.203-10.
21. Whitlock R. Abomasal ulcers. In: Howard JL, Smith RA. Current veterinary therapy: food animal practice. Philadelphia: Saunders; 1999. p.527-32.
22. Jensen R, Pierson RE, Braddy PM, Saari DA, Benitez A, Lauerman LH, et al. Fatal abomasal ulcers in yearling feedlot cattle. *J Am Vet Med Assoc.* 1976;169:524-6.
23. Dirksen G. Enfermidades del abomaso. In: Dirksen G, Gründer HD, Stöber M, editors. Medicina interna y cirugía del bovino. 4ª ed. Buenos Aires: Intermédica; 2005. v.1, p. 430-67.
24. Bertone AL. Neoplasms of the bovine gastrointestinal tract. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1990;6:515-23.
25. Costa LRR, Gill MS, Williams J, Johnson AJ, Angel KL, Mirza MH. Abomasal ulceration and abomaso-pleural fistula in an 11-month-old beefmaster bull. *Can Vet J.* 2002;43:217-9.
26. Pope DC, Bennett JB. Abomasal ulceration in a Jersey cow. *Can Vet J.* 1961;2:189-91.
27. Bartlett MP, Fincher NIG. Ulcer in the abomasum with fatal haemorrhage. *North Amer Vet.* 1956;37:942.

28. Tasker JB, Roberts SJ, Fox FH, Hall CE. Abomasal ulcers in cattle: recovery of one cow after surgery. J Am Vet Med Assoc. 1958;133:365.
29. Kramer JW. Normal hematology of cattle, sheep and goats. In: Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC. Schalm's veterinary hematology. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. cap.166, p.1075-84.

Recebido em: 08/04/11

Aceito em: 20/10/11

ALIMENTAÇÃO DE LEITÕES NA CRECHE COM GRÃOS ÚMIDOS DE MILHO ENSILADOS OU PRESERVADOS COM PROPIONATO DE CÁLCIO¹

Ana Beatriz Rocha de Castro Lopes²
Dirlei Antonio Berto³
Messias Alves da Trindade Neto⁴
Fabiana Golin Luiggi²
Francisco Stéfano Wechsler³
Marcos Livio Panhosa Tsé²
Marco Antônio Martin Biaggioni⁵

RESUMO

A alimentação é o componente que mais eleva o custo de produção de suínos, o que justifica a realização de estudos com ingredientes que melhorem o valor nutricional das rações. Desse modo, o trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a utilização de grãos úmidos de milho ensilados ou preservados com propionato de cálcio para leitões desmamados. No experimento I (EI) foram utilizados 63 animais ($6,8 \pm 1,02$ aos $24,0 \pm 2,51$ kg), com três tratamentos: rações à base de grãos de milho seco moído (MSM); rações à base de silagem de grãos úmidos de milho moído (SGUM); rações à base de silagem de grãos úmidos de milho moído acidificado com 1,2% de propionato de cálcio (SGUMA) e seis repetições. No experimento II (EII) foram utilizados 36 suínos ($8,3 \pm 0,68$ aos $26,7 \pm 1,29$ kg), com dois tratamentos: rações à base de silagem de grãos úmidos de milho moído (SGUM) e rações à base de grãos úmidos de milho moído preservado com 2,4% de propionato de cálcio (GUMA) e seis repetições. No EI não houve efeito dos tratamentos no consumo diário de ração (CDR); o ganho diário de peso (GDP) nos primeiros sete dias foi menor nos leitões que receberam SGUMA, comparado àqueles que receberam MSM, embora no período total estudado não houve diferença entre tratamentos; a conversão alimentar (CA) na primeira semana dos leitões que receberam SGUMA foi pior em relação aos demais, mas no período total os animais alimentados com SGUM apresentaram melhor CA em relação àqueles alimentados com MSM. No EII não houve diferença no CDR entre os tratamentos; o GDP nos primeiros oito dias e no período total foi menor nos leitões que receberam GUMA; a CA na primeira semana não diferiu, enquanto no período total os animais alimentados com SGUM foram mais eficientes. O SGUM apresenta melhor valor nutricional para leitões no período total de creche comparada ao MSM, pois determina melhora da CA. Não há vantagens no desempenho de leitões com o uso do propionato de cálcio como aditivo no processo de ensilagem ou como preservativo na conservação de grãos úmidos de milho.

Palavras-chave: conservação de grãos, desempenho, silagem, suínos

¹ Parte da tese de doutorado do primeiro autor, financiado pela FAPESP

² Pós- Graduandos em Zootecnia da FMVZ/UNESP- Botucatu. bma_bia@yahoo.com.br

³ Professor do Departamento de Produção Animal da FMVZ/UNESP- Botucatu. Faz. Experimental Lageado – 18.618-000 – Botucatu/SP – Brasil. Fone: (14)3811-7189 – Fax: (14) 3811-7180

⁴ Professor do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FZEA/USP- Pirassununga

⁵ Professor do Departamento de Engenharia Rural da FCA/UNESP- Botucatu

FEEDING NURSERY PIGLETS WITH HIGH MOISTURE CORN ENSILED OR PRESERVED WITH CALCIUM PROPIONATE

ABSTRACT

Food is the component that most increases the cost of pig production. It justifies the studies of ingredients that improve the nutritional value of diets. This study was conducted to evaluate the use of high moisture corn silage or preserved with calcium propionate for weaning pigs. In experiment I (EI) it was used 63 animals (6.8 ± 1.02 to 24.0 ± 2.51 kg) with three treatments: diets based on dry ground corn grains (DGC), diets based on silage with high moisture corn (HMCS), diets based on silage, high moisture corn acidified with 1.2% calcium propionate (HMCS), and six repetitions. In experiment II (EII) it was used 36 pigs (8.3 ± 0.68 to 26.7 ± 1.29 kg) with two treatments: diets based on silage with high moisture corn (HMCS) and diets based on high moisture corn grain preserved with 2.4% calcium propionate (HMCGA) and six repetitions. In EI there was no treatment effect on daily feed intake (DFI). The daily gain (ADG) during the first seven days was lower in piglets fed HMCS compared to those receiving DGC, but in the total period studied there was no difference among treatments. Feed conversion (FC) in the first week of pigs receiving HMCS was worse compared to the others, but in the entire period the animals fed with HMCGS had better FC compared to those fed with DGC. In EII there was no difference in DFI between the treatments. The ADG in the first eight days and in the entire period was lower in piglets fed with HMCGA. FC in the first week did not differ, while in the total period the animals fed with HMCS were more efficient. When compared to DGC, HMCS was of better nutritional value for pigs in total nursery period because there was improvement in FC. There was no benefit in the performance of pigs with the use of calcium propionate as an additive for ensiling process or as a preservative for the preservation of high moisture corn.

Keywords: grain storage, performance, silage, swine

ALIMENTACIÓN DE LECHONES EN JAULAS CON GRANO DE MAÍZ HÚMEDO ENSILADO O CONSERVADO CON PROPIONATO DE CALCIO¹

RESUMEN

La alimentación es el componente que más eleva el costo de producción en cerdos, lo que justifica la realización de estudios que mejoren el valor nutricional de las dietas. Por lo anterior, este trabajo fue realizado con el objetivo de evaluar la utilización de grano de maíz húmedo ensilado o preservado con propionato de calcio en lechones destetados. En el experimento I (EI) fueron utilizados 63 animales ($6,8 \pm 1,02$ a $24,0 \pm 2,51$ kg), con tres tratamientos: dieta a base de grano de maíz seco molido (MSM); dieta a base de ensilado de grano de maíz molido (SGUM); dieta a base de ensilado de grano de maíz húmedo molido, acidificado con propionato de calcio al 1,2% (SGUMA) y seis repeticiones. En el experimento II (EII) fueron utilizados 36 cerdos ($8,3 \pm 0,68$ a $26,7 \pm 1,29$ kg), con dos tratamientos: dieta a base de ensilado de maíz húmedo molido (SUGM) y dieta a base de grano de maíz húmedo molido, conservado con propionato de calcio al 2,4% (GUMA) y seis repeticiones. Durante el EI no se encontró efecto de los tratamientos en el consumo diario de la dieta (CDR); la ganancia diaria de peso (GDP) durante los primeros 7 días fue más baja en los lechones que recibieron SGUMA, comparada con aquellos que consumieron MSM. Aún así, no hubo diferencia entre estos dos tratamientos al final de la evaluación. La conversión alimenticia (CA) en la primera semana de SGUMA fue la peor en relación a los otros lechones; sin embargo, en el periodo total los animales alimentados con SGUM presentaron mejor CA en

relación con aquellos alimentados con MSM. En el EII no fueron encontradas diferencias en la GDP durante los primeros ocho días. En el periodo total, la GDP fue más baja en los lechones que recibieron GUMA; No hubo diferencia significativa en la CA durante la primera semana; no obstante, en el periodo total los animales alimentados con SGUM fueron más eficientes. El SGUM presenta mejor valor nutricional que el MSN en términos de periodo total en jaulas ya que mejora la CA. No existen ventajas en la utilización de propionato de calcio como aditivo en el proceso de ensilado o como conservador de grano de maíz húmedo en el desempeño productivo de los lechones.

Palabras clave: cerdos, conservación de granos, comportamiento, ensilado

INTRODUÇÃO

No intuito de melhorar a rentabilidade da produção, os suinocultores têm buscado aumentar a produtividade e reduzir os custos, utilizando animais com alto valor genético e de boas condições sanitárias, adequados programas de manejo e de nutrição.

O gasto com alimentação representa cerca de 60 a 70% do custo de produção do suíno terminado (1) e o milho participa em 50 a 80% da composição total das rações (2). Diante disso, a busca de alimentos alternativos é uma preocupação constante dos pesquisadores, que visa otimizar os índices produtivos e econômicos nos sistemas de produção. Uma alternativa para redução nos custos das rações tem sido o uso da silagem de grãos úmidos de milho (3).

Diversas vantagens da silagem de grãos úmidos em relação ao milho seco podem ser citadas, dentre elas, antecipação da colheita, redução nas perdas quantitativas e qualitativas na fase pós-colheita, sistema de armazenamento mais simples e econômico, conservação do valor nutritivo por maior período de tempo, maior disponibilidade de nutrientes, menor incidência de diarreia em animais recém-desmamados e ausência de taxas e impostos, que incidem sobre o milho seco que é adquirido no mercado formal (4).

Visando a melhora na qualidade nutricional da silagem de grãos úmidos, tem sido proposto o uso de aditivos, principalmente biológicos ou químicos, no momento de confecção da silagem. Os aditivos para silagem podem ser classificados nas categorias de estimulantes da fermentação (culturas bacterianas ou fontes de carboidratos), inibidores da deterioração aeróbia (ácidos orgânicos), nutrientes e absorventes (5).

Existem duas alternativas de uso dos ácidos orgânicos e de seus sais, especialmente de sódio e cálcio, para preservação do milho colhido com teor alto de umidade. Em dosagens menores contribuem para melhorar a estabilidade aeróbia da silagem, atuando como aditivo, dificultando o crescimento de fungos e leveduras após abertura do silo e, em dosagens maiores, determinam a inibição completa do processo de fermentação (6).

Em um estudo que monitorou a temperatura de grãos úmidos de milho, preservados com ácidos orgânicos ou ensilados, após exposição ao ar em uma sala mantida a temperatura de 24 a 27 °C, observou-se aumento na temperatura inicial de 15 °C dentro das primeiras 24 horas na silagem e nenhuma variação no milho preservado (7).

Juchem e Rodrigues (8) recomendaram o uso de ácido propiônico para preservação dos grãos de milho com 30% de umidade durante 12 meses de armazenamento, entretanto, lembraram que a aplicação correta de ácidos deve baixar o pH para próximo de 4,0 e que para isso deve ser levado em consideração o teor de umidade dos grãos, a duração do período de armazenamento e a taxa de descarregamento do silo.

O presente trabalho foi realizado para avaliar os efeitos da ensilagem de grãos úmidos de milho moídos com ou sem o uso de propionato de cálcio como aditivo, e de grãos úmidos de milho moídos preservados com propionato de cálcio sobre a qualidade do produto final e o desempenho de leitões desmamados.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos nas instalações experimentais para suínos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP – Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu.

Para a produção da silagem de grãos úmidos de milho moído, silagem de grãos úmidos de milho moído acidificados com 1,2% de propionato de cálcio e dos grãos úmidos de milho moído preservados quimicamente com 2,4% de propionato de cálcio, os grãos foram colhidos e triturados em moinho de serra com peneira de 6mm e em seguida armazenados em tambores plásticos de 100 litros.

Os leitões foram alojados em salas contendo baias metálicas elevadas, medindo 1,0 x 1,75 m, equipadas com comedouro, bebedouro tipo chupeta e campânula para aquecimento, durante toda a fase de creche.

As amostras de grãos úmidos ensilados com ou sem propionato de cálcio ou preservados com propionato de cálcio foram coletadas na abertura dos tambores para elaboração das rações e imediatamente submetidas à análises bromatológica, de pH, granulometria e perfil de ácidos orgânicos.

As análises bromatológicas foram efetuadas segundo metodologias propostas pela AOAC (9). Para a análise de pH, 20 g de amostra foi suspensa em 30 ml de água deionizada, formando uma massa homogênea, que foi agitada por barra magnética e agitador elétrico por 10 minutos e, em seguida, realizada a leitura em um potenciômetro. As avaliações de granulometria foram realizadas de acordo com metodologia descrita por Zanotto e Bellaver (10), enquanto que o perfil de ácidos orgânicos foi determinado a partir das amostras que foram centrifugadas a 12.000 rpm durante 8 minutos, em seguida foram filtradas em membrana pvdf (0,22µm de poro 13 mm de diâmetro hieroglífica) da marca MILLI PORE, para reter o material sólido e posteriormente colocadas no frasco do injetor automático do cromatógrafo líquido Varian, modelo PRO STAR 410, com duas bombas binárias, injetor automático e detector IR (Índice de refração), coluna BIO RAD HPX87H (65°C) e tempo de corrida 0,6 ml por minuto, num tempo total de 35 minutos.

Experimento I

Utilizaram-se 63 leitões mestiços (Large white x Landrace) com peso médio inicial de $6,83 \pm 1,02$ e final de $24,01 \pm 2,51$ kg e com idade média inicial de 30 dias, em um experimento com três tratamentos e seis repetições. O delineamento foi o de blocos ao acaso e os critérios para a formação dos blocos foram o peso e o sexo.

A cada unidade experimental, formada por três leitões (três blocos) ou quatro leitões (três blocos), atribuiu-se um dos seguintes tratamentos: rações à base de grãos de milho seco moído (MSM), rações à base de silagem de grãos úmidos de milho moído (SGUM) e rações à base de silagem de grãos úmidos de milho moído acidificados com 1,2% de propionato de cálcio (SGUMA). Usou-se em todos os tratamentos uma única variedade de milho, produzida em mesmas condições de solo, clima, adubação e tratos culturais, que foi colhido com 25,72% e 13,20% de umidade, respectivamente, para a produção das silagens e milho seco. A composição química do milho seco, da silagem de grãos úmidos de milho e grãos acidificados é apresentada na Tabela 1.

Durante o período experimental (30 dias) foram fornecidas três rações à vontade para os leitões, ração inicial I até o 7º dia, ração inicial II do 8º ao 22º dia e ração inicial III do 23º ao 30º dia. As rações foram formuladas para atender no mínimo as exigências nutricionais propostas pelo NRC (11), exceto para proteína bruta (Tabela 2).

As rações foram preparadas diariamente, a partir de um concentrado, usando misturador com capacidade para 50 kg. A quantidade de silagens de grãos úmidos de milho moídos

(SGUM e SGUMA) foi corrigida considerando os teores de matéria seca do milho seco e das silagens.

Tabela 1. Composição bromatológica na matéria seca do milho seco moído (MSM), silagem de grãos úmidos de milho moído (SGUM), silagem de grãos úmidos de milho moído acidificado com 1,20% propionato de cálcio (SGUMA) e dos grãos úmidos de milho moído preservados com 2,40 % de propionato de cálcio (GUMA).

Produto	Experimento	PB(%)	EE(%)	MM(%)	ENN (%)	FB (%)
MSM	1	9,53	5,11	1,01	81,75	2,60
SGUM	1	9,13	5,63	1,09	81,87	2,28
SGUMA	1	9,04	5,11	1,68	82,05	2,12
SGUM	2	9,11	5,71	0,98	82,56	1,64
GUMA	2	8,39	4,96	2,08	83,14	1,43

Tabela 2. Composição centesimal e nutricional das rações fornecidas nas fases I , II e III dos experimentos I e II¹.

Ingredientes (%)	Fase I	Fase II	Fase III
Milho Seco	40,218	53,160	64,397
Farelo de soja	20,000	26,000	27,540
Soro de leite	19,700	9,900	----
Células sangüíneas ²	2,610	0,810	----
Farinha de trigo	9,600	1,800	----
Açúcar	4,000	5,000	3,000
Óleo de soja	----	----	1,500
Fosfato bicálcico	1,800	1,540	1,740
Calcário	0,620	0,760	0,820
Sal	0,350	0,350	0,350
Premix mineral ³	0,100	0,100	0,100
Premix vitamínico ⁴	0,050	0,050	0,050
Sulfato de cobre (25%)	----	0,077	---
Óxido de zinco	0,290	----	---
Cloreto de colina	0,040	0,030	0,030
L - Lisina HCl	0,344	0,269	0,351
DL - Metionina	0,098	0,052	0,042
L-Treonina	0,150	0,072	0,080
Antioxidante	0,030	0,030	-----
TOTAL	100,000	100,000	100,000
Valores Calculados⁵			
ED (kcal/kg)	3.350	3.365	3.426
PB (%)	18,56	18,58	18,01
Ca (%)	0,86	0,79	0,79
P total (%)	0,69	0,64	0,64
Lisina (%)	1,39	1,24	1,20
Metionina (%)	0,37	0,34	0,33
Treonina (%)	0,90	0,81	0,78
Triptofano (%)	0,23	0,23	0,22

¹As silagens de grãos úmidos de milho moído e os grãos úmidos de milho moído preservado com propionato de cálcio substituíram o milho seco nas rações com base na mesma matéria seca, ²AP-301 da American Protein Corporation, ³Premix mineral suprindo as seguintes quantidades /kg de ração: Ferro 100 mg; Cobre 7,2 mg; Zinco 80mg; Manganês 48 mg Iodo 0,48 mg, ⁴Premix vitamínico suprindo as seguintes quantidades / kg de ração: Vit.A,15.000 UI; vit.D₃, 1.500UI ; Vit. E, 50mg; vit. K₃, 3mg; Tiamina, 2,50 mg; Riboflavina, 7mg;Pirodoxina, 4 mg; Cianocobalamina, 35mcg; Ácido fólico,1,5 mg ; Biotina, 150mcg; Ácido Pantotênico,20mg; Niacina, 35 mg; Selenio, 300mcg , ⁵Valores calculados com base em análises bromatológicas do milho seco e na composição média das demais matérias primas apresentadas por ROSTAGNO et al. (26).

O consumo de ração e o ganho de peso foram obtidos por pesagem dos animais no início do experimento, no sétimo, no vigésimo segundo e no trigésimo dia e da ração fornecida e das sobras diariamente.

Os dados de desempenho foram submetidos à análise de variância utilizando o GLM do SAS (12). As médias dos resultados dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey. A comparação das médias entre os tratamentos com silagens e com milho seco foi realizada por contrastes ortogonais.

Experimento II

Foram usados 36 leitões mestiços (Large white x Landrace) com peso médio inicial de $8,28 \pm 0,68$ e final de $26,65 \pm 1,29$ kg, e com idade média inicial de 30 dias, num experimento com dois tratamentos e seis repetições. O delineamento utilizado foi o de blocos ao acaso, considerando o peso e o sexo.

A unidade experimental era constituída por três leitões que receberam um dos seguintes tratamentos: rações à base de silagem de grãos úmidos de milho moído (SGUM) ou rações à base de grãos úmidos de milho moído preservado quimicamente com 2,4% de propionato de cálcio (GUMA). Utilizou-se, nos dois tratamentos, uma única variedade de milho, produzida em mesmas condições de solo, clima, adubação e tratos culturais, colhida com teor de umidade de 26,82%. A composição bromatológica da SGUM e GUMA é apresentada na Tabela 1.

Foram fornecidas três rações à vontade para os leitões durante o período experimental de 28 dias, ração inicial I nos primeiros 8 dias, ração inicial II do 9º ao 20º dia e ração inicial III do 21º ao 28º dia. As rações foram formuladas para atender em, no mínimo, as exigências nutricionais propostas pelo NRC (11), exceto para proteína bruta, para cada uma das fases estudadas (Tabela 2).

O ganho de peso e o consumo das rações foram calculados com base na pesagem dos animais no início do experimento, no 8º, 20º e no 28º dia e da ração fornecida e das sobras. As rações eram fornecidas diariamente e as sobras eram pesadas, identificadas e armazenadas em freezer para, posteriormente, serem analisadas para determinação do teor de matéria seca. Os dados de desempenho foram submetidos à análise de variância utilizando-se o GLM do SAS (12).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de pH das silagens de grãos úmidos de milho moído (3,80 e 4,00) e de grãos úmidos de milho moído acidificado (4,11) ficaram próximos da faixa considerada mais adequada para a conservação de grãos úmidos, que é de 3,8 a 4,2 (13), contudo, os grãos úmidos de milho moído preservado com 2,4% de propionato de cálcio apresentou pH de 4,8 (Tabela 3). Resultados semelhantes foram obtidos por Johnson et al. (14), que verificaram valores de pH de 4,05 e 3,86 para silagens de grãos úmidos de milho e Castro et al. (15), que observaram pH de 3,92 para silagem de grãos úmidos de milho. O milho seco apresentou valor de pH de 5,77, muito próximo dos valores encontrados por outros autores (2, 15, 16)

O diâmetro geométrico médio das partículas (DGM) de MSM foi menor do que da SGUM (Tabela 3) e encontra-se próximo do limite superior do intervalo de 500 a 650 μ m, recomendado por Zanotto et al. (17) e Zardo e Lima (18) para a moagem do milho seco usado em rações de suínos. Os valores de DGM das silagens e do milho preservado com ácido propiônico foram semelhantes àqueles determinados por Lopes et al. (19, 20).

Tabela 3. Valores médios de pH, diâmetro geométrico médio (DGM) e perfil de ácidos orgânicos do milho seco moído (MSM), das silagens de grãos úmidos de milho moído e dos grãos úmidos de milho moído preservado com 2,4% propionato de cálcio (GUMA).

Variável	MSM	SGUM ¹	SGUMA ²	SGUM ³	GUMA
pH	5,77	3,80	4,11	4,00	4,80
DGM (µm)	653	1205	1285	1,115	1,153
Total de ác.orgânicos (% MS)	----	0,87	3,23	0,83	1,92
Lático (%)	----	61,16	40,12	22,33	11,50
Acético (%)	----	25,69	36,07	37,56	7,31
Propiônico (%)	----	12,18	23,81	28,62	80,15
Butírico (%)	----	0,97	0	11,49	1,04

¹Silagem de grãos úmidos de milho moído usada no experimento I; ² silagens de grãos úmidos de milho moído acidificado usada no experimento I; ³ Silagem de grãos úmidos de milho moído usada no experimento II.

A adição de 1,2% de propionato de cálcio nos grãos úmidos de milho moído para a produção de silagem alterou a relação de ácidos orgânicos da SGUMA, reduzindo a porcentagem relativa dos ácidos lático e butírico e aumentando a dos ácidos acético e propiônico (Tabela 3). Quando se adicionou 2,4% de propionato de cálcio nos grãos úmidos de milho moído, o perfil de ácidos orgânicos do produto GUMA foi totalmente alterado e verificou-se predominância do ácido propiônico, o que já era esperado (Tabela 3).

O maior teor de ácido lático é indicativo de silagem de melhor qualidade, enquanto o teor de ácido butírico indica perdas significativas de matéria seca, redução da aceitabilidade e da estabilidade da silagem. Segundo Mahanna (21), em silagem de grãos úmidos de boa qualidade o ácido lático deve ser dominante e estar presente de 1 a 3%, o butírico e acético em níveis menores que 0,1% e o propiônico em torno de 1% na matéria seca da silagem, ou seja, em relação aos demais ácidos orgânicos, o lático deve variar de 24 a 73% e que o ácido butírico deve ter valor menor ou igual a 2,4%.

O perfil de ácidos orgânicos indicou melhor qualidade para a SGUM e SGUMA usadas no primeiro experimento e pior qualidade para a SGUM avaliada no segundo experimento (Tabela 3). Considerando que o teor de umidade dos grãos, a granulometria e as técnicas de enchimento, compactação e vedação dos silos foram semelhantes em ambos os experimentos, este resultado talvez possa ser explicado pela diferença de temperatura ambiente e, conseqüentemente, da atividade microbiana durante a ensilagem.

No experimento não houve efeito dos tratamentos ($P>0,05$) no consumo diário de ração em nenhum dos períodos (Tabela 4). O ganho diário de peso e a conversão alimentar nos primeiros sete dias foram piores ($P<0,05$) nos leitões que receberam SGUMA, comparado àqueles que receberam MS, embora no período total estudado não tenha havido diferenças entre os tratamentos ($P>0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4. Valores médios consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) dos leitões no experimento I¹.

Variável	Período (dias)	MSM	SGUM	SGUMA	CV (%)
CDR (g) ²	0 - 7	686 a	633 a	657 a	13,00
CDR (g) ²	0 - 30	933 a	905 a	961 a	8,63
GDP (G) ³	0 - 7	579 b	544 ab	519 a	12,74
GDP (G) ³	0 - 30	559 a	585 a	595 a	8,81
CA	0 - 7	1,19 a	1,16 a	1,28 b	8,18
CA ³	0 - 30	1,66 b	1,55 a	1,62 ab	5,66

¹Valores seguidos de mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

²Valores de CDR ajustados para mesma base de matéria seca do milho seco (88,97%).

³Seco x Ensilado ($P<0,05$)

A conversão alimentar dos leitões que receberam SGUM foi melhor ($P<0,05$) nos primeiros sete dias comparada com aqueles que receberam ração com SGUMA (Tabela 4), não demonstrando vantagem do uso de propionato de cálcio como aditivo no processo de ensilagem. O emprego do ácido propiônico têm sido eficiente na restrição do crescimento fúngico, mas seu uso é limitado pelo alto custo (5). A utilização de ácidos orgânicos, portanto, seria indicada em condições desfavoráveis à fermentação natural, como o baixo teor de umidade dos grãos (<26%), condições inadequadas de armazenamento, esvaziamento lento do silo, histórico de aquecimento ou presença de fungos ou quando fosse necessária a transferência do material ensilado de um lugar para outro (5).

A comparação do desempenho dos animais alimentados com ração contendo milho seco ou silagens por análise de contrastes no experimento I, revelou piora no ganho diário de peso ($P<0,05$) na primeira semana daqueles que receberam silagens (Tabela 4), provavelmente devido ao fato dos leitões estarem se adaptando às silagens, que propiciaram rações mais ácidas e com maior DGM das partículas, causando redução de aproximadamente 6% no consumo médio neste período. Por outro lado, no período total de creche, o ganho diário de peso e a conversão alimentar dos leitões alimentados com rações com silagem foram melhores ($P<0,05$).

Melhores respostas no desempenho, especialmente na conversão alimentar, também foram verificadas por Tse et al. (2), Oliveira et al. (4), Castro et al. (15), Tofoli et al. (16) e Lopes et al. (19, 20), quando forneceram rações com silagem de grãos úmidos de milho para leitões na fase de creche, o que foi atribuído às alterações estruturais que ocorrem no endosperma do milho ensilado (19, 20, 22) e ao pH das rações com silagem (2).

O processo de ensilagem provoca alterações no endosperma dos grãos, como o rompimento da matriz protéica (19, 20, 22) e modificações estruturais nos grânulos de amido (22), favorecendo a digestão. Além disso, o menor pH das silagens pode ter favorecido a redução do pH no estômago, contribuindo para maior taxa de retenção da digesta, maior ativação das pepsinas e redução na proliferação de coliformes (23, 24), maior dissociação dos compostos minerais da dieta e melhora da saúde intestinal (25). Segundo Lima et al. (26) e Lopes et al. (27), o processo fermentativo que ocorre na silagem produz um alimento com maior digestibilidade e disponibilidade de energia devido ao baixo pH, favorecendo o desempenho de animais jovens que apresentam reduzida capacidade de acidificação dos alimentos no estômago.

No experimento II, não houve efeito dos tratamentos ($P>0,05$) no consumo diário de ração em nenhum dos períodos, contudo, o ganho diário de peso nos primeiros oito dias, o ganho diário de peso e a conversão alimentar no período total foram melhores ($P<0,05$) nos leitões que receberam rações com SGUM em relação àqueles alimentados com rações contendo GUMA (Tabela 5), demonstrando vantagem da ensilagem em relação à preservação química do milho úmido.

Tabela 5. Valores médios de consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) dos leitões no experimento II¹.

Variável	Período (dias)	SGUM	GUMA	CV (%)
CDR (g)	0 - 8	614 a	592 a	3,32
	0 - 28	1090 a	1102 a	2,63
GDP (G)	0 - 8	461 a	390 b	9,94
	0 - 28	682 a	631 b	3,13
CA	0 - 8	1,33 a	1,55 a	13,37
	0 - 28	1,60 b	1,75 a	5,52

^{ab}Valores seguidos de mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste F ($P>0,05$).

¹Valores de consumo diário de ração (CDR) ajustados para mesma base de matéria seca do milho seco (88,97%).

CONCLUSÕES

A silagem de grãos úmidos de milho apresenta melhor valor nutricional para leitões no período total de creche comparada com grãos de milho seco, pois determina melhora da CA. Não há vantagens no desempenho de leitões com o uso do propionato de cálcio como aditivo no processo de ensilagem ou como preservativo na conservação de grãos úmidos de milho.

REFERÊNCIAS

1. Lovatto PA, Weschenfelder VA, Rossi CAR, Lehnen CR, Andretta I. Porcas lactantes alimentadas com dietas contendo silagem de grãos úmidos de milho e ácidos orgânicos. *Cienc Rural*. 2009;39:1253-6.
2. Tse MLP, Berto DA, Tofoli CA, Wechsler FS, Trindade Neto MA. Valor nutricional da silagem de grãos úmidos de milho com diferentes graus de moagem para leitões na fase de creche. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2006;58:1214-21.
3. Lohmann AC, Pozza PC, Nunes RV, Pozza MSS, Venturi I, Pasqueti TJ. Digestibilidade da silagem de grãos úmidos de milho com diferentes granulometrias para suínos. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2010;62:154-62.
4. Oliveira RP, Furlan AC, Moreira I, Fraga AL, Bastos AO. Valor nutritivo e desempenho de leitões alimentados com rações contendo silagem de grãos úmidos de milho. *Rev Bras Zootec*. 2004;33:146-56.
5. Costa C, Monteiro ALG, Berto DA, Lopes ABR. Impacto do uso de aditivos e/ou inoculantes comerciais na qualidade de conservação e no valor alimentício de silagens. In: *Anais do Simpósio sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas; 2001, Maringá*. Maringá: Universidade Estadual de Maringá; 2001. p.87-126.
6. Hoffman P, Possin I. Adding organic acids to high moisture corn. Marshfield; 2001 [cited 2001 Set 16]. Available from: <<http://www.uwex.edu/ces/crops/uwforage/HMC-OA.pdf>>.
7. Lynch PB, Hall GE, Hill LD, Hatfield EE, Jensen AH. Chemically preserved high-moisture corns in diets for growing - finishing swine. *J Anim Sci*. 1975;40:1063-9.
8. Juchem S, Rodrigues PHM. Conservação de grãos de cereais sob alta umidade. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo; 1999.
9. Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis*. 14th ed. Washington: AOAC; 1984.
10. Zanotto LD, Bellaver C. Método de determinação da granulometria de ingredientes para uso em rações de suínos e aves. Concórdia: Centro Nacional de Pesquisa Suínos e Aves, Embrapa; 1996. p.1-15. Comunicado técnico, 215.
11. National Research Council. *Nutrient requirements of swine*. 20th ed. Washington: National University Press; 1998.
12. SAS. *User's Guide: Statistics*. Version 8.01. Cary: SAS Institute; 2000.

13. Shaver RD. Colheita e armazenamento de milho para a produção de silagem de alta qualidade para vacas leiteiras. In: Anais do 4º Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos; 2000, Passos. Passos: CONAPEC Jr. & CBRA; 2000. p.63-6.
14. Johnson LM, Harrison JH, Davidson D, Mahanna WC, Shinnors K. Corn silage management: effects of hybrid, maturity, inoculation and mechanical processing on fermentation characteristics. *J Dairy Sci.* 2003;86:287-308.
15. Castro VS, Berto DA, Trindade Neto MA, Biaggioni MAM, Wechsler FS, Silva AMR. Formulação de rações para leitões com base nos nutrientes digestíveis da silagem de grãos úmidos de milho. *Rev Bras Zootec.* 2009;38:1914-20.
16. Tofoli CA, Berto DA, Tse MLP, Wechsler FS, Silva AMR, Trindade Neto MA. Avaliação nutricional da silagem de grãos úmidos de milho com diferentes teores de óleo para leitões na fase de creche. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2006;58:1206-13.
17. Zanotto D, Moticelli C, Mazzuco C. Implicações da granulometria de ingredientes de rações sobre a produção de suínos e aves. In: Anais do Simpósio Latino Americano de Nutrição de Suínos e Aves; 1995, Campinas. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal; 1995. p.166.
18. Zardo AO, Lima GJMM. Alimentos para suínos. Concórdia: Centro Nacional de Pesquisa Suínos e Aves, Embrapa; 1999. p.32. Boletim informativo, 12.
19. Lopes ABRC, Berto DA, Costa C, Muniz MHB, Padovani CR. Silagem de grãos úmidos de milho em rações de suínos em fase inicial dos 8 aos 30 kg. *Bol Ind Anim.* 2001;58:181-90.
20. Lopes ABRC, Berto DA, Costa C, Muniz MHB, Padovani CR. Silagem de grãos úmidos de milho em rações de suínos nas fases de crescimento e terminação. *Bol Ind Anim.* 2001;58:191-200.
21. Mahanna B. Proper management assures high quality silage, grains. *Feedstuffs.* 1994; 10:12-23.
22. Lopes ABRC, Leonel M, Cereda MP, Berto DA. Efeito do processo de ensilagem de grãos úmidos de milho nas características microscópicas do amido. *Braz J Food Technol.* 2002;5:177-81.
23. Berto DA, Lopes ABRC, Costa C. Silagem de grãos úmidos para suínos. In: Anais do Simpósio sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos e Tecnologia da Produção de Rações; 2001, Campinas. Campinas: CBNA; 2001. p.1-6.
24. Sartori JR, Costa C, Pezzato AC, Martins CL, Carrijo AS, Cruz VC, et al. Silagem de grãos úmidos de milho na alimentação de frangos de corte. *Pesqui Agropecu Bras.* 2002;37:1009-15.
25. Jongbloed AW, Mroz Z, Weij-Jongbloed VD, Kemme PA. The effects of microbial phytase, organic acids and their interaction in diets for growing pigs. *Livest Prod Sci.* 2000;67:113-22.

26. Lima GJMM, Souza OW, Bellaver C, Brandalise VH, Viola ES, Gióia DRL. Determinação da composição química e do valor energético de silagem de grão de milho para suínos. In: Anais do 22º Congresso Nacional de Milho e Sorgo; 1998, Recife. Recife: Associação Brasileira de Milho e Sorgo; 1998. p.210-7.
27. Lopes ABR, Berto DA, Costa C, Muniz MHB, Padovani CR. Silagem de grãos úmidos de milho para suínos na fase inicial. In: Anais da 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia; 1999, Porto Alegre. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Zootecnia; 1999. p.124.

Recebido em: 12/11/10

Aceito em: 21/03/12

EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAN RESISTANCE OF *Escherichia coli* ISOLATED OF HEALTHY HENS (*Gallus gallus*)

Adriano Sakai Okamoto¹
Raphael Lucio Andreatti Filho²
Ana Angelita Sampaio Baptista³
Ticiania Silva Rocha⁴

ABSTRACT

Intestinal microbiota of the chickens is composed by many species of bacteria that benefit the host in many ways during its life. When the host is submitted to inadequate treatments with antibiotics, this microbiota suffers a selection trial, becoming resistant to these drugs. It was evaluated the resistance profile of *Escherichia coli* isolated from intestine of healthy posture hens to the antibiotics. From 100 samples analyzed, 83 showed resistance to more than three antibiotics, and two were resistant to all of the tested antibiotics.

Keywords: antibiotics, microbiota, *Escherichia coli*, resistance, hens.

AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *Escherichia coli* ISOLADAS DE GALINHAS (*Gallus gallus*) SAUDÁVEIS

RESUMO

A microbiota intestinal das aves é composta por inúmeras espécies bacterianas que beneficiam o hospedeiro de alguma maneira durante toda sua vida. Quando o hospedeiro é submetido a tratamentos inadequados com antimicrobianos, essa microbiota sofre um processo de seleção, podendo tornar-se resistente a esses medicamentos. Nesse estudo avaliamos o perfil de resistência de amostras de *Escherichia coli* isoladas do intestino de galinhas de postura saudáveis aos antimicrobianos. Das 100 amostras analisadas, 83 apresentaram resistência a mais de três antimicrobianos, sendo que duas amostras foram resistentes a todos os antibióticos.

Palavras-chave: antimicrobianos, microbiota, *Escherichia coli*, resistência, galinhas.

EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *Escherichia coli* AISLADA DE GALLINAS (*Gallus de gallus*) SANAS

RESUMEN

La microbiota intestinal de los pollos se compone de muchas especies bacterianas que benefician al huésped de diversas maneras durante toda su vida. Cuando el huésped es sometido a tratamientos antibióticos inadecuados, este microbiota sufre un proceso de selección y puede llegar a crear resistencia a dichos fármacos. En este estudio, evaluamos el perfil de resistencia de *Escherichia coli* aislada del intestino de gallinas de postura sanas. De

^{1,2} Professor Doctor discipline Avian Pathology FMVZ-UNESP-Botucatu-SP Brazil E-mail: adrisakai@hotmail.com

Address: Department of Veterinary Clinic FMVZ UNESP District of Rubião Junior S/N Botucatu - SP

³ Doctoral Student Avian Pathology FMVZ-UNESP-BOTUCATU-SP

⁴ Msc. Student Avian Pathology FMVZ--UNESP-BOTUCATU-SP

las 100 muestras, 83 presentaron resistencia a más de tres antibióticos y dos de las muestras fueron resistentes a todos los antibióticos probados.

Palabras clave: antibióticos, microbiota, *Escherichia coli*, resistencia, gallinas.

INTRODUCTION

Escherichia coli (*E. coli*) is a Gram negative bacillus, facultative anaerobic, belonging to the family *Enterobacteriaceae*, found colonizing the healthy gut of birds and mammals (1). The pathogenic lineages for birds are named Avian Pathogenic *Escherichia coli* (2), responsible for infections characterized by signs of septicemia, peritonitis, pneumonia, aerossaculitis, pericarditis, onfalitis and salpingitis. The infection caused by *E. coli* represent one of the main problem of the industrial poultry breeding, responsible for economic losses as mortality, decrease of weight and condemnation of carcasses in the slaughterhouse (3). The use of antibiotics in the animal food as "promoters of growth" or in an indiscriminate way under the form of sub or over dosage (3), increases the resistance genes selection pressure to the antibiotics for multiresistant bacterial lineages (4).

Studies have shown the resistance genes transmission between the micro-organisms. This fact has become a concerning a public health problem, as the genes of resistance may be transfered to pathogenic bacteria that can infect the humans (5). Many species of the family *Enterobacteriaceae* present in the gut of healthy birds are frequently exposed to several antibiotics during the life of the animal (6). The present study evaluated the profile of resistance to 12 antibiotics in isolated of *E. coli* obtained from the excrements of adult healthy hens, without intestinal signs.

MATERIAL AND METHODS

One hundred samples of *E. coli* obtained from the healthy posture hens excrements were used. The samples were isolated utilizing swab of cloaca, and cultivated in ágar MacConkey, in conditions of aerobiosis, to 37° C, for 24 hours. The characteristic colonies were submitted to the biochemical analysis. For the achievement of the sensitiveness test to the antibiotics, the colonies identified like *E. coli* were submitted to the diffusion standard test with disks (7), utilizing 12 antibiotics: cefalexin (30µg), gentamicin (10µg), enrofloxacin (5µg), norfloxacin (10µg), doxiciclin (30µg), florfenicol (30µg), cloranfenicol (30µg), neomycin (30µg), amoxicillin (10µg), tetracilin (30µg), ampicillin (10µg) and penicillin (10µg).

The results were submitted to the statistical analysis, using the program SAS (table 1).

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows the antibiogram results. From 100 samples of *E. coli*, just two (2%) showed itself sensitive to all the tested antibiotics, 15 presented resistance to one or two antibiotics and the other samples were resistant to three or more antibiotics; two of them were resistant simultaneously to the 12 tested antibiotics. Zao et al (8) described similar results when evaluating 95 isolated samples of *E. coli*, in which 71% were resistant to five or more antibiotics.

Table 1. Sensitivity and resistance by 100 bacterial strains of *Escherichia coli* from the normal intestinal microbiota of hens.

Antimicrobial	% sensibility/ % resistance	Risk of bacterial resistance		
		RAP	CI 95%	Value P
Penicillin	0/100	Reference	Reference	NA
Amoxicillin	17/83	0,049	0,01-0,38	<0,004
Ampicillin	0/100	1,0	0,06-16,21	>0,1
Cefalexin	25/75	0,03	0,004-0,23	<0,001
Cloranfenicol	85/15	0,002	0,001-0,01	<0,0001
Doxiciclin	50/50	0,01	0,001-0,07	<0,0001
Enrofloxacin	75/25	0,003	0,001-0,02	<0,0001
Florfenicol	67/33	0,005	0,001-0,04	<0,0001
Gentamicin	75/25	0,003	0,001-0,02	<0,0001
Neomicin	0/100	1,0	0,06-16,21	>0,1
Norfloxacin	50/50	0,01	0,001-0,07	<0,0001
Tetraciclin	50/50	0,01	0,001-0,07	<0,0001

RAP: Ratio of adjusted proportions;

CI 95%: Confidence interval 95% probability;

NA: Not Applicable.

Neomicin and ampicillin were not effective for the isolated samples. Blanco et al. (4) observed resistance in 46% of the isolated sample for ampicillin and 79% for neomicin when evaluating 310 isolated samples, differing from the results found in this study. The antibiotic which showed the best effectiveness facing the 100 isolated samples was cloranfenicol with 85% of sensitiveness. Zao et al. (8) observed 89% of sensitiveness of *E. coli* to this antibiotic. The prescription of antibiotic for healthy birds, in subtherapeutic concentrations for prolonged time, exposes microbiota to a selective pressure, enabling the acquisition of resistance genes to the antibiotics. The intestinal lumen complex, where a great amount of bacteria interacts in very limited space, represents an ideal niche for studies in vivo of the resistance genes transfer between different species and gender (9).

The occurrence of multiresistant samples of *E. coli* from animal origin is concerning to the world health organization (10). Another prominent point resides in the fact of the majority of the antibiotics available in the market are based on ampicillin or neomicin that, coincidentally are broadly used in the human and veterinary medicine. However, these drugs of the group showed have low or no efficiency against all the samples tested, fact that can be consequence of the inappropriate use of the antibiotics in the poultry breeding.

CONCLUSION

Escherichia coli samples isolated from excrements of healthy birds were resistant to the antibiotics, fact that is a great problem for the poultry breeding and public health with dissemination risk of multiresistant gene to the antimicrobians to other microorganisms including the pathogenic ones.

REFERENCES

1. Mokady D, Godhna U, Ron EZ. Extensive gene diversity in septicemic *Escherichia coli* strains. J Clin Microbiol. 2005;43(1):66-73.
2. Dho-Moulin M, Fairbrother JM. Avian pathogenic *Escherichia coli* APEC. Vet Res. 1999; 30(2-3):299-313.

3. Ferreira AJP, Knöbl T. Colibacilose aviária. In: Berchieri Junior A, Macari M. Doenças das aves. Campinas: Facta; 2000. p.197-207.
4. Blanco JE, Blanco M, Mora A, Blanco J. Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain. J Clin Microbiol. 1997;35(8):2184-5.
5. Wegner HC, Bager F, Aarestrup FM. Surveillance of antimicrobial resistance in humans, food stuffs and livestock in Denmark. Euro Surveill. 1997;3(2):17-9.
6. Smith JL, Drum DJV, Dai Y, Kim JM, Sanchez S, Maurer J, et al. Impact of antimicrobial usage on antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* strains colonizing broiler chickens. Appl Environ Microbiol. 2007;73(5):1404-14.
7. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol. 1966;45(4):493-6.
8. Zhao S, Maurer JJ, Hubert S, De Villena JF, McDermott PF, Meng J, et al. Antimicrobial susceptibility and molecular characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* isolates Vet Microbiol. 2005;107(3-4):215-24.
9. Schjørring S, Struve CE, Krogfelt KA. Transfer of antimicrobial resistance plasmids from *Klebsiella pneumoniae* to *Escherichia coli* in the mouse intestine. J Antimicrob Chemother. 2008;62(5):1086-93.
10. Martins IS, Nogueira IA, Conceição M, Brasil P. Recomendações para o uso adequado dos antimicrobianos. Rio de Janeiro: Secretária de Estado de Saúde; 1998 [cited 2009 Set 21]. Available from: <<http://www.saude.rj.gov.br/cecih/Antimicrobianos.doc>>.

Recebido em: 13/01/11

Aceito em: 27/03/12

HISTOPATHOLOGY IN VETERINARY DERMATOLOGY: HISTORICAL RECORDS OF THIRTY YEARS OF DIAGNOSIS AT THE DEPARTMENT OF PATHOLOGY OF BOTUCATU MEDICAL SCHOOL, UNESP (1977-2007)

Luiz Henrique de Araújo Machado¹
Viciany Erique Fabris²
Rafael Torres Neto³
Jéssica Corrêa Rodrigues⁴
Fernanda Cristina Oliveira⁴

ABSTRACT

The aim of the present study is to report all histopathological exams in veterinary dermatology performed during the period of 1977 to 2007 at the Department of Pathology of Botucatu Medical School, UNESP, in partnership with the Veterinary Medicine School and private veterinary clinicians. During this period, 1,534 cases were examined and the results were grouped and presented according to origin, species, breed, age, gender, annual distribution, anatomical localization of lesions and disease category (allergic, neoplastic tumors, non-neoplastic tumors, bacterial, fungal, immune-mediated, parasitic, endocrine, keratinization defects, psychogenic, acquired alopecias, genodermatosis, nutritional and miscellaneous). The results of this study evidenced that, in most cases, the establishment of a precise diagnosis is impaired due to missing information in exam requisition forms or errors in material collection and that standardization of these procedures is fundamental for reliable results.

Keywords: veterinary dermatology, histopathology, diagnosis.

A HISTOPATOLOGIA NA DERMATOLOGIA VETERINÁRIA: LEVANTAMENTO HISTÓRICO DE TRINTA ANOS DE DIAGNÓSTICO NO DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNESP (1977-2007)

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi fazer um levantamento de todos os exames histopatológicos em dermatologia veterinária realizados entre 1977 e 2007 no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, em parceria com a Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP e clínicos veterinários particulares. Durante este período, 1534 casos foram examinados e os resultados foram agrupados e apresentados de acordo com a origem, espécie, raça, idade, sexo, distribuição anual, localização anatômica das lesões e categoria da doença (alérgica, neoplásica, tumores não-neoplásicos, bacterianas, fúngicas, imunomediadas, parasíticas, endócrinas, defeitos de queratinização, psicogênicas, alopecias adquiridas, genodermatose, nutricionais e miscelânea). Os resultados do presente estudo evidenciaram que, na maioria dos casos, a impossibilidade de se estabelecer um diagnóstico

¹ Prof. Ass. Dr. Botucatu Veterinary Medicine School, UNESP – São Paulo State University; Department of Clinics, Distrito de Rubião Jr. S/N. Botucatu – SP – Brasil, CEP 18618-000, henrique@fmvz.unesp.br, (14) 3811-6280

² Prof. Ass. Dr. Botucatu Medical School, UNESP - São Paulo State University; Department of Pathology, Distrito de Rubião Jr. S/N. Botucatu – SP – Brasil, CEP 18618-000, vfabris@fmb.unesp.br, (14) 38116238

³ PhD. Botucatu Veterinary Medicine School, UNESP – São Paulo State University; Department of Clinics, Distrito de Rubião Jr. S/N. Botucatu – SP – Brasil, CEP 18618-000, rphtorres@yahoo.com.br, (14) 3811-6280

⁴ Student. Botucatu Veterinary Medicine School, UNESP – São Paulo State University. Distrito de Rubião Jr. S/N. Botucatu – SP – Brasil, CEP 18618-000, rphtorres@yahoo.com.br, (14) 3811-6280. espertavet@yahoo.com.br

preciso é devida a erros no preenchimento das requisições ou na colheita de material e que a padronização destes procedimentos é fundamental para assegurar resultados confiáveis.

Palavras-chave: dermatologia veterinária, histopatologia, diagnóstico.

HISTOPATOLOGÍA EN DERMATOLOGÍA VETERINARIA: ARCHIVOS HISTÓRICOS DE TREINTA AÑOS DE DIAGNÓSTICO DEL DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE BOTUCATU, UNESP (1977-2007)

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue hacer un levantamiento de todos los exámenes histopatológicos en dermatología veterinaria llevados a cabo entre 1997 y 2007 en el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina, UNESP, en conjunto con la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia así como por clínicos veterinarios particulares. Durante dicho período fueron examinados 1534 casos y los resultados fueron agrupados y presentados de conformidad con origen, especie, raza, edad, género, distribución anual, localización anatómica de las lesiones y categoría de la enfermedad (alérgica, tumoral neoplásica, tumoral no neoplásica, bacteriana, fúngica, inmunomediada, parasitaria, endocrina, defecto en la queratinización, psicogénica, alopecias adquiridas, genodermatosis, nutricional y miscelánea). Los resultados del presente estudio hicieron evidente que, en la mayoría de los casos, la imposibilidad para realizar un diagnóstico preciso se debe a errores en el llenado de las requisiciones o en la colección del material y que la estandarización de los procedimientos antes mencionados es fundamental para garantizar resultados confiables.

Palabras clave: dermatología veterinaria, histopatología, diagnóstico.

INTRODUCTION

Previous reports have shown that dermatopathies represent a great part of the cases attended at companion animals' medical centers^{1,2}, which may be partially explained by the repulsive clinical appearance of some cases³. Specific training and continuing education of veterinarians in dermatology, as well as improvement and accuracy of diagnostic techniques and involved procedures are therefore extremely important.

Histopathology is widely used in dermatology and is referred to as one of the most significant diagnostic tools⁴, once an abstract of anamnesis, physical examination and clinical suspicions has been given to the pathologist⁵⁻⁷. Samples should be preferentially obtained from primary lesions, which are considered more representative due to direct evolution of the primary process³. In order to enhance the chances of successful diagnosis, as many fragments as possible should be obtained⁴.

Dermatopathies may be classified into inflammatory, dysplastic, degenerative, neoplastic tumors or non-neoplastic tumors, according to histological alterations observed during dermatopathological examination⁸.

In a recent report, Werner⁹ listed the main dermatohistopathological patterns found in different diseases, including spongiotic, intra-epidermic pustular, interface, perivascular, lichenoid, nodular/difuse dermatitis and pustular folliculites, among others, demonstrating the specificity of dermatopathology.

Data obtained from veterinary hospitals in North America by Sischo et al.¹⁰, have shown that the most frequent dermatological diseases were, in a decreasing order, flea bite

allergic dermatitis, skin neoplasia, bacterial pyodermitis, seborrhea, allergies, demodicosis, scabies, immune mediated dermatosis, endocrine dermatosis and acral lick dermatitis.

Machado, Apelt and Ferreiro¹¹, observed in a period of one year (2000-2001) the occurrence of 28.4% insect bite allergic dermatitis, 12.8% other allergic dermatitis and 7.6% scabies. Meneses et al.¹² reported that the main dermatological diseases of dogs and cats are bacterial diseases, parasitic diseases and fungal diseases, in decreasing order of occurrence.

In a Japanese case study, Nagata and Sakai¹³ reported bacterial, immuno-mediated and endocrine diseases in decreasing order as the most frequent dermatopathies in veterinary practice. In Canada, however, the immuno-mediated diseases have been described as the most frequent, followed by bacterial and endocrine diseases¹⁴.

The aim of the present study is to report the history of 30 years of histopathological examination in veterinary dermatology resulting from the partnership between the Medical and Veterinary Medicine Schools of São Paulo State University – UNESP – Botucatu – Brazil, as well as the partnership between these institutions and private veterinarians.

MATERIALS AND METHODS

All registered data from veterinary histopathological exams processed by the Department of Pathology of Botucatu Medical School, UNESP - Brazil from 1977 until 2007 were analyzed, with a total of 1,534 cases during those 30 years. When requisitions of exams from cases attended to at the Veterinary Hospital of UNESP – Botucatu were not completely filled out, clinical reports were examined in order to obtain missing information. In cases from other facilities this procedure was not possible.

All exams were processed according to standard procedures of fixation, inclusion, slicing, and staining in hematoxylin-eosin and/or other according to clinical suspicions¹⁵.

Data were grouped according to origin, species, breed, age, sex, annual distribution, anatomical localization of lesions or disease category, and were presented as describing absolute or relative number of cases.

RESULTS

Some of the 1,534 cases had more than one fragment examined, thus from 1,970 fragments analyzed, there were 1,599 diagnostic results, demonstrating that some of those animals presented two or more associated diseases. Data are grouped and presented below.

Origin

From 1,534 total cases, 855 (55.7%) were collected at the Veterinary School of UNESP Botucatu, while 679 (44.3%) came from external facilities. The majority of animals (78.3%) were located in São Paulo State (the same region of the Laboratory), but 13.9% of the cases came from distant places, including one case from Portugal. Some of the cases (123) were lacking origin information.

Species

Fragments were obtained from different species of domestic and wild animals, being 1,362 (88.8%) canine, 103 (6.7%) feline, 44 (2.9%) equine, 9 (0.6%) bovine, 2 (0.2%) ovine, 2 (0.2%) swine and 1 animal of each of the following species (0.1% each): mule, snake, rabbit and parrot; 8 (0.5%) fragments were lacking species information.

Breeds

Among canine exams, 21% were from mongrel dogs and 16.5% did not refer to breed in the requisition. From 851 dogs of defined breeds, the most frequent breeds were: Poodle (12.3%), Boxer (9.6%), German Shepherd (9.4%), Akita (6.9%), English Cocker Spaniel (5.6%), Rottweiler (4.9%), Brazilian Terrier (3.9%), Labrador Retriever (3.4%), Teckel (3.2%), Doberman (2.8%), Pinscher (2.8%), Fila Brasileiro (2.7%), American Pit Bull (2.5%), Dalmatian (2.1%), Great Dane (2.0%). Other breeds with lower incidence were: Yorkshire Terrier, Lhasa Apso, English Pointer, Miniature Schnauzer, Siberian Husky, Collie, Weimaraner, Beagle, Bull Terrier, Mastiff, Belgian Shepherd, Sharpei, Basset Hound, English Bulldog, Dogo Argentino, Fox Terrier, Maltese, English Setter, Irish Setter, Chow Chow, Saint Bernard, Border Collie, Pekingese, Shih Tzu, American Cocker Spaniel, Australian Cattle Dog, Pug, Scottish Terrier, Shiba-inn, West Highland White Terrier, Afghanhound, Bernese Mountain Dog, Bracco Italiano, American Bulldog, French Bulldog, Golden Retriever, Neapolitan Mastiff, White Shepherd, Saluki, Sheepdog, Spitz and Newfoundland.

Among feline exams, 58.7% were from mongrel cats and 14.4% did not refer to breed. The other fragments were from two breeds: 71.4% Siamese and 28.6% Persian.

Among equine exams, 51.1% were lacking breed information and 13.3% were mongrel horses. The others were Brazilian Sport Horse (20%), Thoroughbred (20%), American Quarter Horse (20%), Arabian (13.3%), Anglo-Arabian (13.3%), Criollo (6.7%) and Mangalarga (6.7%).

Among bovine exams, 44.4% did not refer to breed and the others were from Holstein (60%) and Nelore (40%) animals.

The two ovine exams were from Île de France and Romney Marsh animals. The exams from parrot, swine, snake and rabbit did not refer to breed.

Age

Age was not provided in 105 exams (6.8%) and, among those with age provided, cows varied from 2 to 84 months (average 25.4 months), dogs varied from 1 to 294 months (average 62.2), horses varied from 24 to 252 months (average 99.4 months), cats varied from 3 to 246 months (average 64.8 months). There was not enough data from the remaining species for evaluation.

Gender

In all species, except bovine, there were similar proportions of fragments from male and female animals. Among bovine, a higher proportion of female was observed, probably accompanying herd distribution.

Annual Distribution

The number of cases examined per year increased along the thirty years evaluated, as shown in Figure 1.

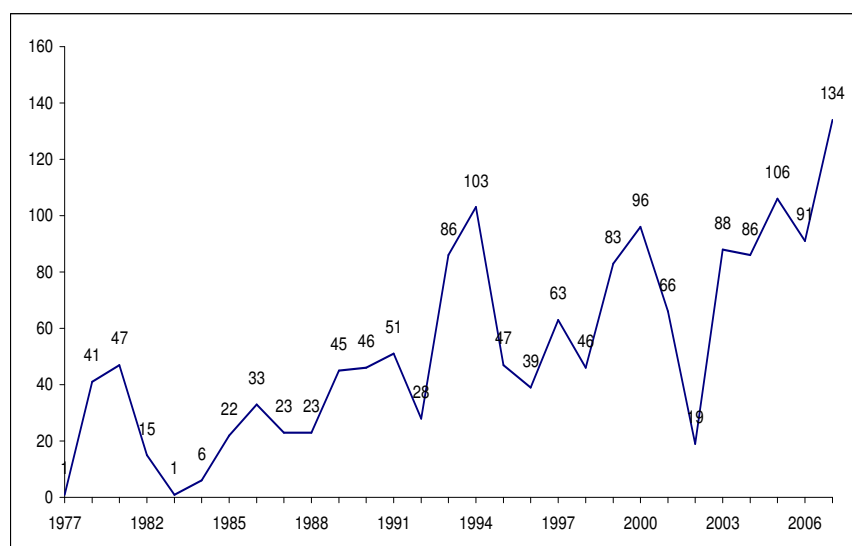


Figure 1. Annual distribution of veterinary histopathological exams performed by the Department of Pathology of the Medicine School of Unesp – Botucatu from 1977 to 2007.

Disease category

The 1,599 diagnoses were grouped and presented in Table 1 according to the classification adopted by Scott et al¹ (Figure 2). In percent values, both the total number of diagnoses and the number of diagnoses in the category are considered.

Table 1. Number of histopathological diagnoses of veterinary fragments examined from 1977 to 2007, grouped according to disease category.

Diseases	Number of diagnoses	% Category	% Total
Allergic skin diseases	410	100	25,6
Non-specific allergic dermatitis	337	82,2	21,1
Atopic dermatitis	29	7,1	1,8
Canine flea allergic dermatitis	13	3,2	0,8
Allergic contact dermatitis	10	2,4	0,6
Eosinophylic folliculitis	8	2,0	0,5
Feline allergic military dermatitis	4	1,0	0,3
Urticaria	4	1,0	0,3
Food allergy	3	0,7	0,2
Culicoides hypersensitivity	1	0,2	0,1
Insect bite hypersensitivity	1	0,2	0,1
Neoplastic Tumors	370	100	23,1
Mammary	63	17,0	3,9
Mast Cell Tumor	43	11,6	2,7
Non-epitheliotropic lymphoma	43	11,6	2,7
Squamous cell carcinoma	36	9,7	2,3
Soft tissue sarcoma	29	7,8	1,8

continues

Table 1 (continued)

Histiocytoma	23	6,2	1,4
Actinic keratosis	22	5,9	1,4
Hemangioma	14	3,8	0,9
Perianal gland adenoma	11	3,0	0,7
Melanoma	10	2,7	0,6
Round cell tumors	7	1,9	0,4
Lipoma	7	1,9	0,4
Melanocytoma	7	1,9	0,4
Fibroma	6	1,6	0,4
Epitheliotropic lymphoma	5	1,4	0,3
Transmissible venereal tumor	5	1,4	0,3
Fibrosarcoma	4	1,1	0,3
Squamous papilloma	4	1,1	0,3
Basal cell carcinoma	3	0,8	0,2
Haemangioendothelioma	3	0,8	0,2
Sebaceous adenoma	3	0,8	0,2
Squamous cell carcinoma in situ	3	0,8	0,2
Apocrine glands carcinoma (anal sac)	2	0,5	0,1
Cutaneous histiocytosis	2	0,5	0,1
Pilomatricoma	2	0,5	0,1
Plasma cell tumor	2	0,5	0,1
Angiomixoma	1	0,3	0,1
Angiolipoma	1	0,3	0,1
Complex mixed apocrine carcinoma	1	0,3	0,1
Ceruminous adenoma	1	0,3	0,1
Lymphangioma	1	0,3	0,1
Equine Sarcoid	1	0,3	0,1
Sebaceous carcinoma	1	0,3	0,1
Trichoblastoma	1	0,3	0,1
Trichoepithelioma	1	0,3	0,1
Papilloma	1	0,3	0,1
Apocrine adenoma	1	0,3	0,1
Bacterial skin diseases	214	100	13,4
Superficial pyoderma	69	32,2	4,3
Deep pyodermas	62	29,0	3,9
Folliculitis	26	12,1	1,6
Pododermatitis	14	6,5	0,9
Mycobacterial granuloma	10	4,7	0,6
Callus pyoderma	5	2,3	0,3
Impetigo	5	2,3	0,3
Abscesses	5	2,3	0,3
Perifolliculitis	5	2,3	0,3
Pyogranuloma	5	2,3	0,3
Nocardiosis	2	0,9	0,1
Necrotizing fasciitis	2	0,9	0,1
Cutaneous pyogranuloma	1	0,5	0,1

continues

Table 1 (continued)

Dermatophylosis	1	0,5	0,1
Furunculosis	1	0,5	0,1
Piogramulomatous dermatitis	1	0,5	0,1
Immune-mediated skin diseases	119	100	7,4
Lupus erythematosus	61	51,3	3,8
Pemphigus foliaceus	19	16,0	1,2
Interface dermatitis	9	7,6	0,6
Uveodermatologic syndrome	8	6,7	0,5
Erythema multiforme	6	5,0	0,4
Necrotizing diseases	4	3,4	0,3
Pemphigus vulgaris	3	2,5	0,2
Cutaneous adverse drug reaction	3	2,5	0,2
Lupus erythematosus discoid	2	1,7	0,1
Vasculitis	2	1,7	0,1
Bullous pemphigoid	1	0,8	0,1
Leukocytoclastic vasculitis	1	0,8	0,1
Parasitic skin diseases	107	100	6,7
Demodicidosis	60	56,1	3,8
Leishmaniasis	21	19,6	1,3
Habronema dermatitis	10	9,3	0,6
Canine scabies	5	4,7	0,3
Cutaneous dirofilariasis	5	4,7	0,3
Ancylostoma dermatitis	3	2,8	0,2
Loxosceles dermatitis	1	0,9	0,1
Feline scabies	1	0,9	0,1
Pelodera dermatitis	1	0,9	0,1
Miscellaneous skin diseases	100	100	6,3
Normal skin	6	6,0	0,4
Fibrosis	13	13,0	0,8
Eosinophilic granuloma	11	11,0	0,7
Color dilution Alopecia	7	7,0	0,4
Eosinophilic ulcer	6	6,0	0,4
Hypermelanosis	5	5,0	0,3
Sterile pyogranuloma	5	5,0	0,3
Ulcerative dermatitis	5	5,0	0,3
Sebaceous adenitis	5	5,0	0,3
Paniculitis	5	5,0	0,3
Follicular atrophy	4	4,0	0,3
Pyotraumatic dermatitis	4	4,0	0,3
Vitiligo	3	3,0	0,2
Photosensibilisation	3	3,0	0,2
Lipomatosis	3	3,0	0,2
Neutrophilic vasculitis	3	3,0	0,2
Equine linear alopecia	2	2,0	0,1
Eosinophilic plaque	2	2,0	0,1
Lupoid onychitis	2	2,0	0,1

continues

Table 1 (continued)

Lymphadenitis	2	2,0	0,1
Alopecia-X	1	1,0	0,1
Scleroderma	1	1,0	0,1
Paronychia	1	1,0	0,1
Autolysis material	1	1,0	0,1
Endocrine Metabolic skin diseases	71	100	4,4
Non specific endocrine diseases	23	32,4	1,4
Hypothyroidism	18	25,4	1,1
Hyperadrenocorticism	15	21,1	0,9
Non specific sex hormonal dermatosis	7	9,9	0,4
Necrolytic migratory erythema	4	5,6	0,3
Hyperestrogenism	2	2,8	0,1
Dermatitis responsive to castration	1	1,4	0,1
Superficial necrolytic dermatitis	1	1,4	0,1
Fungal skin diseases	50	100	3,1
Dermatophytosis	27	54,0	1,7
Sporotrichosis	10	20,0	0,6
Malassezia dermatitis	4	8,0	0,3
Cryptococcosis	3	6,0	0,2
Hyalohyphomycosis	1	2,0	0,1
Hystoplasmosis	1	2,0	0,1
Onychomycosis	1	2,0	0,1
Phaeohyphomycosis	1	2,0	0,1
Equine Phycomycosis	1	2,0	0,1
Pythiosis	1	2,0	0,1
Non-neoplastic tumors	46	100	2,9
Infundibular cyst	14	30,4	0,9
Nodular sebaceous hyperplasia	9	19,6	0,6
Calcinosis cutis	5	10,9	0,3
Nevus collagenous	3	6,5	0,2
Cutaneous papillomatosis	3	6,5	0,2
Lipomatosis	3	6,5	0,2
Fibroepithelial polyp	2	4,3	0,1
Apocrine cyst	2	4,3	0,1
Cutaneous histiocytosis	2	4,3	0,1
Cutaneous inverted papilloma	1	2,2	0,1
Nodular perianal gland hyperplasia	1	2,2	0,1
Cutaneous lymphocytosis	1	2,2	0,1
Keratinization defects	46	100	2,9
Seborrheic dermatitis	41	89,1	2,6
Zinc-responsive dermatosis	4	8,7	0,3
Vitamin A-responsive dermatitis	1	2,2	0,1
Psychogenic skin diseases	24	100	1,5
Acral lick dermatitis	19	79,2	1,2
Feline psychogenic alopecia	5	20,8	0,3

continues

Table 1 (continued)

Acquired alopecias	19	100	1,2
Follicular dysplasia	6	31,6	0,4
Injection reaction	4	21,1	0,3
Postvaccinal alopecia	4	21,1	0,3
Acquired pattern alopecia	3	15,8	0,2
Postclipping alopecia	1	5,3	0,1
Seasonal flank alopecia	1	5,3	0,1
Genodermatosis	8	100	0,5
Acanthosis nigricans	4	50	0,3
Canine dermatomyositis	1	12,5	0,1
Congenital hypotrichosis	1	12,5	0,1
Lymphoedema	1	12,5	0,1
Ehlers-danlos syndrome	1	12,5	0,1
Nutritional skin diseases	1	100	0,1
Generic dog food dermatosis	1	100	0,1
Others	14	100	0,9
Inconclusive	10	71,4	0,6
Biopsy inadequate	4	28,6	0,3

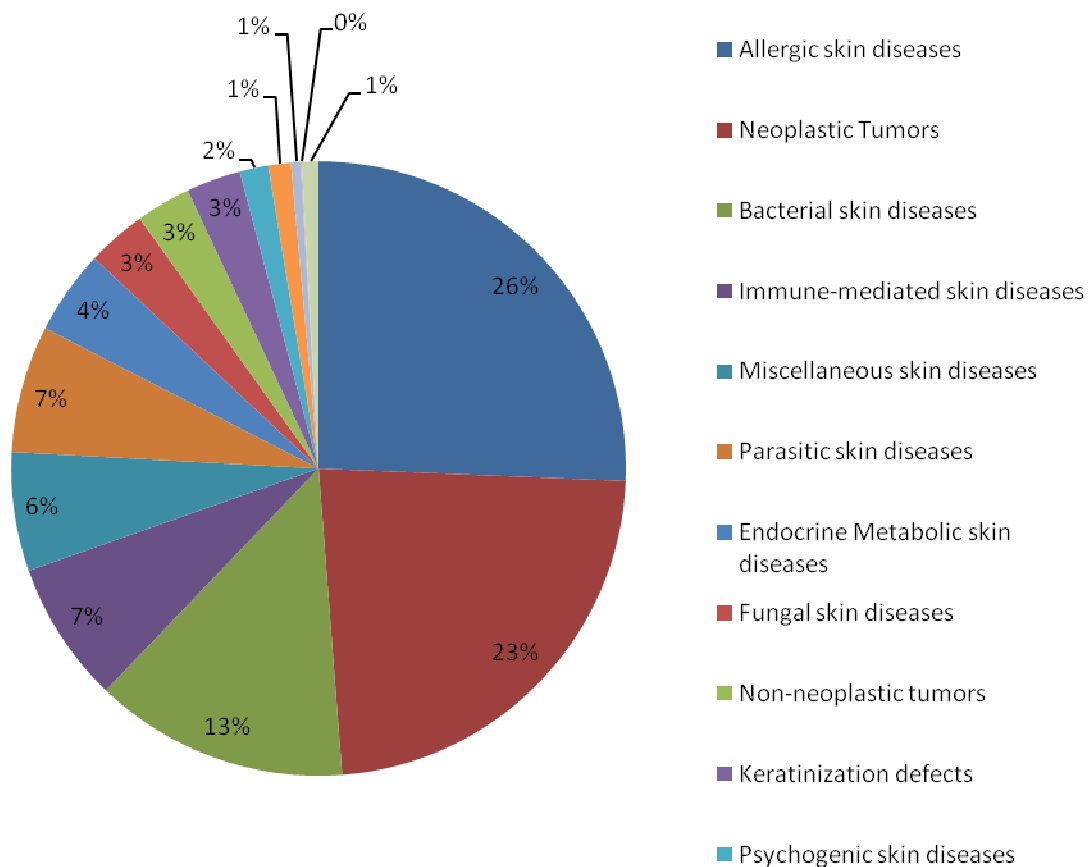


Figure 2: Diagnostic groups

DISCUSSION

In the present historical research, 1,534 histopathological exams were evaluated, representing all of the veterinary cases registered at the Pathology Department of UNESP Botucatu Medical School between the years of 1977 and 2007. The evaluation of these data allowed us to consider several things. First, in agreement with literature reports^{3,5-7}, was that the high number of cases lacking important information in the exam requisition might hinder the establishment of histopathological diagnosis, as the correlation of clinical and microscopical findings is crucial. This study evidenced the need for standardization of collection, fixation, sending, and requisition-filling procedures, in order to avoid that diagnoses are lost or prejudiced because of previous mistakes.

In relation to the geographical origin of the fragments, São Paulo corresponds to the majority of the cases. Many other regions of the country were also verified, including very distant places, which demonstrates not only the dissemination of the technique, but also the lack of qualified professionals to perform histopathological exams and reach reliable diagnoses in veterinary dermatology.

The majority of cases involved small animals, which agrees to our casuistic, mainly composed of dogs and cats, followed by horses and cows. This result demonstrates that histopathology still needs to be explored and developed in large animal dermatology.

In a general evaluation of breeds, it is possible to verify that most animals do not have a defined breed; however, when we exclude mongrel animals, most observed breeds were those that are traditionally common in this country, i.e. Poodle, Boxer and German Shepherd among dogs, Siamese and Persian among cats, Brazilian Jumping, Thoroughbred and Quarter Horse among horses and Holstein and Nelore among cows. Although some requisitions did not provide breed, this information is very important as many diseases may present breed predilection.

Age varied greatly in all species, which demonstrates that, although dermatological conditions are more common in adults as they tend to be chronic, this technique is also useful in young animals.

Gender distinction was not verified in other species except bovine, in which the number of females is naturally higher than the number of males in the herds, as males are slaughtered early.

Annual distribution of histopathology exams allowed us to verify an increasing pattern along years, which demonstrates that this complementary technique has proliferated and been accepted.

Fragments have been collected from all body sites, demonstrating a multifaceted characteristic of skin lesions, and also that this technique is valid, independently of the localization of lesions. Again there were about 12% of cases without information concerning anatomical localization of lesions, interfering with the evaluation of findings.

In agreement to the report of Linder⁴, one of the aspects that we observed was that, in many cases, there was more than one fragment sent for examination from a same case (436/28.4%). The importance of collecting material from several apparent lesions was confirmed by the fact that in 65 of those cases (4.2%) there was more than one diagnosis for the same animal.

In the present study, the most frequent group of cases was allergic skin diseases. According to the literature, the fleabite allergy is the most frequent allergic disease observed in small animal clinics^{16,17}. In our study, however, non-specific allergic dermatitis was more frequent because histopathological findings may be confused among allergic dermatitis, and differentiation requires a detailed report of clinical findings, anamnesis and, sometimes, response to treatment. It is possible that diagnoses would be more precise and specific if exam requisitions had been filled out completely.

The second more frequent group was neoplastic tumors. In the present study, we decided to separate tumors into non-neoplastic and neoplastic and to include mammary tumors in the second group. After mammary tumors, the most frequent diagnoses were mast cell tumors, non-epitheliotropic lymphoma, squamous cell carcinoma and soft tissue sarcoma, respectively, in agreement to other reports^{1,18,19}. Other study of 761 cases of cutaneous tumors reported mesenchymal, epithelial and melanocytic tumors as the most frequent in dogs, respectively²⁰.

The group of bacterial skin diseases was the third most common in this study and superficial pyoderma and deep pyoderma were the two most frequent diagnoses in this group. The correct diagnosis and classification of bacterial lesions is important to avoid the recurrence of symptoms^{1,21}.

Some of the bacterial skin disease diagnoses evidenced the necessity of sending a fragment to bacterial culture and to inform the pathologist because special staining may be necessary. This was the case of mycobacterial granulomas, nocardiosis, necrotizing fasciitis and one case of rhodococcosis in a cat.

In the present report, there was a high incidence of lupus erythematosus and pemphigus foliaceus, which are also common in literature reports. This demonstrates that autoimmune diseases, especially pemphigus foliaceus, lupus erythematosus (cutaneous and systemic), pemphigus erythematosus and bullous pemphigoid, have been diagnosed in veterinary clinic routine. Many of those cases did not present a clear determination of the disease, being reported as interface dermatitis. When the clinical history of those cases was examined, we observed that the fragments were collected over diverse treatments and the use of steroidal anti-inflammatories, which were frequently referred to, may have covered the signs and masked diagnosis.

Observation of parasitic skin diseases demonstrated a high frequency of canine demodicosis, diagnosed by the presence of perifolliculitis, mural folliculitis and follicle rupture, besides the presence of the parasite, in agreement with literature reports¹. The second most frequent parasitic skin disease was leishmaniasis, which is a very important zoonotic disease whose main reservoir is the dog²². In the present study, cases were considered positive when fragments presented amastigote forms of the parasite on histopathology, confirmed by serological indirect immunofluorescent assay.

With regard to canine scabies, histopathology is usually inconclusive, unless the parasite is seen in the biopsy²³ and, although this is a very common condition in veterinary dermatology in Brazil, there were few diagnoses of this disease in the present study. This may have been due to the fact that this condition is commonly diagnosed by skin scrapings. When we verified the anamnesis and clinical findings of the cases diagnosed as scabies in this study, however, we observed that they did not present the typical clinical pattern and that they pointed to other clinical suspicions, thus demonstrating the importance of histopathological exams to diagnose these cases.

The most frequent endocrine skin diseases observed in the present study were hypothyroidism and hyperadrenocorticism, but when we consider the number of non-specific endocrine skin diseases and non-specific sex hormonal dermatosis, we can verify that there was difficulty in safely differentiating endocrine diseases by histopathology. It is known that if specific findings for a definite endocrinopathy (e.g. mucinosis for hypothyroidism or acromegaly, calcinosis cutis for hyperadrenocorticism) are not present, histopathological findings of endocrinopathies are similar and may not reveal the origin of the problem. Part of this difficulty may have been worsened by the poor description of anamnesis, clinical and laboratorial findings, thus it was preferable to confirm only endocrine disease and suggest clinical re-evaluation and more specific tests.

According to the literature, dermatophytosis is a follicular disease and its clinical signs are essentially a reflex of damages caused to hair follicles and subsequent inflammation²⁴.

Definitive diagnosis may be established by direct mycological examination²⁵ or fungal culture²⁶, although histopathology may be used²⁷. In the present study, we observed that histopathology was useful in cases where fungal culture presented negative results for dermatophytes and even in cases in which this exam was not performed. We also verified that other fungal diseases undetectable in culture for dermatophytes were observed, such as sporotrichosis, malassezia dermatitis and criptococcosis.

Among psychogenic skin diseases, only two diseases were found and markedly separated according to species, being acral lick dermatitis in dogs, and feline psychogenic alopecia in cats. From the histopathology point of view, acral lick dermatitis lesions often demonstrate characteristics of this disturbance, but they are not diagnostic *per se*^{1,8}.

In smaller number of cases, acquired alopecias, genodermatosis and nutritional skin diseases were also diagnosed and the most frequent were follicular dysplasia, acanthosis nigricans and generic dog food dermatosis, respectively.

Histopathology techniques have passed through evolution along the years and have led to the development of immunohistochemistry, in which specific cell markers are used and alterations are classified according to immunomorphological characteristics. This technique is not yet widely spread in veterinary medicine due to the high cost of markers and the lack of known specific markers²⁸. This technique is, however, being widely studied for many purposes and, in our routine, has been used in cases of neoplastic tumors, especially canine round cell tumors, which may optimize treatment and prognosis.

Another use of the images obtained in histopathology is the attempt to establish patterns of relationship between cells. Although there is a tendency to consider live beings as complex machines guided by their DNA, it is nowadays accepted that this DNA is reorganized in response to alterations inside or outside these organisms²⁹. This knowledge has allowed the establishment of the “cell sociology” concept, which proposes the investigation of an inter-relationship between cell function and its position inside the tissue³⁰.

It is probable, therefore, that in a short period of time, both techniques – immunohistochemistry and cell sociology – will become part of routine histopathology exams in veterinary dermatology.

The present study demonstrates the importance of histopathology as a diagnostic tool in veterinary dermatology, and to standardize this technique of sampling and data collection history is essential to ensure reliable results. This report also presents an overview of the history of histopathology in veterinary dermatology. With this report we hope to have contributed to the development of veterinary dermatology, which is increasingly important in veterinary clinics and hospitals worldwide.

ACKNOWLEDGEMENT:

During the period studied in this report, there were some professionals involved in histopathological exams in veterinary dermatology, in addition to Dr. Viciany E Fabris, who was responsible for the great majority of cases during the period of 1977-2007. The authors acknowledge Dr. Maria Cristina F. I. de Mattos, Dr. Noeme S. Rocha and Dr. Mariângela E. A. Marques, who fight even today for the dissemination and improvement of this diagnostic technique.

REFERENCES

1. Scott DW, Miller WH, Griffin CE. Muller and Kirk's dermatologia de pequenos animais. 5ª ed. Rio de Janeiro: Interlivros; 1996.

2. Cavalcanti MP, Faustino MAG, Gomes Filho JB, Alves LC. Frequência de dermatófitos saprófitas em caninos e felinos com sintomatologia sugestiva de dermatopatia micótica atendidos no Hospital Veterinário da UFRPE. *Clin Vet.* 2003;8(43):24-8.
3. Conceição LG, Loures FH, Clemente JT, Fabris VE. Biopsia e histopatologia da pele: um recurso valioso na dermatologia – revisão – parte 1. *Clin Vet.* 2004;9(51):36-43.
4. Linder KE. Skin biopsy site selection in small animal dermatology with an introduction to histologic pattern-analysis of inflammatory skin lesions. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2001;16:207-13.
5. Ihrke PJ, Stannard AA, Ardans A, Griffin CE. Pemphigus foliaceus in dogs: a review of 37 cases. *J Am Vet Med Assoc.* 1985;186:59-66.
6. Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ. *Veterinary dermatopathology: a macroscopy and microscopic evaluation of canine and feline skin disease.* St. Louis: Mosby; 1992.
7. Ackermann AB. *Histologic diagnosis of inflammatory skin diseases.* 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997.
8. Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK. *Skin diseases of the dog and cat: clinical and histopathologic diagnosis.* 2nd ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2005.
9. Werner J. Padrões dermatohistopatológicos no diagnóstico dermatológico. *Clin Vet.* 2008;13(73):38-42.
10. Sischo WM, Ihrke PJ, Franti CE. Regional distribution of 10 common skin diseases in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1989;195:752-6.
11. Machado MLS, Appelt CE, Ferreiro L. Dermatófitos e leveduras isolados da pele de cães com dermatopatias diversas. *Acta Sci Vet.* 2004;32:225-32.
12. Meneses AMC, Cardoso MJL, Franco SRVS, Abe KC. Ocorrência das dermatopatias em cães e gatos. *Rev Bras Cienc Vet.* 2000;7 Suppl:90.
13. Nagata M, Sakai T. Clinical survey of canine dermatosis in Japan. *J Japan Vet Med Assoc.* 1999;52:775-9.
14. Scott DW, Paradis M. A survey of canine and feline skin disorders seen in a university practice: small animal clinic, University of Montreal, Saint-hyacinthe, Quebec (1987-1988). *Can Vet J.* 1990;31: 830-5.
15. Luna LG. *Manual of histological staining methods of armed forces institute of pathology.* Washington: McGraw Hill; 1968.
16. Sousa CA, Halliwell REW. The ACDV task force on canine atopic dermatitis (XI): the relationship between arthropod hypersensitivity and atopic dermatitis in the dog. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81:233-7.
17. Wilkerson MJ, Bagladi-Swanson M, Wheeler DW, Craig C, Lee KW, Dryden M. The immunopathogenesis of flea allergy dermatitis in dogs, an experimental study. *Vet Immunol Immunopathol.* 2004;99:179-92.

18. Patnaik AK, Ehler WJ, Macewen EG. Canine cutaneous mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Vet Pathol.* 1984;21:469-74.
19. Moulton JE. *Tumors in domestic animals.* 3rd ed. California: University of California Press; 1990.
20. Souza TM, Figuera RA, Irigoyen LF, Barros CSL. Estudo retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cães. *Cienc Rural.* 2006;36:555-60.
21. Curtis CF, Lamport AI, Lloyd DH. Masked, controlled study to investigate the efficacy of a staphylococcus intermedius autogenous bacterin for the canine idiopathic recurrent superficial pyoderma. *Vet Dermatol.* 2006;17:163-8.
22. Slappendel RJ, Ferrer L. Leishmaniasis. In: Greene CE, editor. *Infectious diseases of the dog and cat.* Philadelphia: Saunders; 1998. p.450-8.
23. Curtis CF. Current trends in the treatment of Sarcoptes, Cheyletiella and Otodectes mite infestations in dogs and cats. *Vet Dermatol.* 2004;15:108-14.
24. Moriello KA. Treatment of dermatophytosis in dogs and cats: review of published studies. *Vet Dermatol.* 2004;15:99-107.
25. Monod M, Baudraz-Rosselet F, Ramelet AA, Frenk E. Direct mycological examination in dermatology: a comparison of different methods. *Dermatologica.* 1989;179:183-6.
26. Brilhante RSN, Cavalcante CSP, Soares-Junior FA, Cordeiro RA, Sidrim JJC. High rate of *Microsporum canis feline* and canine dermatophytosis in northeast Brazil: epidemiological and diagnostic features. *Mycopathologia.* 2003;156:303-8.
27. Moriello KA. Diagnostic techniques for dermatophytosis. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2001;16:219-24.
28. Milner RJ, Pearson J, Nesbitt JW, Close P. Immunophenotypic classification of canine malignant lymphoma on formalin-fixed paraffin wax-embedded tissue by means of CD3 and CD79a cell markers. *Onderstepoort J Vet Res.* 1996;63:309-13.
29. Baker PL. Chaos, order and sociological theory. *Sociol Inq.* 1993;63:123-50.
30. Morel D, Marcelpoil R, Brugal G. A proliferation control network model: the simulation of two-dimensional epithelial homeostasis. *Acta Biotheor.* 2001;49:19-34.

Recebido em: 06/05/09

Aceito em: 05/04/12

ANÁLISE DOS FATORES RELACIONADOS A 26 CASOS DE DISTOCIA EM CABRAS NO AGRESTE E SERTÃO DE PERNAMBUCO

Antônio Carlos Lopes Câmara¹
Alexandre Cruz Dantas²
Janaina Azevedo Guimarães²
José Augusto Bastos Afonso²
Maria Isabel de Souza²
Nivaldo de Azevedo Costa²
Carla Lopes de Mendonça²

RESUMO

O presente trabalho objetiva relatar os principais tipos de distocias em cabras, no Agreste e Sertão de Pernambuco, avaliar os fatores relacionados com sua ocorrência e determinar a eficiência do tratamento utilizado (manobra obstétrica ou cesariana pelo flanco esquerdo). A maior incidência de partos distócicos ocorreu na estação chuvosa, com 84,6% dos casos. Os resultados mostraram predominância de distocias de origem materna (57,7%) sobre a fetal (42,3%), com maior incidência em cabras multíparas, mestiças e com gestações simples. A principal distocia materna foi a ausência ou dilatação cervical insuficiente, e fetal, alterações de atitude. A taxa de sobrevivência das mães alcançou 100 e 56,25%, enquanto suas crias atingiram 54,5 e 25%, após manobra obstétrica e cesariana, respectivamente, com predominância de cabritos vivos na primeira, e abortamentos na última. As manobras obstétricas e a cesariana pelo flanco esquerdo permanecem como opções seguras para o tratamento das distocias em cabras, quando realizadas em animais sem acentuada debilidade corporal ou endotoxemia grave, e também são importantes coadjuvantes, minimizando o impacto econômico causado por este distúrbio no Estado de Pernambuco.

Palavras-chaves: cabras, distocias fetais, distocias maternas, índices de sobrevivência, procedimentos obstétricos.

ANALYSIS OF FACTORS RELATED TO 26 DYSTOCIA CASES IN GOATS IN THE AGRESTE AND SEMIARID REGION OF PERNAMBUCO, NORTHEASTERN BRAZIL

ABSTRACT

The aims of the present study were to report the main dystocia causes in goats in Agreste and semiarid region of Pernambuco, evaluate factors related to their occurrence, and determine the efficiency of the treatment choice (obstetrical maneuver or left flank cesarean section). The incidence of dystocia was greatest in the rainy season ((84.6%). Results showed a major predominance of maternal dystocia (57.7%) over fetal dystocia (42.3%) with higher incidence in multiparous crossbreed goats with simple pregnancy. The main maternal dystocia was ringwomb while fetal dystocia was attitude alterations. Maternal survival rate achieved 100% and 56.25%, while kids reached 54.5% and 25% after obstetrical maneuver and cesarean

¹ Hospital Veterinário Jerônimo Dix-Huit Rosado Maia, Setor de Grandes Animais, Universidade Federal Rural do Semi-árido. BR 110, Km 47, Presidente Costa e Silva, Mossoró, RN 59625-900, Brasil. *Autor para correspondência: aclcamara@yahoo.com.br

² Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Cx. Postal 152, Av. Bom Pastor s/n, Mundáu, Garanhuns, PE 55292-901, Brasil.

section, respectively, with predominance of live kids in the former and abortions in the latter. Obstetrical maneuver and left flank cesarean section remain safe options for the treatment of goat dystocia when performed in goats without corporal debility or severe endotoxemia, and are also important coadjutants in minimizing the economical impact that this disturbance causes in the state of Pernambuco, Northeastern Brazil.

Keywords: fetal dystocia, goats, maternal dystocia, obstetrical procedures, survival rate.

ANÁLISIS DE LOS FACTORES RELACIONADOS CON 26 CASOS DE DISTOCIA EN CABRAS EN LA ZONA ÁRIDA DE PERNAMBUCO, NORESTE DE BRASIL

RESUMEN

Este trabajo detalla los principales tipos de distocia en el ganado caprino en las zonas áridas y bosques en el estado de Pernambuco, Brasil, con el objetivo de evaluar los factores relacionados con la aparición de dicho padecimiento y determinar la eficacia del tratamiento utilizado (maniobra obstétrica o cesárea por el flanco izquierdo). La mayor incidencia de distocia se produjo en la temporada de lluvias (84,6% de los casos). Los resultados mostraron un predominio de distocia materna (57,7%) sobre la fetal (42,3%), con mayor incidencia en las cabras múltiparas, mestizas y con gestación no gemelar. La principal distocia materna fue la ausencia o la insuficiencia de dilatación cervical mientras que la fetal fue el cambio de comportamiento. Las tasas de sobrevivencia de las madres representaron 100 y 56,25% después de manejo obstétrico y cesárea y las de las crías alcanzaron 54,5 y 25%, respectivamente, con predominio de cabritos vivos utilizando el primer procedimiento y abortos usando el segundo. El manejo obstétrico y la cesárea por el flanco izquierdo son opciones seguras para el tratamiento de la distocia en cabras, cuando se realizan en animales sin emaciación grave o endotoxemia severa y son también técnicas auxiliares importantes en la minimización del impacto económico causado por este trastorno en la provincia de Pernambuco, Noreste de Brasil.

Palabras claves: cabras, distocia fetal, distocia materna, procedimientos obstétricos, tasas de sobrevivencia.

INTRODUÇÃO

O rebanho caprino brasileiro é estimado em 10,3 milhões de cabeças, com cerca de 92% deste total localizados na Região Nordeste, constituindo um rebanho com aproximadamente 9,5 milhões de animais, dos quais 1,6 milhões de caprinos encontram-se no Estado de Pernambuco (1). Apesar deste número expressivo, a caprinocultura de corte e de leite não progride qualitativamente na proporção de sua importância sócio-econômica. O predomínio de sistemas de exploração do tipo tradicional, com precárias práticas de manejo, associado à estacionalidade na produção de forragens são alguns dos fatores limitantes ao desenvolvimento da caprinocultura na região Nordeste e, em conjunto com a alta mortalidade perinatal, reduzem a eficiência produtiva em todos os tipos de produção de caprinos (2,3).

Dentre as causas de mortalidade perinatal, que atuam individualmente ou em conjunto, incluem-se: abortamentos decorrentes de agentes infecciosos, estresse severo ou deficiência nutricional, malformações resultantes da exposição de fêmeas gestantes a vírus, plantas ou outros agentes teratogênicos, infecções neonatais, especialmente as enterites e pneumonias, predação, condições ambientais adversas, que ocasionam mortes pelo complexo inanição/hipotermia, diversos fatores maternos como raça, nutrição, comportamento e

produção de leite, além das distocias e suas consequências, como anóxia cerebral e lesões das estruturas ósseas ou tecidos moles (3,4).

As causas básicas de distocia podem ser de ordem: hereditária, nutricional, manejo, infecciosa, traumática, mista ou suas combinações. Tradicionalmente, as distocias são divididas naquelas que primariamente são de origem fetal e/ou materna. Frequentemente, a distinção não é muito evidente e um problema pode dar origem ao outro (5). Dentre as principais distocias que acometem cabras destacam-se a distocia fetal, a desproporção feto-pélvica, a obstrução do canal do parto, a inércia e a torção uterina (6), além de em menor frequência, as deformidades fetais congênitas ou não (3,7).

A incidência exata de distocia em caprinos não é bem definida, por isso a importância real de tal complicação na morte de cabras e cabritos permanece pouco conhecida (6). Em caprinos criados na Paraíba, as distocias corresponderam a 12,71% da mortalidade perinatal, sendo superada apenas pelas infecções neonatais com 50% (3,4). A casuística da Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CBG-UFRPE), confirma a importância da distocia nesta espécie, já que do total de 286 cabras atendidas do período de janeiro de 2000 a dezembro de 2009, 26 fêmeas (9,09%) apresentaram complicações obstétricas.

Apesar da existência na literatura nacional de referências sobre a distocia como um fator influenciando a taxa de mortalidade perinatal (3,4), trabalhos com relação à caracterização das distocias em caprinos são escassos. Dessa forma, este estudo foi realizado com os objetivos de relatar os tipos de distocia em cabras, no Agreste e Sertão de Pernambuco, e determinar a eficiência do tratamento (manobra obstétrica e cesariana pelo flanco esquerdo).

MATERIAL E MÉTODOS

As informações foram obtidas a partir das fichas de acompanhamento clínico de 26 fêmeas caprinas com histórico de complicações obstétricas oriundas de municípios do Agreste e Sertão de Pernambuco e atendidas na CBG-UFRPE, no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2009.

Os animais foram examinados clinicamente segundo Diffay et al. (8). Os casos foram classificados como distocia de origem materna ou fetal e, naqueles em que não foi possível a resolução por manobra obstétrica, optou-se por realização da cesariana pelo flanco esquerdo de acordo com Tibary e Van Metre (9).

Nos casos solucionados por meio de manobras obstétricas, os animais receberam alta clínica concomitante e cobertura antibiótica na propriedade (oxitetraciclina LA; 20 mg kg⁻¹; via intramuscular [IM]; 72/72 horas; 2 doses). Os casos cirúrgicos permaneceram internados para acompanhamento pós-operatório com instituição de terapia composta por antibiótico (oxitetraciclina LA; 20 mg kg⁻¹; IM; 72/72 horas; três doses) e antiinflamatório não esteroide (fenilbutazona; 4 mg kg⁻¹; via intravenosa [IV]; 24/24 horas; duas doses). Nas fêmeas portando fetos enfisematosos ou em autólise foram empregados no trans e no pós-operatório: enrofloxacin (2,5 mg kg⁻¹; IM; 24/24 horas; sete doses), flunixin meglumine (2,2 mg kg⁻¹; IV; 24/24 horas; cinco doses) e correção do desequilíbrio hídrico-eletrolítico. Durante o tempo de internamento, a alimentação era à base de forragem de qualidade (capim elefante [*Pennisetum purpureum*] cortado em fibras de 10 cm de comprimento e Tifton [*Cynodon dactylon*]), aproximadamente 200g de concentrado comercial por cabra e água *ad libitum*. Os animais foram, também, estimulados ao exercício em piquetes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os principais tipos de distocia são apresentados na tabela 1. Do total de 26 cabras foi verificado que 15 (57,7%) casos representavam distocias de origem materna, enquanto 11

(42,3%) cabras apresentavam distocias fetais. As principais causas de distocias maternas foram a ausência ou dilatação cervical insuficiente (14 casos) e a inércia uterina (1 caso). Nas distocias de origem fetal foi marcante as alterações de atitude, sendo observado com maior frequência a flexão de carpo e/ou articulação escápulo-umeral (n=5), desvio lateral de cabeça e pescoço (n=2), e desvio lateral de cabeça e flexão dos membros anteriores simultaneamente (n=2); seguida pela desproporção feto-pélvica (n=2). A maior incidência de distocia de origem materna corrobora os achados de Majeed e Taha (10), enquanto em outro estudo, um dos autores reporta a maior incidência de distocia fetal sobre a materna (11).

Tabela 1. Caracterização das principais distocias maternas e fetais em 26 cabras, durante o período de janeiro de 2000 a dezembro de 2009, atendidos na CBG-UFRPE.

Tipo de distocia	Número de casos
Distocia fetal	11^a
Flexão de carpo e/ou articulação escápulo-umeral	5
Desvio lateral de cabeça e pescoço	2
Flexão lateral de cabeça e flexão dos membros anteriores	2
Desproporção feto-pélvica	2
Distocia materna	15^a
Ausência ou dilatação cervical insuficiente	14
Inércia uterina	1
Total	26

^a Número total de casos na categoria.

A maior casuística de distocias maternas pode ser resultante da apresentação simultânea de mais de um feto, alterando a distribuição e pressão na cérvix, e, provavelmente, influenciando sua dilatação, como observado em ovelhas (12), ou decorrentes de possíveis desequilíbrios hormonais e minerais associado à condição física precária de algumas cabras. Os resultados obtidos confirmam relatos anteriores que citam a dilatação cervical ausente ou insuficiente como a causa mais importante de distocia materna e cirurgia obstétrica em caprinos (6,11,13-16). A inércia uterina foi um achado pouco frequente, sendo raramente observada como causa primária de distocia caprina. A hipocalcemia periparto em cabras pode levar a inércia uterina primária (6), enquanto em um estudo na Arábia Saudita, a inércia uterina secundária foi uma complicação importante de obstrução cervical (13). A mais frequente causa de distocia fetal correspondeu a alterações de atitude na apresentação anterior, onde o desvio lateral de cabeça e a flexão de membros anteriores foram as alterações fetais mais observadas, assim como observado em outros estudos (6,11,13). A desproporção feto-pélvica foi observada em duas cabras multíparas gestando apenas um feto macho, sendo correlacionada ao alto peso ao nascer (11). A frequência das distocias fetais neste estudo difere dos resultados de Majeed e Taha (10), onde a desproporção feto-pélvica foi a principal causa de distocia de origem fetal, seguida pela alteração na estática fetal.

Alguns dados epidemiológicos, a prolificidade e o sexo fetal são apresentados na tabela 2. O maior número de distocias ocorreu em cabras mestiças (n=14), seguido por fêmeas da raça Saanen (n=11) e Anglo-Nubiana (n=1), sendo justificado pela predominância de animais Sem Raça Definida na região associado também ao maior incentivo à produção de leite de cabra no Estado de Pernambuco (17). As cabras apresentaram maior risco de distocia durante a estação chuvosa (março a meados de setembro) (84,6%) comparando-se com a estação da seca (outubro a fevereiro) (15,4%). Estes resultados mostraram a ocorrência de partos durante todo o ano comprovando o comportamento poliéstrico desta espécie nos trópicos (18). Associado a isso, acredita-se que a maior incidência de distocias na estação chuvosa deva-se a

maior concentração de partos nesta época para melhor aproveitamento da oferta de forragem durante o período. Do total de 16 fichas clínicas que constavam o número de parto, 10 eram de múltiparas e seis primíparas, enquanto o restante dos proprietários e tratadores não souberam informar tal dado. Pelo fato dos registros reprodutivos, como data de cobertura e número de partos, serem comumente ignorados em diversos criatórios nordestinos, a ausência destas informações em 10 casos poderia influenciar a distribuição dos casos nas categorias (primíparas e múltiparas). Assim, os dados disponíveis diferem da literatura que cita a maior ocorrência de distocia em fêmeas primíparas (10,14,16).

Tabela 2. Dados epidemiológicos, prolificidade e sexo fetal em 26 casos de distocia em cabras, durante o período de janeiro de 2000 a dezembro de 2009, atendidos na CBG-UFRPE.

Variáveis	Número de animais	%
Raça		
Mestiça	14	53,8
Saanen	11	42,3
Anglo-Nubiana	1	3,9
Total	26	100
Estação do ano		
Seca	4	15,4
Chuvosa	22	84,6
Total	26	100
Número de partos		
Primíparas	6	23,2
Múltiparas	10	38,4
Dado ausente	10	38,4
Total	26	100
Prolificidade		
Parto simples	15	57,7
Parto gemelar	9	34,6
Parto triplo	2	7,7
Total	26	100
Sexo Fetal		
Macho	22	56,4
Fêmea	17	43,6
Total	39	100

No tocante à prolificidade, ocorreram 15 partos simples (57,7%), nove gemelares (34,6%) e dois triplos (7,7%), resultando no total de 39 cabritos (22 machos e 17 fêmeas). A literatura cita a maior incidência de distocia em partos gemelares ou triplos (11,14), principalmente por partos múltiplos predispor a estática fetal inadequada (4,6), enquanto outros autores mencionam que a relativa frequência de partos gemelares ou triplos em caprinos diminui a incidência de distocia devido fetos muito grandes (13). Acredita-se que a casuística em Pernambuco decorra principalmente de possíveis deficiências nutricionais e sanitárias, que podem acometer tanto fêmeas com gestações simples ou gemelares. Ainda existe o fato de que a primeira categoria possua maior predisposição a distocia pela possível cobertura de fêmeas que não atingiram a maturidade reprodutiva, e conseqüentemente, apresentarem comprometimento no desenvolvimento da pelve (4).

A manobra obstétrica foi responsável pela obtenção de 11 cabritos, enquanto os procedimentos cirúrgicos resultaram em 28 crias. Entretanto, observou-se viabilidade fetal de apenas 13 cabritos, enquanto os demais consistiram de natimortos, fetos enfisematosos e abortos (Tabela 3). O índice de sobrevivência alcançou 54,5% e 25% após manobra obstétrica

e cesariana, respectivamente, enquanto taxas de sobrevivência das crias variando de 65,2 a 70% após cesariana já foram citadas (15,16). A alta taxa de mortalidade observada (sete fetos natimortos e três enfisematosos/autólíticos) pode ser decorrente da conduta inapropriada do proprietário, além da demora entre o início do trabalho de parto e a procura por atendimento clínico adequado (5). Foi ainda observada a alta percentagem de abortamentos oriundos de manobras obstétricas (27,3%) e cesariana (46,4%), totalizando 16 casos. Acredita-se que o precário manejo sanitário e nutricional instituídos em algumas propriedades possua papel importante na etiologia dos abortamentos em caprinos. Outra hipótese é a ingestão de plantas tóxicas, dentre elas destaca-se o pereiro (*Aspidosperma pyrifolium*), que é abundante na região e responsável por mortalidade embrionária e abortos em caprinos, principalmente durante o período seco (19).

Tabela 3. Viabilidade fetal de 39 cabritos obtidos por manobra obstétrica (n=11) ou cesariana pelo flanco esquerdo (n=28), durante o período de janeiro de 2000 a dezembro de 2009, atendidos na CBG-UFRPE.

Viabilidade fetal	Manobra obstétrica	Cesariana	Total
Vivos	6	7	13
Natimortos	2	5	7
Enfisematosos	0	3	3
Abortos	3	13	16
Total	11	28	39

Dos 16 casos que necessitaram de intervenção cirúrgica (14 distocias de origem materna e duas fetais), nove cabras obtiveram alta clínica no 8º dia pós-cirúrgico após retirada da dermorrafia, enquanto sete vieram a óbito durante o internamento pós-operatório. Diversos autores citam a cesariana como o método mais seguro para o tratamento da distocia caprina quando realizada o mais rápido possível alcançando taxas de sobrevivência materna de até 96,3% (11,14,16). A baixa taxa de sobrevivência encontrada neste estudo se deve a debilidade clínica de alguns animais (n=3) que apresentavam baixo escore corporal, anemia, hipoproteinemia e alta infestação parasitária, confirmando que o parasitismo por nematóides gastrintestinais permanece como um dos fatores limitantes da ovinocaprinocultura brasileira (20). Outro fator relevante foi a presença de três cabras apresentando quadro endotoxêmico devido a presença de fetos enfisematosos, que não responderam satisfatoriamente ao tratamento medicamentoso instituído.

As manobras obstétricas foram realizadas em 10 casos (nove de origem fetal e uma materna) com 100% de sobrevivência das mães confirmando que, assim como em ovelhas, a maioria das distocias envolvendo anormalidades de apresentação ou atitude fetal pode ser corrigida com manipulação cuidadosa (21). A fetotomia parcial foi requerida em dois casos, nos quais o feto mal disposto estava morto e não era passível de movimentação, fato também observado por Jackson (6) que descreve a utilização dessa técnica na mesma circunstância.

Foi verificado que durante o período estudado, 9,09% da casuística da clínica médica de caprinos na CBG-UFRPE foram atribuídos à distocia, alcançando índices de mortalidade de 26,9% (7/26) nas cabras e 66,6% (26/39) nas crias. A partir destes resultados pode-se supor que a distocia é um importante fator de perda econômica no Estado decorrente dos prejuízos diretos e indiretos (maior intervalo entre partos, custo de medicamentos, mortalidade dos animais, dentre outros). Outro aspecto relevante é a importância da distocia em animais de alto valor zootécnico e nos índices de mortalidade perinatal, que pode alcançar até 15% de mortalidade de cabritos em alguns Estados brasileiros (3,4).

CONCLUSÕES

A ausência ou dilatação cervical insuficiente apresentou-se como a principal causa de distocia materna ocasionando cirurgia obstétrica (cesariana) nas cabras analisadas, enquanto a maioria das distocias de origem fetal pôde ser corrigida por meio de manobras obstétricas. As manobras obstétricas e a cesariana pelo flanco esquerdo permanecem como métodos seguros para o tratamento de distocias em cabras, quando realizadas em animais sem acentuada debilidade corporal ou endotoxemia grave, e, também são importantes coadjuvantes, minimizando o impacto econômico causado por este distúrbio no Estado de Pernambuco.

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Brasília; 2006. [cited 2008 Out 20]. Available from: <<http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/page/mapa/estatisticas/pecuaria/3.6.xl>>.
2. Guimarães Filho C, Soares JGG, Araújo GG. Sistemas de produção de carnes caprinas e ovinas no semi-árido nordestino. In: Anais do 1º Sincorte; 2000, João Pessoa. João Pessoa: EMEPA-PB; 2000. p.21-33.
3. Medeiros JM, Tabosa IM, Nóbrega Jr JE, Nóbrega RS, Vasconcelos JS, Riet-Correa F. Mortalidade perinatal em cabritos no semi-árido da Paraíba. *Pesqui Vet Bras.* 2005; 25(4):201-6.
4. Riet-Correa F. Mortalidade perinatal em ovinos e caprinos. In: Riet-Correa F, Schild AL, Lemos RAA, Borges JRJ. *Doenças de ruminantes e equídeos.* Santa Maria: Palotti; 2007. v.2, p.455-65.
5. Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW, Arthur GH. *Arthur's veterinary reproduction and obstetrics.* 8th ed. Philadelphia: Elsevier Science Ltda; 2002.
6. Jackson PGG. Distocia na cabra. In: Jackson PGG. *Obstetrícia veterinária.* São Paulo: Roca; 2006. p.162-6.
7. Palanivel KM, Sathyamoorthy T, George RS, Nagarajan B, Ganesh TN, Veerapandian C. Dystocia due to *Schistosomus reflexus* monster in a goat - a case report. *Tamilnadu J Vet Anim Sci.* 2006;2(4):147.
8. Diffay BC, McKenzie D, Wolf C, Pugh DG. Abordagem e exame de ovinos e caprinos. In: Pugh DG. *Clínica de ovinos e caprinos.* São Paulo: Roca; 2005. p.1-19.
9. Tibary A, Van Metre D. Surgery of the sheep and goat reproductive system and urinary tract. In: Fubini SL, Ducharme NG. *Farm animal surgery.* St. Louis: W.B. Saunders; 2004. p.527-47.
10. Majeed AF, Taha MB. Dystocia in local goats in Iraq. *Small Rumin Res.* 1989;2(4):375-81.
11. Majeed AF. Obstetrical problems and their management in Iraqi goats. *Small Rumin Res.* 1994;14(1):73-8.
12. Thomas JO. Survey of the causes of dystocia in sheep. *Vet Rec.* 1990;127(23):574-7.

13. Rahim AT, Arthur GH. Obstetrical conditions in goats. *Cornell Vet.* 1982;72(3):279-84.
14. Majeed AF, Taha MB. Preliminary study on treatment of ringwomb in Iraqi goats. *Anim Reprod Sci.* 1989;18(1-3):199-203.
15. Ghosh A, Yeasmin F, Alan MGS. Studies of ringwomb in Black Bengal goats. *Theriogenology.* 1992;37(2):527-32.
16. Majeed AF, Taha MB, Azawi OI. Caprine caesarean section. *Small Rumin Res.* 1992; 9(1):93-7.
17. Centro de Abastecimento Alimentar de Pernambuco. Programa leite de Pernambuco – Fome zero. Perfil dos laticínios [folheto]. Recife: CEASA-PE; 2007.
18. Hafez ESE, Hafez B. Reprodução animal. 7ª ed. São Paulo: Manole; 2004.
19. Medeiros RMT, Neto SAG, Riet-Correa F, Schild AL, Sousa NL. Mortalidade embrionária e abortos em caprinos causados por *Aspidosperma pyriformis*. *Pesqui Vet Bras.* 2004;24 Supl:42-3.
20. Melo ACFL, Bevilaqua CML. Resistência anti-helmíntica em nematóides de pequenos ruminantes: uma revisão. *Cienc Anim.* 2002;12(1)35-45.
21. Scott PR, Gessert ME. Evaluation of caudal epidural lignocaine injection during dystocia correction in ewes. *Vet Rec.* 1996;138(1):19-20.

Recebido em: 20/12/10

Aceito em: 20/04/12

DIVULGAÇÃO DA ANATOMIA ANIMAL JUNTO A PRODUTORES E TRABALHADORES DO CAMPO EM DOIS MUNICÍPIOS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

William Douglas de Carvalho¹
Paulo Roberto Bernardes Lopes²
Marcelo Abidu Figueiredo²
Luciano da Silva Alonso²

RESUMO

Pela troca de informação entre o técnico especializado e o produtor rural, podem-se obter excelentes resultados com relação ao aumento de conhecimento e desempenho do produtor rural dentro da atividade em que está inserido. O objetivo foi promover a extensão rural como uma estratégia de desenvolvimento regional. Durante o trabalho de campo, 39 propriedades foram atendidas, sendo 30 em Seropédica e nove em Paracambi, municípios do Estado do Rio de Janeiro. Todas as propriedades analisadas neste estudo apresentavam condições precárias de instalações zootécnicas onde se encontravam equinos e bovinos, influenciando diretamente na sanidade destes animais, pois em sua totalidade sofriam de algum tipo de afecção podal e desequilíbrio de aprumos. Projetos de extensão promovidos por Instituições Extensionistas e financiados com recursos mínimos para a atividade de campo podem transformar a realidade e servir como modelo para outras regiões.

Palavras-chaves: análise qualitativa; extensão rural; produção animal

DISCLOSURE OF ANIMAL ANATOMY TO PRODUCERS AND FIELD WORKERS IN TWO MUNICIPALITIES OF RIO DE JANEIRO STATE

ABSTRACT

Through the exchange of information being the technical expert and farmer, you can get excellent results with respect to the increase of knowledge and performance of farmers within the activity in which it appears. The aim was to promote the extension as a regional development strategy. During the fieldwork, 39 properties were treated, with 30 in Seropédica and nine in Paracambi, Municipalities of the State of Rio de Janeiro. All properties analyzed in this study had poor conditions of animal shelter where there were horses and cattle, directly influencing the health of these animals, because as a whole suffered from some kind of disorder and imbalance foot aplomb. Extension projects promoted by extension agents and institutions funded with minimal resources for the field activity can transform the reality and serve as a model for other regions.

Keywords: qualitative analysis, extension, animal production

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. UFRRJ, Br465, Km47, Instituto de Biologia, CEP 23.890-000. Seropédica-RJ. Fone: (21) 2682-1763. wilruoca@hotmail.com (autor para correspondência).

² Docente da Área de Anatomia Animal, Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica-RJ.

DIVULGAÇÃO DE LA ANATOMÍA ANIMAL ENTRE LOS PRODUCTORES Y TRABAJADORES DEL CAMPO EN DOS MUNICIPIOS DEL ESTADO DE RIO DE JANEIRO

RESUMEN

A través del intercambio de información entre los técnicos especializados y el productor rural, es posible obtener resultados excelentes con relación al aumento de conocimiento y desempeño del trabajador agropecuario dentro de su actividad específica. El objetivo de este proyecto fue promover la extensión rural como estrategia para el desarrollo regional. Durante el trabajo de campo fueron atendidas 30 propiedades en el municipio de Seropédica y 9 en Paracambi en el estado de Rio de Janeiro. Todas ellas presentaban condiciones precarias con relación a instalaciones y manejo zootécnico de bovinos y equinos, lo que influenciaba directamente en las condiciones de salud de estos animales. En consecuencia, todos ellos padecían algún tipo de problema de casco o de aplomos. Los proyectos de extensión promovidos por diversas instituciones de ese tipo y financiados con recursos mínimos pueden transformar la realidad y servir como modelo para otras regiones.

Palabras clave: análisis cualitativo, extensión rural, producción animal

INTRODUÇÃO

As enfermidades digitais dos bovinos apresentam impacto econômico negativo sobre a rentabilidade da pecuária mundial, tanto pela redução da produtividade quanto pelo aumento nos custos dos tratamentos, bem como o descarte prematuro de animais de alto valor zootécnico (1). Ramos et al. (2) relataram que a taxa de descarte de animais com enfermidades digitais foi de 25% e no Brasil, as doenças digitais dos bovinos só perdem em prejuízos econômicos para mastites e para as patologias da reprodução, uma vez que têm afetado em média de 11 a 25% das vacas leiteiras (3). Guimarães e Langoni (4) descrevem que para melhorar a qualidade do leite e garantir um alimento seguro e de alto valor nutricional para o consumidor é fundamental o controle da mastite nos rebanhos leiteiros.

As diferentes regiões anatômicas e zootécnicas de animais de produção podem ter diferentes nomes populares designados pelos produtores e trabalhadores rurais. Em seu trabalho, Araújo (5), que atua em uma linha de pesquisa cujo objetivo é formar o “Atlas Lingüístico Rural Municipal de Viçosa”, demonstrou a importância do tema na perpetuação da cultura da comunidade rural, mostrando a importância do registro de termos e conceitos utilizados no campo. De acordo com o modelo difusionista proposto por Rogers e Shoemaker (6), a difusão de inovações é o processo pelo qual as inovações são comunicadas aos membros de um sistema social. O objetivo desta difusão é aumentar a eficácia da adoção de inovações que se baseiam em “novas idéias”, de maior produtividade. Nas colocações de Bordenave (7), o objetivo fundamental do modelo difusionista é encurtar o tempo que geralmente intermedeia entre o lançamento de uma inovação pelos centros de pesquisa e sua adoção generalizada pelos agricultores; o modelo impõe forte ênfase na questão comunicacional, tanto referente às informações necessárias para avaliar e aplicar inovações, quanto às mensagens motivadoras e persuasivas que promovem uma atitude inovadora geral.

A reflexão sobre as deficiências relacionadas à fragmentação do saber realça a necessidade de ler um pouco sobre o modelo de instituição universitária implantado em nosso país, o qual parece não contribuir muito para a mudança deste cenário (8). Atualmente, as instituições de ensino departamentalizadas em suas ações acadêmicas, estão voltadas para as necessidades do Estado, tais como fornecer índices relacionados ao número de matrículas, número de ingressantes nos cursos superiores, percentual de evasão, número de egressos,

capacitar para o mercado de trabalho, dentre outras demandas imediatistas, mas com pouco espaço para a construção do saber desinteressado.

O objetivo do presente trabalho foi levar a extensão rural como uma estratégia de desenvolvimento regional, a partir de um tema central facilitador de aproximação entre os atores envolvidos.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado na zona rural dos municípios de Seropédica e Paracambi, ambos no Estado do Rio de Janeiro, nas coordenadas: 22°48' S, 43°43' W e 22°36' S, 43°42' W, respectivamente. Trinta e nove propriedades foram atendidas, sendo 30 no município de Seropédica, representando 7,40% dos estabelecimentos rurais (9, 10), e nove no município de Paracambi, representando 4,39 dos estabelecimentos rurais (9, 10). Estes se encontram próximos a uma universidade, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e a Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RJ).

Entre agosto de 2006 e setembro de 2007 foi realizado trabalho de extensão com animais de produção, aplicado questionários para cadastramento de propriedades rurais e para avaliação após as atividades extensionistas. Para o cadastramento das propriedades foi elaborado um questionário contendo perguntas abertas e fechadas (Anexo 1). A abordagem usada foi à qualitativa utilizando como instrumento técnico para a coleta de dados a entrevista semi-estruturada, sem levar em consideração o tempo e não estruturada, principalmente nos retornos às propriedades (11). Dados sobre os problemas relacionados aos cascos dos animais de produção foram coletados, sendo que não foi observado o tipo de claudicação e a quantidade de animais afetados.

Termos utilizados pelo produtor/trabalhador rural foram coletados pela ilustração de animal de produção (Figura 1). Baseado nesta ilustração, o produtor dissertou sobre as regiões do corpo dos animais que utiliza para estimar se determinado animal é um bom produtor ao adquiri-lo.

No retorno às propriedades foram utilizadas peças anatômicas conservadas a seco e apostila para facilitar a compreensão das enfermidades do casco do animal. Neste momento foi aplicado questionário para avaliar a satisfação do produtor em relação ao trabalho realizado pelos extensionistas. Adotou-se uma escala de um a quatro, representando o grau de satisfação das pessoas durante e após as apresentações. O valor “um” simbolizando “nenhum interesse” (para aqueles que se mostrassem indiferentes, com o tema, ou com a equipe); o valor “dois” simbolizando “satisfação moderada” (para aqueles que reconhecessem o tema como importante, mas sem demonstrar interesse por uma segunda etapa do trabalho); o valor “três” como indicador de “satisfeito” (aqueles que se mostraram receptivos a uma segunda visita); e o valor “quatro” sendo equivalente a “muito satisfeito” com o trabalho realizado (produtores que disponibilizaram a propriedade para outros trabalhos, tais como castrações, descornas, testes e pesquisas diversas).

A análise qualitativa dos dados foi realizada para as propriedades que mantém algum tipo de produção e pelos próprios entrevistadores no prazo máximo de cinco dias após a realização da entrevista, evitando-se desconsiderar dados importantes por ocasião da análise. Utilizou-se o teste qui-quadrado (χ^2) para verificar a diferença entre os dados encontrados na literatura e do presente trabalho para os parâmetros: quantidade de produtores atendidos por órgãos extensionistas e entrosamento com o extensionista. Os cálculos foram realizados no programa livre Past 2.14.

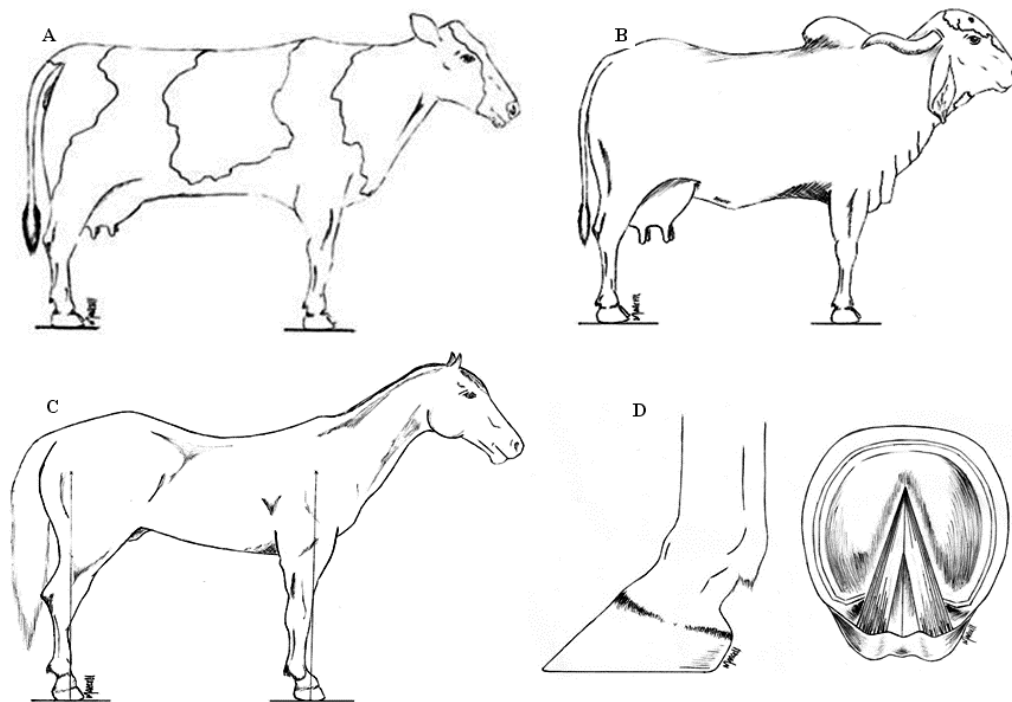


Figura 1. Ilustração utilizada na arguição dos produtores rurais para obter termos populares utilizados em animais de produção. A – Ilustração de bovino com características leiteiras; B – Ilustração de bovino com características para produção de carne; C – Ilustração de equino; D – Ilustração da porção distal do apêndice pélvico direito de um equino com vista medial e ventral.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 39 propriedades 35 (89,7%) têm produção para subsistência ou para venda, uma (2,56%) funciona como chácara, mas encontra-se abandonada e quatro (10,25%) são utilizadas pelos proprietários como locais para descanso. Dentro das 35 propriedades com algum tipo de manejo animal, o tipo de produção foi o mesmo encontrado por Matos (12) para bovinos em Portugal, onde a maioria das pequenas propriedades explora os animais na tripla função: carne, leite e trabalho.

Todos os entrevistados (100%) apontaram dificuldades em receber auxílio de algum órgão relacionado à extensão, seja EMATER, prefeitura, universidade, dentre outros. Este valor foi semelhante ao encontrado por Alves e Valente Junior (13) ($x^2 = 1,17$; GL = 2; $p = 0,55$) em pesquisa realizada no nordeste do Brasil, que obtiveram a mesma resposta, que o presente trabalho, em 70% dos casos ($n=411$), e Silva Filha et al. (14) ($x^2 = 1,26$; GL = 2; $p = 0,53$), em trabalho realizado no Estado da Paraíba, que observaram 62,1% ($n=58$) de produtores rurais recebendo assistência técnica de órgãos extensionistas. Em trabalho realizado no Estado de Goiás, Rabelo et al. (15) encontraram em 60% ($n=10$) das propriedades estudadas falta de assistência técnica e nenhum tipo de escrituração zootécnica, sendo que no restante das propriedades ocorria assistência veterinária esporadicamente, não diferindo do presente estudo ($x^2 = 0,42$; GL = 2; $p = 0,80$). Os dados referentes à universidade mostraram que 16% dos produtores já a procuraram em épocas anteriores, mas não obtiveram respostas referentes aos seus anseios. Dentre as dificuldades encontradas mencionaram falta de interesse dos servidores da universidade e falta de informações de como conseguir auxílio.

Alves e Valente Junior (13) concluíram que 81% dos produtores participam de projetos relacionados às entidades públicas extensionistas, discordando dos achados do presente estudo, onde não foi verificada participação de produtor rural neste tipo de projeto. Com relação à assistência técnica das prefeituras municipais, todos os entrevistados citaram falta de apoio com relação às melhorias de condições das estradas, auxílio com trator e máquinas, assistência para a produção animal e vegetal. Segundo os entrevistados, as prefeituras só aparecem por ocasião da vacinação contra a febre aftosa. Apenas seis (17,14%) propriedades foram assistidas pela EMATER em período anterior. À exceção das três entidades consideradas até o momento (universidade, prefeitura e EMATER), nenhum outro órgão foi citado pelos entrevistados como possível difusor de conhecimento e tecnologia.

Com relação a financiamento agrícola, apenas dois (5,71%) já obtiveram, sendo que todos os produtores disseram ainda não ter conhecimento da nova Lei da Agricultura Familiar (Lei 11.322/06), criada para atender este segmento. Rabelo et al. (15) descrevem que as principais queixas relatadas pelos proprietários como principais fatores desestimulantes da atividade foram: ausência de profissionais para prestarem assistência técnica, políticas governamentais de incentivo, baixo preço do leite, alto custo de insumos e medicamentos veterinários e diversas enfermidades que acometem o rebanho bovino. No presente estudo quando os produtores foram argüidos sobre a forma como a universidade ou outro órgão de extensão poderia auxiliá-los, obtiveram-se os seguintes resultados: 15 produtores (42,85%) citaram a necessidade de auxílio técnico, 10 produtores (28,57%) pediram auxílio da assistência técnica, três produtores (8,57%) descreveram que estes órgãos poderiam fornecer área para a atividade agropecuária, dois produtores (5,71%) reclamaram da dificuldade em escoar a produção, dois produtores (5,71%) disseram que poderiam receber apoio por meio de maquinário, 12 (34,28%) não sabiam ou não responderam.

No que se refere à oportunidade de trabalho no meio rural, seis (17,14%) entrevistados relataram estar na atividade em função do desemprego. Destes, três (8,57%) afirmaram possuir experiência na atividade agropecuária, em função da origem familiar no meio rural. Em geral os entrevistados reconheceram as universidades como geradoras e difusoras de conhecimentos, ao mesmo tempo em que há pouca participação destas no universo da agricultura familiar.

Termos populares referentes a estruturas anatômica e equivalente na nomenclatura oficial foram coletados durante as entrevistas. Segue a versão popular e a técnica, respectivamente: *venta/focinho*; *peito/úbere*; *mocotó/pé*; *cucuruta/marrafa*; *rejeito/canela*; *rabo/cauda*; *massaroca/vassoura da cauda*. A apreciação destes termos deve ser feita para que o modelo de comunicação seja o descrito por Friedrich (16). Desenvolvendo o trabalho de campo, estes termos tornaram-se fundamentais para o entendimento da fala rural, estando de acordo com o descrito por Benjamin (17), onde o autor classifica a comunicação como algo que um indivíduo concebe, codifica e emite intencionalmente para obter de outro uma reação.

Com relação à podologia dos animais de produção, em todas as propriedades onde se encontravam equinos e bovinos (79,92%; n=28), estes sofriam de algum tipo de enfermidade do casco. Segundo vários autores (18-21), um dos principais causadores de afecções podais em bovinos e equinos é o mau acondicionamento de animais de produção e má alimentação. Estes resultados corroboram com os achados neste trabalho, visto que em todas as propriedades as condições das instalações onde se encontravam os animais eram precárias, propícias ao surgimento de afecções podais e desequilíbrios nos apêndices. Tais achados são os mesmos descritos por Ferreira (22), o qual descreve as anomalias anatômicas como principal fator na influência da conformação corporal, citando a deformação do casco como exemplo. Em 1990, Kobluk et al. (23) concluíram que o casqueamento e ferrageamento corretos podem melhorar a performance e reduzir a incidência de lesões músculo esqueléticas em cavalos puro sangue de corrida. Moura et al. (24), analisando dermatite digital em bovinos da raça nelore, observaram que animais com este tipo de patologia, quando não tratada, apresentaram

ganho de peso menor do que animais sem esta afecção ou com tratamento clínico. Avaliando enfermidades podais em vacas leiteiras no estado do Maranhão, Freitas et al. (25) e Rodrigues et al. (26) encontraram, respectivamente em 74,58% (n=299) e 67,95% (n=78) dos animais, algum tipo de enfermidade, sendo nos dois estudos o desgaste da sola a principal lesão encontrada, influenciada principalmente pela idade dos animais e por fatores climáticos. Rabelo et al. (15) constataram em 22,46% (n=846) de vacas adultas, algum tipo de claudicação, sendo a principal enfermidade a dermatite digital, a mesma afecção encontrada por Rabelo et al. (27) em 23,7% dos casos (n=190). Queiroz et al. (28) encontraram a erosão de talão como principal lesão podal, sendo encontrada em 50,66% dos casos (n=654). Rodrigues et al. (26) descreveram os principais fatores encontrados nas propriedades que influenciam a ocorrência de afecções podais, sendo estes encontrados no presente estudo: áreas de terreno com piçarra; período chuvoso, áreas com muita lama e umidade; instalações com piso bastante abrasivo (cimento), manejo de animais e instalações inadequado, dificuldade no exame clínico e diagnóstico destas enfermidades.

O conhecimento dos fatores determinantes para a ocorrência destas doenças é importante para que medidas de controle e profilaxia possam ser instituídas nas propriedades (28). É de suma importância que os profissionais conheçam as enfermidades para que se possa intervir com mais precocidade nos casos, favorecendo a recuperação, além de contribuir para a minimização dos prejuízos proporcionados com as suas ocorrências (28). A melhoria nas técnicas de produção e sanidade animal tem agregado valor aos produtos das propriedades rurais, atendidas por projetos, que passam a ter maior aceitação no mercado pela melhor qualidade e confiabilidade alcançada (29).

Após atuação em 35 propriedades foi possível perceber a validade da iniciativa onde não ficou constatada “insatisfação” por parte dos produtores/trabalhadores rurais. Os valores encontrados neste trabalho (73% foram considerados “muito satisfeitos”, 17% “satisfeitos” e 10% “moderadamente satisfeitos”) não apresentaram diferença significativa ($x^2 = 0,60$; GL = 2; $p = 0,73$) quando comparados aos dados de Alves e Valente Junior (13), apenas para o parâmetro “muitos satisfeitos”. Ponsano et al. (30) concluíram, em trabalho realizado em Araçatuba-SP, que o período de capacitação dos produtores rurais na atividade de produção leiteira não foi suficiente para atingir a melhoria na qualidade do leite produzido na região. Os mesmos autores complementam que, considerando o baixo nível de instrução desse setor, seu apego a práticas inadequadas e dificuldade para implantar inovações, faz-se necessário um maior tempo de atuação junto aos produtores rurais para que os mesmos possam assimilar as informações e colocá-las em prática, até que melhorias na qualidade do leite sejam atingidas.

CONCLUSÕES

Apesar do reduzido número de propriedades visitadas até o momento, pode-se perceber a homogeneidade dos resultados apontando para o não envolvimento de órgãos extensionistas com a comunidade rural em geral. Produtores e trabalhadores rurais enfatizaram que a Universidade e outras entidades deveriam estar presentes de forma intensiva. O presente trabalho mostra a realidade da agricultura familiar do Brasil e a baixa intervenção de órgão extensinistas no setor, evidenciada quando comparamos com trabalhos semelhantes realizados no país. Em síntese, pode-se inferir que projetos de extensão aprovados pela Universidade e financiados com recursos mínimos para a atividade de campo podem transformar a realidade e servir como modelo para outras regiões.

AGRADECIMENTOS

À Pró-Reitoria de Extensão da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pelo apoio logístico e fornecimento de bolsa de extensão para o W. D. Carvalho. Aos alunos B.C.G. Mazete e M. P. Alonso pelo apoio durante o desenvolvimento deste projeto.

REFERÊNCIAS

1. Corbellini CN. Factores nutricionales relacionados com las afecciones podales en bovinos. Santiago: Navarro; 1994.
2. Ramos LS, Silva LAF, Meirinhos MLG, Juliano RS, Prado LF, Cunha PHJ, et al. Avaliação de parâmetros reprodutivos em fêmeas bovinas de aptidão leiteira portadoras de pododermatite necrosante. *Ars Vet.* 2001;17(2):98-106.
3. Dias RS. Tratamento de cascos se faz com informações e critérios. *Balde Branco.* 1996;385(3):26-9.
4. Guimarães FF, Langoni H. Leite: alimento imprescindível, mas com riscos para a saúde pública. *Vet Zootec.* 2009;16(1):38-51.
5. Araújo JI. Cartas lexicais e glossário popular-técnico e técnico-popular – nomes populares rurais de doenças de criações e culturas agrícolas da microrregião de Viçosa [tese]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 1993.
6. Rogers EM, Shoemaker FF. Communication of innovation: a crosscultural approach. New York: Free Press; 1971.
7. Bordenave JED. O que é comunicação rural? São Paulo: Editora Brasiliense; 1983.
8. Mazzoni JR. Universidade brasileira: o primeiro ciclo em questão. Bauru: EDUSC; 2001.
9. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. IBGE Cidades@ - Municípios do estado do Rio de Janeiro. 2010 [cited 2012 Jan 13]. Available from:
<<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>.
10. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo agropecuário. Rio de Janeiro; 2006 [cited 2012 Jan 13]. Available from:
<<http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=rj>>.
11. Tanaka OU, Melo C. Avaliação de Programas de saúde do adolescente: um modo de fazer. São Paulo: Edusp; 2001.
12. Matos CAP. Recursos genéticos animais e sistemas de exploração tradicionais em Portugal. *Arch Zootec.* 2000;49:363-83.
13. Alves MO, Valente Junior AS. Comunicação rural entre três atores nas áreas de concentração de fruteiras no nordeste brasileiro: o pequeno fruticultor, suas organizações e a extensão rural. In: Anais do 44º Congresso da Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural; 2006, Fortaleza. Fortaleza: SOBER; 2006.

14. Silva-Filha OL, Alves DNM, Souza JF, Pimenta-Filho EC, Sereno JRB, Gomes da Silva LP, et al. Caracterização da criação de suínos locais em sistema de utilização tradicional no Estado da Paraíba, Brasil. *Arch Zootec.* 2005;54:523-8.
15. Rabelo RE, Vulcan VAS, Sant'Ana FJF, Vicentin FR, Oliveira TC, Guimarães MM. Doenças de cascos em bovinos leiteiros: diagnóstico, tratamento e aplicação de medidas de controle. *Vet Zootec.* 2011;18(4 Supl 3):310-4.
16. Friedrich OA. Comunicação rural: proposição crítica de uma nova concepção. Brasília: Embrater; 1998.
17. Benjamin REC. Comunicação rural. In: Queiroz e Silva RP. Temas básicos de comunicação. São Paulo: Edições Paulinas; 1983.
18. Silva LAF. Características clínicas e epidemiológicas das enfermidades podais em vacas lactantes do município de Orizona. *Cienc Anim Bras.* 2001;2(2):119-26.
19. Silva LAF. Enfermidades digitais em bovinos confinados: uso parenteral do cobre na prevenção. *Vet Not.* 2006;12(1):21-8.
20. Souza RC, Toledo Jr JC, Ferreira PM, Carvalho AU, Molina LR, Facury Filho EJ, et al. Aspectos histopatológicos da dermatite digital em vacas leiteiras. *Cienc Anim Bras.* 2006;7(4):423-31.
21. Úrsula M. Efeito da sazonalidade sobre a ocorrência de lesões podais em vacas de raças leiteiras. *Rev Bras Saude Prod Anim.* 2008;9(1):109-16.
22. Ferreira N. Conceitos gerais de anatomia topográfica: regiões de interesse médico cirúrgico. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP; 1991.
23. Kobluk CN, Robinson RA, Gordon BJ, Clantor CJ, Michelle TA, Ames TR. The effect of conformation and shoeing: a cohort study of 95 thoroughbred racehorses. In: *Proceedings of American Association of Equine Practitioners Annual Convention; 1990, Boston.* Boston: AAEP; 1990.
24. Moura MI, Goulart DS, Orlando CFP, Franco LG, Silva OC, Silva LAF. Dermatite digital em bovinos da raça nelore: avaliação do ganho de peso, medidas testiculares e epididimárias, no pós-operatório das lesões. *Vet Zootec.* 2010;17(2):239-49.
25. Freitas EJP, Moura Filho JM, Sá JS, Rodrigues THC, Dadalto DL, Santos HP, et al. Enfermidades podais em bovinos da bacia leiteira da região Amazônica do estado do Maranhão. *Vet Zootec.* 2011;18(4 Supl 3):211-4.
26. Rodrigues THC, Carvalho IS, Freitas EJPF, Sá JS, Sousa VE, Santos HP, et al. Diagnóstico e classificação de enfermidades podais em rebanhos leiteiros na bacia leiteira do município de Santa Rita – MA, Brasil. *Vet Zootec.* 2011;18(4 Supl 3):215-8.
27. Rabelo RE, Vulcani VAS, Sant'Ana FJF, Cardoso LD, Cunha DA, Dutra HT. Influência de diferentes enfermidades digitais na claudicação de vacas leiteiras no sudoeste de Goiás, Brasil. *Vet Zootec.* 2011;18(4 Supl 3):319-22.

28. Queiroz GR, Pereira PFV, Marcondes GM, Romão FTNMA, Zanluchi AT, Saut JPE, et al. Prevalência de lesões podais em vacas de leite na região norte do Paraná. Vet Zootec. 2011;18(4 Supl 3):340-2.
29. Sampaio AJSA, Marçal WS, Lima BM. Projeto universidade amiga – ações extensionistas no meio rural. Vet Zootec. 2011;18(4 Supl 3):1262-4.
30. Ponsano EHG, Pinto MF, Grassi TLM, Avanço SV, Lima LKF. Capacitação de produtores rurais para a melhora da qualidade do leite cru produzido na região de Araçatuba – SP. Rev Cienc Ext. 2011;7(1):91-101.

Recebido em: 13/10/11

Aceito em: 26/04/12

ANEXO 1
Formulário para coleta de dados das propriedades rurais

Entrevistador: _____ Data: ____/____/____

INFORMAÇÕES GERAIS

Propriedade: _____

Proprietário: _____

Entrevistado (proprietário/funcionário/outro): _____

Endereço: _____

Atividade principal: _____

Produção [principal(is) produto(s)] por período: _____

Área (ha): _____

Número de trabalhadores rurais: _____

Idade/Escolaridade/Experiência na atividade (origem, tempo de trabalho): detalhar para cada funcionário _____

DETALHAMENTO SOBRE A PROPRIEDADE

Assistência técnica (profissional autônomo, EMATER, Prefeitura, etc.): _____

Relacionamento anterior com a Universidade: _____

Já obteve financiamento agrícola? (PRONAF, BB, outros): _____

Tem alguma dificuldade na produção? (doenças nos animais, plantação, medicamentos/ defensivos/insumos, falta de assistência técnica, etc.) _____

No que refere-se aos animais da propriedade:

Plantel/Nº/sexo

Eqüinos: _____ Muaras: _____ Bovinos: _____

Caprinos _____ Ovinos: _____ Aves: _____

Outros: _____

Manejo (pasto, concentrado, piquete, etc.) _____

Forma de aquisição usual: (compra ou troca): _____

Os animais são vacinados? Quais vacinas? _____

Possui algum tipo de mecanização na propriedade? (trator, ordenhadeira, etc.) _____

Como a Universidade (ou outro órgão que realize extensão) poderia auxiliar a atividade de sua propriedade? _____

Como é a interação com outros produtores/vizinhos (troca de informações, relacionamento, etc.)? _____

Citar meios de comunicação que possam informar o produtor/trabalhador rural: _____

Participaria de um encontro para produtores/trabalhadores rurais? _____

Anotações gerais: _____

Comitê de Avaliadores

Adelina Maria da Silva	Edson Ramos de Siqueira	José Luiz Laus
Adjair Antônio do Nascimento	Eduardo Arruda T. Lanna	José Maurício Sforzin
Adriana Evangelista-Rodrigues	Eduardo Bagagli	José Paes de A. N. Pinto
Adriano Sakai Okamoto	Eduardo Francisquine Delgado	José Paes de Oliveira Filho
Ailton Vitor Pereira	Eduardo Furtado Flores	José Rafael Modolo
Alan Maia Borges	Eduardo Harry Birgel Júnior	José Roberto Kfoury Júnior
Alessandro F. T. Amarante	Eduardo Paulino da Costa	José Roberto Sartori
Alexander Welker Biondo	Edviges Maristela Pituco	José Vasconcelos Lima Oliveira
Alexandre Lima de Andrade	Eliana Curvelo	Joselito Nunes Costa
Alexandre Oba	Eliana Roxo	Jovanir I. Müller Fernandes
Alexandre Secorun Borges	Elizabeth Oliveira da Costa	Julietta Rodini Engrácia de Moraes
Alexandre Vaz Pires	Élvio Carlos Moreira	Júlio César de Freitas
Alice Maria Melville P. Della Libera	Enrico Lippi Ortolani	Júlio Lopes Siqueira
Alicio Martins Júnior	Evelise Oliveira Telles	Kátia Denise Saraiva Bresciani
Altivo José de Castro	Fabiano Montiani Ferreira	Kleber Tomás de Resende
Alvimar José da Costa	Fernanda da Cruz L. e Alvarenga	Laerte Ferreiro
Amauri Alcindo Alfieri	Fernando Antônio de Avila	Lara Borges Keid
Américo G. da Silva Sobrinho	Fernando Ferreira	Leucio Câmara Alves
Ana Carolina B. C. Fonseca Pinto	Fernando Pandolfo Bortolozzo	Lílian Gregory
Ana Liz Garcia Alves	Flávia de Rezende Eugênio	Lisiane de A. Martins
Ana Paula Frederico R. L. Bracarense	Flavio Ruas de Moraes	Lissandro Gonçalves Conceição
Ana Silvia A. M. T. Moura	Francisco Carlos Faria Lobato	Luciana Del Rio Pinoti Ciarlini
Ana Terezinha Tavechio	Francisco José Teixeira Neto	Luciana Morganti Ferreira Maselli
Andrey Pereira Lage	Francisco Leydson Formiga Feitosa	Luciano José da Costa Figueiredo
Ângelo João Stopiglia	Frederico Ozanam Papa	Luís Carlos Vulcano
Annelise de Souza Traldi	Geder Paulo Herrmann	Luís Gustavo Corbellini
Antônio Carlos Alessi	Germano Francisco Biondi	Luiz Alberto do Lago
Antonio Carlos Cunha Lacrete Júnior	Gervásio Henrique Bechara	Luiz Antônio Mathias
Antônio Carlos Paes	Gilson Helio Toniollo	Luiz Augusto do Amaral
Antônio José de Araújo Aguiar	Guilherme Jordão Magalhães Rosa	Luiz Carlos de Souza
Antonio Nader Filho	Gustavo Ferrer Carneiro	Luiz Fernando de O. S. Carvalho
Antônio Sérgio Ferraudó	Helenice de Lima González	Luiz Francisco Prata
Aparecido Antônio Camacho	Helenice de Souza Spinosa	Luiz Francisco Zafalon
Aramis Augusto Pinto	Helio José Montassier	Luiz Henrique de Araújo Machado
Áureo Evangelista Santana	Henrique Nunes de Oliveira	Luzia Helena Queiroz
Bernardete Miranda dos Santos	Humberto Tonhati	Magda Alves de Medeiros
Bruna P. A. da Fonseca	Idércio Luiz Sinhorini	Marcelo Bahia Labruna
Bruno Watanabe Minto	Iolanda Aparecida Nunes	Marcelo George Mungai Chacur
Caris Maroni Nunes	Ivanete Kotait	Marcelo Meller Alievi
Carla Forte Maiolino Molento	Ivanete Susin	Marcelo Resende de Souza
Carla Lopes de Mendonça	Iveraldo dos Santos Dutra	Marcelo Vasconcelos Meireles
Carlos Alberto de M. Lopes	Ivo Wentz	Márcia C. da Sena Oliveira
Carlos Alberto Hussni	Izidoro Francisco Sartor	Márcia Marinho
Carlos Antônio de Miranda Bomfim	Jackson Victor de Araújo	Márcia Marques Jericó
Carlos Augusto A. Valadão	Jane Megid	Márcia Valéria Rizzo S. Szabó
Carlos Roberto Daleck	Jean Carlos Ramos da Silva	Marcílio Dias S. da Mota
Carlos Roberto Teixeira	Jean Guilherme F. Joaquim	Márcio Machado Ladeira
Carolina Madeira Lucci	Jener Alexandre S. Zuanon	Marco A. F. Lopes
Cassiano Victória	João Carlos Pinheiro Ferreira	Marco Antonio Alvarenga
Cecílio Soares Filho	João Guilherme P. Filho	Marco Antonio Gioso
Célia Regina Orlandelli Carrer	João Pessoa Araújo Júnior	Marco Antonio Lemos de Oliveira
Celso A. Rodrigues	José Antônio Marques	Marconi Rodrigues de Farias
Cezinande de Meira	José Antônio Viana	Marcos Amaku
Ciniro Costa	José Antônio Visintin	Marcos Chalhoulb Coelho Lima
Cláudia Valéria S. Brandão	José Augusto B. Afonso	Marcos Jun Watanabe
Cláudio Dias Timm	José Carlos de Andrade Moura	Marcos Veiga dos Santos
Claudio Scapinello	José Carlos de Andrade Moura	Margareth Elide Genovez
Daisy Pontes Netto	José Cezar Panetta	Maria Angélica Miglino
Daniel Augusto Barroso Lessa	José Dantas Ribeiro Filho	Maria Cecília Rui Luvizotto
Dante Pazzanese Duarte Lanna	José Domingos Guimarães	Maria da Glória Buzinaro
Delphim da Graça Macoris	José Fernando Machado Menten	Maria de Lourdes R. S. da Cunha
Denise Botelho de O. Braga	José Joaquim Tilton Ranzani	Maria Denise Lopes
Dilermando Miranda da Fonseca	José Juradir Fagliari	Maria Gisela Laranjeira
Dirlei Antônio Berto	José Laerte Nörnberg	Maria Jaqueline Manprim
Domingos da Silva Leite	José Luiz Catão Dias	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
Marilena Longo Büll
Marília Martins Melo
Marion Burkhardt de Koivisto
Mary Marcondes
Mauricio Costa Alves da Silva
Mayra Elena O. D'Avila Assumpção
Milton Hissashi Yamamura
Mitika Kuribayashi Hagiwara
Mônica Vicky Bahr Arias
Nei Moreira
Nelson Carneiro Baião
Nelson Moraes
Nereu Carlos Preste
Nilson Roberto Benites
Noeme Sousa Rocha
Oswaldo Durival Rossi Junior
Pacífico Antônio Diniz Belém
Paulo Alberto Lovatto
Paulo César Ciarlini
Paulo Francisco Domingues
Paulo Henrique Franceschini
Paulo Henrique Jorge da Cunha
Paulo Michel Roehle
Paulo Roberto Brandão

Paulo Roberto de Lima Meirelles
Paulo Roberto Rodrigues Ramos
Pedro Manuel Leal Germano
Priscilla Anne Melville
Raimundo Souza Lopes
Raphael Lúcio Andreatti Filho
Raquel Y. A. Baccarim
Raul Franzolin Neto
Raul José Silva Girio
Regina Kiomi Takahira
Renato Campanarut Barnabé
Renato Cesar Sacchetto Tôres
Renée Laufer Amorim
Ricardo Augusto Mendonça Vieira
Ricardo de Oliveira Orsi
Ricardo J. Del Carlo
Roberta Lemos Freire
Roberto Antonio Rodella
Roberto Calderón Gonçalves
Roberto de Oliveira Roça
Roberto Sartori Filho
Roberto Soares de Castro
Rodrigo Martins Soares
Rogério de Paula Lana
Rogério Giufrida
Rogério Martins Amorim
Ronaldo Lopes Oliveira
Rosana M. O. Clark
Rosângela Zacarias Machado
Rubens Antônio Carneiro

Samir Issa Samara
Sandra de Moraes Gimenes Bosco
Sandra Mara Araújo Crispim
Sebastião de Campos Valadares Filho
Sergio Borges Mano
Sheila Canavese Rahal
Sílvia M. Nishida
Sílvia Maria Alves Gomes
Simone Baldini Lucheis
Simone de Carvalho Balian
Sonia Regina Pinheiro
Sony Dimas Bicudo
Stefano Hagen
Stélio Pacca Loureiro Luna
Teresa C. G. de O. Siqueira
Tereza Cristina C. da Silva
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
Wilter Ricardo R. Vicente

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 espaço 1,5, 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, conclusão 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, 1.5 line spacing, beginning with the "RESUMO". Independent of the paper language, the abstract must be submitted in English, Portuguese and Spanish.
 - Must include a maximum of five "palavras-chave", keywords, and palabras claves that identify the text content.

3. The structure of the paper must include:

Introduction: Clearly state the objective of the study with brief overview of the investigated problem and literature review.

Material and Methods: Provide a concise description of the experimental methods, variables, population in study, equipment, as well as the statistics, in sufficient detail to allow other researches to reproduce the results.

Results: The results should be described without interpretation and comparisons. The results may include **tables**, which should come in a separate sheet (maximum of 5 tables) and numbered consecutively in Arabic numerals, with the title on the top, according to the rules of table presentation by ABNT/WBR 6023/2000 from Associação Brasileira de Normas Técnicas, and identified in the text as Table; **figures**, in case of graphs, photographs, drawings, maps, etc, numbered consecutively in Arabic numerals (maximum of six), cited in the text as Figure. **Photographs** may be black and white or color, identified with the author's name in the back. **Original drawings** must be printed in high quality paper.

Discussion: Should be the interpretation of the results, relative to other relevant studies, presented in the introduction. If convenient, the results and discussion may be presented together.

Conclusions: The final synthesis, based on the results and discussion.

References: Should be presented according to Vancouver rules (<http://www.icmje.org/>), and arranged in alphabetical order, by author's last name (examples in the end of the instructions).

Manuscripts **should** be edited in Microsoft Word for Windows, for text, Excel (any version) for graphs, JPEG or GIF format (images) for photographs, drawings and maps, A4 format paper (21,0 x 29,7 cm), double spaced, leaving at least 2,5 cm margins, (lateral, top and bottom of page), Times New Roman font, size 12 and numbered in Arabic numerals, beginning in the identification page. The authors will have to present numeration in the lines, restarting the counting to each new page. Illustrations and legends must be presented on separate sheets.

Reprints will not be offered. The articles will be available in PDF format at the journal website. The same rules apply for all the other sections of the journal. The manuscripts should not exceed 15 pages. Unusual abbreviations should be used only after first time citation.

REVIEW ARTICLES

The review articles will be published in Portuguese, English or Spanish, if it provides scientific contribution that is relevant in the area, when invited by the editors. The review articles must include: Title (Portuguese, English and Spanish), resumo with palavras-chave, abstract with key words and resumen with palabras-claves, introduction, subject overview, conclusion e references. Must contain a maximum of 20 pages and 60 references.

CASE REPORTS

Should not be prepared with the same structure as the articles. The case reports must present the title in Portuguese, English and Spanish, resumo with palavras-chave, abstract with keywords and resumen with palabras claves and references. Must contain a maximum of five pages, three tables or figures and 15 references.

SHORT COMMUNICATIONS

These are reports with new and relevant data of original studies, as preliminary results of a research. Must be presented with a maximum of five pages, one table and ten references. The structure should follow the same rules for case reports.

REFERENCES AND CITATIONS

References should be numbered consecutively in order in which they are first mentioned in the text, tables, and legends by Arabic numbers in parentheses in same sequence. The titles of journals should be abbreviated according to the style *List of Journals Indexed in Index Medicus* available from: <http://www.nlm.nih.gov>.

Examples:

Citations

O material deve ser mantido em compressas embebidas em solução fisiológica para evitar o ressecamento (5).

Aulisa (1) administrou heparina, por via intramuscular, em cobaias.

Udupa & Prasad (9) utilizaram osteoclasia manual do úmero sem imobilização

Herbsman et al. (7) realizaram osteoclasia manual no fêmur e não imobilizaram. O rato apresenta níveis mais elevados de heparina que o homem (35,42,51). O mesmo autor obteve resultados semelhantes, mesmo com metodologias diferentes (22-26).

References

List the first six authors followed by et al.

1 Journal article

Andrade SF, Sakate M. Intoxicação por amitraz: revisão. Vet Not. 2004;10:1-15.

Modolo JR, Stachissini AVM, Gennari SM, Dubey JP, Langoni H, Padovani CV, et al. Frequência de anticorpos anti-Neospora caninum em soros de caprinos do estado de São Paulo e sua relação com o manejo dos animais. Pesq Vet Bras. 2008;28:597-9.

2 Organization as author

Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 12nd ed. Washington; 1975.

Universidade Federal de Viçosa. SAEG: sistema de análises estatísticas e genéticas: manual do usuário: versão 7.1. Viçosa; 1997.

3 Book

Modolo JR, Stachissini AVM, Castro RS, Ravazzolo AP. Planejamento de saúde para o controle da artrite-encefalite caprina. São Paulo: Cultura Acadêmica; 2003.

4 Chapter in a book

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

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

5 Conference paper

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

6 Dissertation

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

7 Electronic material on Internet

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

REVISTA “VETERINARIA Y 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 a espacio de 1,5 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. Freqüência de anticorpos anti-Neospora caninum em soros de caprinos do estado de São Paulo e sua relação com o manejo dos animais. Pesq Vet Bras. 2008;28:597-9.

2 Organización como autor

Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 12nd ed. Washington; 1975.

Universidade Federal de Viçosa. SAEG: sistema de análises estatísticas e genéticas: manual do usuário: versão 7.1. Viçosa; 1997.

3 Libro

Modolo JR, Stachissini AVM, Castro RS, Ravazzolo AP. Planejamento de saúde para o controle da artrite-encefalite caprina. São Paulo: Cultura Acadêmica; 2003.

4 Capítulo en libro

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

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

5 Ponencias o conferencias en simposio, congreso, reuniones, etc .

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

6 Tesis

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

7 Medios electrónicos en Internet

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