

# **Veterinária e Zootecnia**

**Vet e Zootec.**

**2012 março; 19(1): 001-134**

**Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**

**ISSN 0102 -5716**

**Botucatu - SP – Brasil**

**Veterinária e Zootecnia****ISSN 0102 – 5716**

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](mailto: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 TÉC. 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 0102 – 5716

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 en 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

EDITORIAL .....	007
ARTIGOS DE REVISÃO/REVIEW ARTICLE/ARTÍCULOS DE REVISIÓN	
<b>ANEXOS FETAIS: UMA FONTE ALTERNATIVA DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS PARA A MEDICINA VETERINÁRIA EQUINA.</b> Bruna De Vita, Loreta Lemes Campos, Amanda Jerônimo Listoni, Leandro Maia, Natália Pereira Paiva Freitas, Fernanda Landim e Alvarenga, Nereu Carlos Prestes.....	008
<b>DIAGNÓSTICO POR IMAGEM NA AVALIAÇÃO DO SISTEMA RESPIRATÓRIO DE EQUINOS.</b> Roberta Valeriano dos Santos, Vânia Maria de Vasconcelos Machado, Felipe Carvalho Evangelista, Roberto Calderon Gonçalves, Luiz Carlos Vulcano.....	023
<b>PLASMA RICO EM PLAQUETAS: UMA NOVA PERSPECTIVA TERAPÊUTICA PARA MEDICINA EQUINA.</b> Cynthia do Prado Vendruscolo, Marcos Jun Watanabe, Leandro Maia, Armando Mattos de Carvalho, Ana Liz Garcia Alves .....	033
<b>HIPOADRENOCORTICISMO EM CÃES: REVISÃO.</b> Felipe Gazza Romão, Mariana Isa Poci Palumbo Antunes .....	044
<b>HELMINTOSES ZONÓTICAS TRANSMITIDAS PELO CONSUMO INADEQUADO DE PEIXES.</b> Daniel Fontana Ferreira Cardia, Katia Denise Saraiva Bresciani .....	055
<b>ASPECTOS DE INFARTOS HEMORRÁGICOS EM CÃES NA TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA E RESSONÂNCIA MAGNÉTICA.</b> Viviam Rocco Babicsak, Vânia Maria de Vasconcelos Machado, Débora Rodrigues dos Santos, Karen Maciel Zardo, Lídice Araújo Campos, Luiz Carlos Vulcano .....	066
RELATOS DE CASO/ CASE REPORTS/ ESTUDIOS DE CASO	
<b>DERMATOFITOSE NEONATAL CANINA POR <i>Microsporium gypseum</i>.</b> Isabel Martins Madrid, Angelita dos Reis Gomes, Antonella Souza Mattei, Rosema Santin, Marlete Brum Cleff, Renata Osório Faria, Mário Carlos Araújo Meireles .....	073
<b>TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL INTRA-OCULAR EM CÃO: RELATO DE CASO.</b> Andréia Vitor Couto do Amaral, Rafael Farias de Oliveira, Ana Paula de Souza Martins da Silva, Mayara Leão Baylão, Laura da Costa Luz, Fabiano José Ferreira de Sant'Ana .....	079
<b>CITOLOGIA ASPIRATIVA POR AGULHA FINA NO RIM DE UM FELINO COM PERITONITE INFECCIOSA FELINA.</b> Raqueli Teresinha França, Guilherme Lopes Dorneles, Marciélen Pagnoncelli, Renan Marcel Krüger, Danieli Brolo Martins, Juliana Sperotto Brum, Sonia Terezinha dos Anjos Lopes.....	086
ARTIGOS/ARTICLES/ARTÍCULOS	
<b>AVALIAÇÃO CLÍNICA DA DENERVAÇÃO ACETABULAR EM CÃES COM DISPLASIA COXOFEMORAL ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA FMVZ – BOTUCATU – SP.</b> Bruno Watanabe Minto, Vivian Lima de Souza, Cláudia Valéria Seullner Brandão, Eduardo Shigueru Mori, Milton Mikio Morishin Filho, José Joaquim Tilton Ranzani .....	091
<b>ATIVIDADES DE EDUCAÇÃO EM SAÚDE SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL PARA ESCOLARES.</b> Isabel Cristina Contel Genari, Silvia Helena Venturoli Perri, Sonia Regina Pinheiro, Cárís Maroni Nunes .....	099

- CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE INSULINA DURANTE AS FASES DO CICLO ESTRAL E EM CADELAS COM PIOMETRA.** Rodrigo Volpato, Eduardo Trevisol, Carlos Renato Freitas Guaitolini, Ana Augusta Pagnano Derussi, Priscilla Nascimento Guasti, Diego Gouvêa de Souza, Maria Denise Lopes, Eunice Oba .....108
- ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS E CITOLÓGICOS DO LEITE NA MASTITE CAPRINA SUBCLÍNICA.** Helio Langoni, Juliana Cristina Cardoso Citadella, Gustavo Puglia Machado, Patrícia Yoshida Faccioli, Simone Baldini Lucheis, Aristeu Vieira da Silva.....115

## EDITORIAL

### NOVAS CONQUISTAS DA REVISTA: EDITORAÇÃO ELETRÔNICA

Iniciamos o volume 19, que marca o primeiro após o início da submissão “on line” e a sua inserção na plataforma SEER (Sistema Eletrônico de Editoração de Revistas). É gratificante participar da evolução da revista, e sentir o apoio da comunidade científica local e de outras instituições de ensino e pesquisa do Brasil e do exterior, que tem apoiado com o envio de artigos, permitindo o crescimento e a maior visibilidade da revista.

Este número é portanto um marco na sua trajetória e traz seis artigos de revisão sobre temas relevantes como: Anexos fetais: uma fonte alternativa de células-tronco mesenquimais para a medicina veterinária equina; Diagnóstico por imagem na avaliação do sistema respiratório de equinos; Plasma rico em plaquetas: uma nova perspectiva terapêutica para medicina equina; Hipoadrenocorticismo em cães: revisão; Helmintoses zoonóticas transmitidas pelo consumo inadequado de peixes e Aspectos de infartos hemorrágicos em cães na tomografia computadorizada e ressonância magnética.

Estão publicados três relatos de caso interessantes e importantes como: Dermatofitose neonatal canina por *microsporum gypseum*; Tumor venéreo transmissível intra-ocular em cão: relato de caso e Citologia aspirativa por agulha fina no rim de um felino com peritonite infecciosa felina. Traz ainda quatro artigos originais: Avaliação clínica da denervação acetabular em cães com displasia coxofemoral atendidos no Hospital Veterinário da FMVZ – Botucatu – SP; Atividades de educação em saúde sobre leishmaniose visceral para escolares; Concentração sérica de insulina durante as fases do ciclo estral e em cadelas com piometra e Aspectos microbiológicos e citológicos do leite na mastite caprina subclínica.

O compromisso com a qualidade e a seriedade do Corpo Editorial e dos Assessores na emissão de parecer tem contribuído seguramente para o crescimento desta revista, da mesma forma que o apoio da Instituição e da Pró-Reitoria de Pesquisa com a sua manutenção no Programa de Apoio as Revistas da UNESP. Somos gratos a todos.

**Prof. Helio Langoni**  
Editor-Chefe



## ANEXOS FETAIS: UMA FONTE ALTERNATIVA DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS PARA A MEDICINA VETERINÁRIA EQUINA

Bruna De Vita<sup>1\*</sup>  
Loreta Lemes Campos<sup>2</sup>  
Amanda Jerônimo Listoni<sup>3</sup>  
Leandro Maia<sup>4</sup>  
Natália Pereira Paiva Freitas<sup>5</sup>  
Fernanda Landim e Alvarenga<sup>6</sup>  
Nereu Carlos Prestes<sup>7</sup>

### RESUMO

A equideocultura tem um papel importante no agronegócio brasileiro gerando divisas e diversos empregos diretos e indiretos. Por este motivo, a pesquisa científica em prol do desenvolvimento da produção equina brasileira tem refletido a tendência atual induzindo estudos principalmente nas áreas de medicina esportiva, neonatologia e biotecnologias da reprodução. Assim, na última década surgiu um grande interesse no estudo das células-tronco para a medicina equina principalmente para o tratamento das lesões musculoesqueléticas e osteoarticulares dos cavalos atletas, pelo seu alto potencial de aplicação na medicina veterinária regenerativa. As células-tronco (CT) podem ser classificadas quanto seu grau de potencialidade como totipotentes, pluripotentes, multipotentes e unipotentes, e quanto a sua origem como embrionárias ou somáticas. As complicações do uso terapêutico das CTs embrionárias levaram à identificação de diversas fontes de células-tronco adultas, entre estas as CT hematopoiéticas e CTs mesenquimais. A fonte mais utilizada de células-tronco mesenquimais (CTM) é a medula óssea, no entanto, como o seu número e a capacidade de diferenciação destas células diminuem com a idade, seu potencial terapêutico também declina com o tempo. Devido a estas limitações outras fontes de células-tronco mesenquimais foram identificadas, sendo que as células derivadas dos anexos fetais têm recebido bastante destaque. CTMs derivadas do líquido amniótico, membrana amniótica, sangue do cordão umbilical e tecido de cordão umbilical humanos já foram isoladas e caracterizadas demonstrando muitas vantagens em sua utilização, como a coleta não invasiva e indolor, e a possibilidade de formação de bancos de armazenamento. Além disso, existem muitos relatos de que as CTMs derivadas de anexos fetais expressam marcadores embrionários como o Oct-4 e o Nanog, o que demonstra que estas células podem manter características de pluripotência dos tecidos de onde se originam. Recentemente, pesquisas com CTMs derivadas dos anexos fetais de eqüinos têm sido realizadas e vêm obtendo excelentes resultados. Esta revisão de

<sup>1</sup> Doutoranda do Depto de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária. Distrito de Rubião Júnior S/N, CEP 18618970 Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista – Botucatu /SP.

<sup>2</sup> Aluna especial de Mestrado do Depto Reprodução Animal e Radiologia Veterinária. Distrito de Rubião Júnior S/N, CEP 18618970. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista – Botucatu /SP.

<sup>3</sup> Aluna de Mestrado do Depto de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária. Distrito de Rubião Júnior S/N, CEP 18618970 Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista – Botucatu /SP.

<sup>4</sup> Aluno de Doutorado do Depto de Clínica de Grandes Animais. Distrito de Rubião Júnior S/N, CEP 18618970. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista – Botucatu /SP.

<sup>5</sup> Aluna de Mestrado do Depto de Clínica de Grandes Animais. Distrito de Rubião Júnior S/N, CEP 18618970. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista – Botucatu /SP.

<sup>6</sup> Professora Titular do Depto de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária. Distrito de Rubião Júnior S/N, CEP 18618970. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista – Botucatu /SP.

<sup>7</sup> Professor Adjunto do Depto de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária. Distrito de Rubião Júnior S/N, CEP 18618970. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista – Botucatu /SP.

\*Bruna De Vita – Rodovia Antonio Butignolli, KM 10 – Cidade Universitária – BL B1, Apto 42. Rubião Júnior, Botucatu/SP. CEP 18618970. Tel: 14 8111 7530. E-mail: bruddev@gmail.com

literatura tem como objetivo reunir os estudos sobre as células-tronco mesenquimais com origem nos anexos fetais demonstrando-as como uma fonte alternativa, ética, de fácil obtenção e com grandes vantagens em sua utilização na medicina veterinária equina.

**Palavras-chave:** Células-tronco, anexos fetais, eqüinos

## **ANEXOS FETALES: UNA FUENTE ALTERNATIVA DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES PARA LA MEDICINA VETERINÁRIA EQUINA**

### **RESÚMEN**

La cría de caballos tiene un papel importante en la agroindustria brasilera en la generación de divisas y varios puestos de trabajo directos e indirectos. Por esta razón, hoy en día la investigación científica para el desarrollo de la producción brasilera equina refleja la tendencia actual elaborando estudios con énfasis en medicina deportiva, neonatología y biotecnología de la reproducción. Por lo tanto, en la última década ha surgido un grande interés en el estudio de células madre para la medicina equina principalmente para el tratamiento de lesiones osteoarticulares y músculo esquelético de los caballos deportivos, debido a su alto potencial para aplicación en medicina regenerativa veterinaria. Las células madre (CM) se pueden clasificar por su grado de potencialidad como unipotentes, totipotentes, pluripotentes y multipotentes, y cuanto a su origen como embrionarias o somáticas. Las complicaciones del uso terapéutico de CM embrionarias llevaron a la identificación de varias fuentes de células madre adultas, entre estas las CMs hematopoyéticas y mesenquimales. La fuente más común de células madre mesenquimales (MSC) es la médula ósea, sin embargo, como el número y capacidad de diferenciación de estas células disminuye con la edad, su potencial terapéutico también se reduce con el tiempo. Debido a estas limitaciones otras fuentes de células madre mesenquimales fueron identificados, y las células derivadas de los anexos fetales han recibido mucha atención. CMMs derivados de líquido amniótico, membrana amniótica, sangre del cordón umbilical y tejido de cordón umbilical humano fueron aisladas y caracterizadas mostrando muchas ventajas en su uso, tales como la recogida no invasiva y sin dolor, y la posibilidad de formación de bancos de almacenamiento. Además, hay muchos informes de que las CMMs derivadas de los anexos fetales expresan marcadores embrionarios, como Oct-4 y Nanog, lo que demuestra que estas células pueden mantener las características de pluripotencialidad de los tejidos de donde provienen. Recientemente, la investigación con CMMs derivadas de anexos fetales de equinos están siendo hechas y están obteniendo excelentes resultados. Esta revisión pretende reunir a los estudios sobre células madre mesenquimales procedentes de los anexos fetales mostrando como una fuente alternativa, ética, de fácil obtención y con grandes ventajas en su uso en medicina veterinaria equina.

**Palabras-clave:** Células madre, anexos fetales, equino

## **FETAL ANNEXES: AN ALTERNATIVE SOURCE OF MESENCHYMAL STEM CELLS FOR EQUINE VETERINARY MEDICINE**

### **ABSTRACT**

The horse breeding industry has an important role in the Brazilian agribusiness generating wealth and many direct and indirect jobs. For this reason, the scientific research for the development of Brazilian horse production has reflected the current trend leading to studies

focusing on sports medicine, neonatology and biotechnology of reproduction. Thus, in the last decade, the study of stem cells has come in scope to equine medicine primarily for the treatment of osteoarticular and musculoskeletal injuries of athletic horses, because it's high potential for application in veterinary regenerative medicine. Stem cells (SC) can be classified by degree of potential as totipotent, pluripotent, multipotent and unipotent, and by its origin as embryonic or somatic. Complications of the therapeutic use of embryonic SCs led to the identification of several sources of adult stem cells, as the hematopoietic SC and mesenchymal SC. The most common source of mesenchymal stem cells (MSCs) is bone marrow, however, as their number and differentiation capacity decrease with age, their therapeutic potential also declines with time. Because of these limitations other sources of mesenchymal stem cells were identified, and the cells derived from fetal annexes have received much attention. MSCs derived from amniotic fluid, amniotic membrane and umbilical cord blood and tissue have been isolated and characterized showing many advantages in its use, such as non-invasive, painless collection and the possibility of formation of storage banks. In addition, there are many reports that MSCs derived from fetal annexes express embryonic markers such as Oct-4 and Nanog, which demonstrates that these cells can maintain pluripotency characteristics of the tissue from which they arise. Recently, several studies using MSCs derived from fetal annexes of horses have been carried out with excellent results. This review aims to gather studies on mesenchymal stem cells derived from horse fetal annexes showing them as an alternative, ethical source, easy to obtain and with great advantages to be used in equine veterinary medicine.

**Key words:** Stem cells, fetal annexes, equine

## INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa lugar de destaque na equideocultura mundial sendo que o agronegócio do equino movimentava cerca de R\$7,5 bilhões e gera cerca de 3,2 milhões de empregos em nosso país. O segmento do esporte equestre movimentava cerca de R\$705 milhões e emprega cerca de 20500 pessoas (1). Neste contexto, muitas pesquisas científicas estão sendo realizadas para o incremento da produção equina nacional. Estas pesquisas refletem a tendência atual da indústria equina, com enfoque na medicina esportiva, neonatologia, diagnóstico clínico, novas tecnologias da reprodução e sanidade dos equinos (2).

Sendo assim, o interesse na pesquisa com células-tronco na medicina veterinária cresceu muito nos últimos anos devido ao seu alto potencial na regeneração de tecidos e órgãos lesados e aplicação no campo terapêutico (3). Pesquisas que utilizam animais como modelos experimentais são de extrema importância para medicina humana, sendo descritas como pré-requisito no caminho da aprovação de sua utilização clínica (4-6). Na medicina equina, os estudos com células-tronco tem se dedicado principalmente ao tratamento de lesões músculoesqueléticas e osteoarticulares, particularmente em cavalos atletas, a fim de melhorar a arquitetura e constituição do tecido cicatricial, visando a produção de uma qualidade tecidual o mais próxima do normal possível. Porém, alguns poucos estudos em desenvolvimento também visam utilizar esta tecnologia para diminuir perdas econômicas relacionadas ao potencial reprodutivo de alguns animais.

As células-tronco diferem de outras células do organismo por serem indiferenciadas sendo capazes de se multiplicar por longos períodos ou ainda sendo capazes de se diferenciar em células especializadas de um tecido em particular. Estas células podem ser classificadas quanto seu grau de potencialidade como totipotentes, pluripotentes, multipotentes e unipotentes, e quanto a sua origem como embrionárias ou somáticas (7,8).

Como as células-tronco embrionárias são capazes de diferenciação em todos os tipos celulares encontrados no indivíduo adulto, a utilização destas células em sua forma indiferenciada pode seguir um programa desorganizado de diferenciação dando origem a tumores (teratomas). Este fato, e as implicações éticas na utilização de células embrionárias limitam a utilização das mesmas como instrumento de pesquisa (7,9).

Pesquisas nas últimas décadas resultaram na descoberta de uma grande variedade de células-tronco adultas, sendo as células-tronco hematopoiéticas da medula óssea as conhecidas há mais tempo. Entre as células-tronco adultas, destacam-se as células-tronco mesenquimais com capacidade de diferenciação em muitas linhagens de células maduras (10).

A fonte mais utilizada de células-tronco mesenquimais é a medula óssea, no entanto, como o seu número e a capacidade de diferenciação destas células diminuem com a idade, seu potencial terapêutico também declina com o tempo (11). Devido a estas limitações outras fontes de células-tronco mesenquimais foram identificadas (12), sendo que as células derivadas dos anexos fetais tem recebido bastante destaque por se apresentarem como uma fonte de obtenção não invasiva, de tecidos normalmente descartados, com grande possibilidade de coleta ao nascimento para formação de bancos de armazenamento para uso posterior (13-18).

Além disto, as células-tronco mesenquimais derivadas dos anexos fetais como o líquido amniótico, a membrana amniótica e o cordão umbilical, preservam características dos tecidos embrionários de que se originam e muitos estudos estão indicando que estas células exibem características de células embrionárias como a expressão do marcador Oct-4, grande capacidade proliferativa sem demonstrar imunogenicidade e tumorigenicidade e ainda capacidade de diferenciação em diversos tecidos, inclusive extra mesenquimais (14,19,18).

### **Células-Tronco Mesenquimais Derivadas dos Anexos Fetais**

Na última década houve um crescente interesse na investigação quanto à presença de células-tronco mesenquimais em tecidos fetais como na placenta, líquido amniótico, sangue do cordão umbilical, matriz extravascular de cordão umbilical e membrana amniótica (20,14,21,18). Este fato se deve a busca de novas fontes ricas de células-tronco em alternativa a utilização da medula óssea e à possibilidade da formação de bancos de armazenamento de células coletadas ao nascimento e congeladas para uso posterior (20,14,15,22,18).

Os anexos fetais são fontes de células-tronco extra-embrionárias, com grande potencial de aplicação na medicina regenerativa e perinatal. Células tronco derivadas das membranas placentárias, líquido amniótico, cordão umbilical ou tecidos fetais aparecem em maior quantidade e possuem maior potencial de expansão e de diferenciação do que as derivadas de adultos (15). Fauza (23) descreveu as membranas placentárias e o líquido amniótico como únicas fontes que contém diferentes populações de células-tronco, apresentando subpopulações mesenquimais, hematopoiéticas, trofoblásticas e possivelmente células-tronco embrionárias ainda mais primitivas e indiferenciadas.

O uso dos anexos fetais como fonte de células-tronco tem inúmeras vantagens em potencial. Além da grande quantidade de células, grande potencial de expansão e diferenciação, permite uma forma de coleta não invasiva de tecidos que, normalmente, seriam descartados após o parto. Este fato permite que o uso dessas células na medicina humana seja mais eticamente aceitável, fazendo dessas fontes um grande atrativo para medicina regenerativa (18).

As células-tronco derivadas dos anexos fetais preservam características dos tecidos embrionários de onde se originaram e muitos estudos estão indicando que as mesmas exibem algumas características de células-tronco embrionárias como a expressão de alguns marcadores de superfície como o Oct-4 e grande capacidade proliferativa, sem demonstrar

imunogenicidade e tumorigenicidade (não foi demonstrada a formação de teratomas após sua aplicação). Entretanto, o potencial de diferenciação destas células seria intermediário, ou seja, entre a pluripotencialidade das células embrionárias e as multipotencialidade das células adultas. Estas características abriram uma nova perspectiva no estudo da biologia do desenvolvimento e na medicina regenerativa, não só para humanos, mas também para animais (18).

### **Células-Tronco Derivadas do Líquido Amniótico**

O líquido amniótico é formado por uma grande quantidade de células em suspensão, derivadas do embrião ou de origem extra-embriônica. Esta população celular varia com a fase gestacional e traduz as mudanças ocorridas no feto e seus anexos, estando bastante vinculada com a maturidade fetal (24). As células presentes no líquido amniótico apresentam tamanho variável de 6 a 50  $\mu\text{m}$ , e morfologia variando de escamosas a arredondadas (25).

A detecção de células progenitoras no líquido amniótico humano foi inicialmente relatada em 1993, quando células arredondadas, pequenas e nucleadas, foram encontradas antes da 12ª semana de gestação sendo identificadas como progenitoras hematopoiéticas, possivelmente provenientes da vesícula vitelínica (26). Hoje, sabe-se que três tipos celulares são encontrados no líquido amniótico: Células Epitelióides (E), com origem na pele e trato urinário do feto; Células Amnióticas (AF) propriamente ditas, originadas nas membranas placentárias e trofoblásticas (produtoras de estrógenos, progesterona e gonadotrofina coriônica humana); e células fibroblásticas (F), originadas dos tecidos conjuntivos, apresentando características e marcadores para CTMs as quais devem ser chamadas de CTMs derivadas do líquido amniótico (15). As células dos tipos AF e E aparecem no início do cultivo enquanto as células F aparecem posteriormente, porém somente AF e F persistem enquanto as células do tipo E desaparecem com o passar do tempo (27).

Na medicina humana o líquido amniótico possui como vantagem a facilidade de obtenção, uma vez que a amniocentese é procedimento de rotina como modo de propedêutica fetal e associado a um baixo número de complicações, podendo também ser coletado em cesarianas eletivas (16,15,18). Já na medicina veterinária podem ser facilmente obtidos no momento do parto normal ou em cesarianas e também em frigoríficos abatedouros, já que úteros gravídicos são considerados como descarte (18,28,21,17).

Células derivadas do líquido amniótico, isoladas e cultivadas *in vitro* têm expressado, frequentemente, marcadores de pluricelularidade e capacidade de diferenciação em tecidos das três camadas germinativas (20,13,29,21). De Coppi et al. (30) observaram a diferenciação de CT do líquido amniótico em até 6 diferentes linhagens: osteogênica, adipogênica, miogênica, endotelial, neurogênica e hepática. Visando determinar se as células do líquido amniótico abrigam potencial de diferenciação em células neurogênicas, Prusa et al. (20) observaram que células cultivadas em meio padrão apresentaram a expressão de marcadores neurogênicos esporadicamente, no entanto, quando cultivadas em meio de indução de diferenciação neurogênica a expressão destes marcadores aumentou consideravelmente.

Tsai et al. (13) também obtiveram sucesso no isolamento e na cultura de CMTs provenientes do líquido amniótico a partir da amniocentese no segundo trimestre da gestação de 20 mulheres. Além disso, uma subpopulação das células cultivadas expressaram positivamente o gene de pluricelularidade OCT-4. Quando as CMTs foram cultivadas em meio acrescido de dexametasona, insulina, isobutimetilxantina e indometacin, foram diferenciadas em osteócitos. A osteogênese foi confirmada pela coloração de Von Kossa para acúmulo de mineralizações de cálcio. Já quando cultivadas em meio acrescido de  $\beta$ -mercaptoetanol e bFGF foram diferenciadas em células neuronais, a confirmação foi realizada por ensaio imunocitoquímico. Em 2006 os mesmos autores reafirmaram a expressão de

marcadores de pluricelularidade Oct -4 e NANOG-, e verificaram a expressão de diversos marcadores neurogênicos como NES, TUBB3, NEFH, NEUNA60 GALC E GFAP antes e depois da indução da diferenciação neurogênica (31).

Cabral et al. (16) concluíram que as CTMs do líquido amniótico humano obtidas por amniocentese no segundo terço da gestação foram capazes de se diferenciar em células miogênicas quando cultivadas em meio acrescido de DMSO, e em células adipogênicas quando cultivadas em meio acrescido de dexametasona, teofilina, insulina e indometacina. A diferenciação celular foi avaliada pela dosagem de triglicérides no caso da diferenciação adipogênica, e da dosagem de creatinofosquinase, desidrogenase láctica e aldolase para diferenciação miogênica, ambos com o método enzimático colorimétrico utilizando o aparelho ADVIA 2400 (Bayer®). A cariotipagem a fim de demonstrar se a cultura celular induziu alterações cromossômicas demonstrou resultados compatíveis com o cariótipo obtido antes da cultura celular.

Células do líquido amniótico obtidas durante o pré-natal de mulheres mantiveram suas características iniciais como a aderência ao plástico, morfologia fibroblastóide, a expressão dos marcadores CD73, CD105, CD44, CD29, CD90 e CD13, a não expressão dos marcadores CD45 e CD34 bem como viabilidade de 80% mesmo após a criopreservação pelo período de 5 meses, quando foram descongeladas e recultivadas com sucesso após ao nascimento do bebê, visando sua aplicação na medicina regenerativa neonatal (22). A expressão de Oct-4, SSEA4, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105 e as diferenciações nas linhagens osteogênica, adipogênica e neurogênica também foram demonstradas por Phermthai e colaboradores em 2010 (32).

Uma robusta deposição mineral de cálcio em um molde biodegradável foi obtida pelo cultivo 3D de células do líquido amniótico, sugerindo grande potencial da utilização destas células na ortopedia (33). Outro estudo demonstrou o isolamento e cultivo de células-tronco do líquido amniótico, bem como sua diferenciação osteogênica quando as células foram cultivadas diretamente em meio acrescido de  $\beta$ -glicerofosfato, ácido ascórbico e dexametasona, dispensando-se a fase de cultivo primário em meio padrão e acelerando-se o processo. A produção de nódulos mineralizados de cálcio pôde ser observada após 18 dias de cultivo, pela coloração Alizarin Red. Este trabalho também evidenciou, via RT-PCR, que estas células expressaram todos os marcadores de osteogênese a partir do 30º dia de cultivo (34).

Antigamente pensava-se que as melhores amostras de células-tronco do líquido amniótico estavam presentes no segundo terço da gestação e eram obtidas por amniocentese no período pré-natal. No entanto, o estudo das características biológicas de CMTs do líquido amniótico do terceiro terço da gestação de mulheres obtidos durante cesariana de fetos a termo demonstrou que as células podem ser isoladas e cultivadas com grande sucesso. Além da facilidade de expansão estas células não apresentaram propriedade tumorgênicas, e foram induzidas a diferenciar-se em osteócitos no cultivo adicionando-se de ácido ascórbico e  $\beta$ -glicerofosfato. A diferenciação foi comprovada ao observar-se a expressão do gene osteopontina por RT-PCR. Os antígenos de superfície específicos das CTMs foram caracterizados por citometria de fluxo e, da mesma forma, observou-se a expressão do gene de pluripotência OCT-4 (22).

You et al. (29) também concluíram que as células coletadas no momento do parto são facilmente expandidas e induzidas à diferenciação em muitos tipos celulares. As células expressaram o marcador de pluricelularidade Oct-4 e os marcadores CD29, CD73, CD90 e CD 105, não expressando os marcadores CD31, CD45 e CD61. Além disto, quando transplantadas em músculos de ratos não produziram a formação de tumores. Os autores concluíram que, no futuro, o líquido amniótico será uma providencial e conveniente fonte para formação de um banco de células-tronco.

Na medicina veterinária equina, ainda são poucos os estudos realizados com células-tronco derivadas do líquido amniótico. No entanto, alguns autores já descreveram o isolamento e caracterização de células desta fonte coletadas durante o parto de equinos. A população de células de fluido amniótico demonstrou ter maior taxa de crescimento e proliferação do que populações de células adultas e outras células fetais. Estas células apresentaram diferenciação avançada para diversas linhagens celulares como adipogênica, osteogênica, miogênica e neurogênica, bem como outras características marcantes: a expressão de marcadores de pluripotência como o Oct-4 (17). Recentemente, CTMs do líquido amniótico equino foram novamente isoladas com sucesso, demonstrando grande capacidade de proliferação e apresentando a expressão de marcadores típicos de CTMs e capacidade de diferenciação em três diferentes linhagens celulares (28).

Em nosso laboratório, obtivemos CTMs do líquido amniótico de úteros gravídicos de diferentes idades gestacionais coletados em abatedouro. As células foram isoladas e expandidas, apresentando morfologia fibroblastóide, e caracterizadas imunofenotipicamente sendo coradas para vimentina, CD44, PCNA, e não coradas para citoqueratina e Oct-4 demonstrando sua origem mesenquimal e seu potencial de multiplicação. A não observação da expressão de Oct-4 difere dos resultados demonstrados na literatura e pode ser explicada pela heterogeneidade da população celular encontrada em cada amostra colhida (35). Além disso diferenças na metodologia de avaliação não podem ser descartadas uma vez que em nosso estudo foi realizada a marcação *in situ* por imunofluorescência e não uma avaliação quantitativa por citometria de fluxo. Em concordância com os demais trabalhos da literatura, as células isoladas demonstraram capacidade de diferenciação nas linhagens osteogênica e adipogênica (36).

### **Células-Tronco Derivadas da Membrana Amniótica**

A membrana amniótica demonstra propriedades antiinflamatórias, antibióticas e de proteção às feridas. Estas propriedades, combinadas com a ausência ou baixa imunogenicidade, levaram ao uso clínico da membrana amniótica como curativo para queimaduras de pele, úlceras nos membros inferiores e diversas lesões oftálmicas. No entanto, nos últimos anos um novo foco de pesquisa quanto às células derivadas da membrana amniótica surgiu: Sua utilização na terapia celular e medicina regenerativa em transplantes alogênicos ou xenogênicos (37).

Na membrana amniótica estão presentes dois tipos celulares de diferentes origens: células epiteliais amnióticas derivadas do ectoderma embrionário e células amnióticas mesenquimais derivadas do mesoderma embrionário (38). As células epiteliais amnióticas humanas desenvolvem-se a partir do epiblasto, 8 dias após a fertilização e antes da gastrulação do embrião, abrindo a possibilidade de que essas células possam manter a plasticidade das células embrionárias. Células epiteliais amnióticas foram isoladas e apresentaram marcadores de superfície característicos de células pluripotentes como NANOG e Oct-4. Sob certas condições de cultivo formam estruturas esféricas de aglomerados celulares que retêm características de células-tronco. Estas células possuem a vantagem de não necessitar de *feeder* como as células-tronco embrionárias e apesar de demonstrar possuir capacidade de diferenciação *in vitro* nos tecidos endodermis (células do fígado e pâncreas), mesodermis (cardiomiócitos) e ectodermis (células neurais), não produziram tumores após o transplante em ratos (14).

Células-tronco mesenquimais da placenta humana foram capazes de se diferenciar nas linhagens osteogênica, adipogênica e condrogênica (39). Estes resultados foram confirmados (40), que mostraram que as células-tronco derivadas da placenta apresentaram marcadores de superfície de células-tronco mesenquimais e celular como SSEA-4, TRA-1-61, TRA-1-80 e

9, que também são capazes de sofrer diferenciação neurogênica. Os mesmos autores documentaram uma taxa proliferativa significativamente maior das células derivadas da placenta do que das células derivadas de medula óssea.

Recentemente estudos demonstraram o isolamento eficiente de células-tronco da membrana amniótica de humanos, sendo que as mesmas expressaram marcadores de superfície característicos de células mesenquimais como CD44, CD90 e vimentina e não expressaram CD45 (41). Díaz-Prado et al. (42) demonstraram que ambas as células epiteliais e as células mesenquimais da membrana amniótica humana apresentaram o perfil imunofenotípico e o potencial de diferenciação na maioria das linhagens mesodermiais similares, propondo a utilização de células derivadas deste tecido como boas candidatas para a terapia celular e medicina regenerativa.

Os estudos com células-tronco provenientes da membrana amniótica de eqüinos são ainda mais escassos do que os estudos com células derivadas do líquido amniótico. No entanto, obtivemos sucesso no cultivo e na caracterização de células-tronco mesenquimais derivadas da membrana amniótica canina e eqüina. Estas células foram obtidas pela digestão enzimática em solução de colagenase que após o cultivo demonstraram habilidade de aderência ao plástico, morfologia fibroblastóide, e foram marcadas positivamente para vimentina e não coradas para citoqueratina por meio de imunocitoquímica, além de expressar os marcadores característicos de células mesenquimais CD44 e CD 90 e não expressarem o CD34 (43,44.).

## **Células-Tronco derivadas do Cordão Umbilical**

### **1) Células-Tronco derivadas do Sangue do Cordão Umbilical**

Na medicina humana o sangue de cordão umbilical é utilizado há mais de 20 anos como fonte de células-tronco hematopoiéticas para transplante. Além disto, as células do sangue de cordão umbilical e as células derivadas do tecido extravascular do cordão já demonstraram potencial de diferenciação pluripotente, ou seja, para diversas linhagens celulares das três camadas germinativas *in vitro* e *in vivo*, o que as torna uma fonte de células-tronco rica, ética e interessante (19).

O sangue do cordão pode ser recuperado ao nascimento utilizando-se um kit estéril de coleta que consiste em uma bolsa de coleta contendo um anticoagulante (citrato ou heparina) conectados a uma ou várias agulhas de coleta. Estas amostras podem ser coletadas *in útero*, antes da liberação da placenta ou ainda, *ex útero*, em partos normais ou em cesarianas sem causar dor à criança ou à mãe (19).

O potencial clonogênico de células hematopoiéticas do cordão umbilical humano foi observado pela primeira vez em 1974 por Knudtson (45) e em 1989 Broxmeyer e colaboradores (46) reportaram a confirmação da presença de células-tronco hematopoiética no sangue do cordão umbilical. A partir de então muitos outros estudos foram realizados sobre o potencial clonogênico, a propriedade de auto-renovação e a capacidade de expansão *in vitro* destas células (19) e o transplante de células-tronco hematopoiéticas do sangue de cordão umbilical vem sendo utilizado com sucesso no tratamento de inúmeras doenças malignas e benignas (47).

Além disto, em 2004 foi relatada a descoberta de células-tronco não hematopoiéticas, pluripotentes chamadas de células-tronco *embryonic-like* (48) que foram capazes de se diferenciar *in vitro* em células neuronais, hepatobiliares, pancreáticas, endoteliais, do músculo liso, adipócitos, condroblastos e osteoblastos (49,50,47).

Na medicina veterinária eqüina ainda são poucos os estudos sobre as células-tronco do sangue de cordão umbilical e seu armazenamento comercial para futuros transplantes autólogos. No entanto, CTMs do cordão umbilical eqüino foram isoladas, utilizando-se



amostras a fresco, coletadas no momento do parto, pela primeira vez em 2007. Estas células apresentaram rápida aderência a placa de cultivo e expansão, morfologia fibroblastóide, e foram eficientemente diferenciadas *in vitro* em osteócitos, condrócitos e adipócitos (51). No mesmo ano, foi demonstrado que uma população de, CTMs do sangue de cordão umbilical eqüino coletados ao nascimento, expressaram os marcadores de pluricelularidade Oct-4, SSEA,-I, Tra I-60 e Tra I-8. Estas células também foram diferenciadas para condrócitos, osteócitos, hepatócitos, adipócitos e miócitos (52).

Ao comparar o potencial condrogênico de CTMs do sangue do cordão umbilical e da medula óssea de equinos, observou-se que ambas foram capazes de se diferenciar em condrócitos, coradas positivamente para proteoglicanos e expressando marcadores para cartilagem. No entanto, as células de origem no sangue de cordão umbilical apresentaram alteração na morfologia de cartilagem hialina em menor tempo (6 dias). Já, a expressão de colágeno tipo 21, aggrecan, CD-RAP e Sox9 foi alta em ambos os tipos celulares utilizados (53).

Schuch et al. (54) demonstraram que 80% das 79 amostras de células do sangue de cordão umbilical eqüino, coletadas no momento do parto, foram isoladas, expandiram e foram capazes de diferenciação *in vitro* em diferentes linhagens celulares. Os autores sugerem que a utilização de fibronectina nas placas de cultivo e a redução da tensão de oxigênio de 20% para 5% na estufa melhoram a taxa de isolamento destas células, e ainda que a senescência das mesmas é atingida após a vigésima passagem.

## 2) Células-Tronco Derivadas da Matriz Extravascular do Cordão Umbilical

O cordão umbilical é recoberto pelo epitélio amniótico que protege uma matriz gelatinosa e elástica de mucopolissacarídeos (ácido hialurônico e sulfato de condroitina) chamada de "Wharton's Jelly" após sua descrição por Thomas Wharton em 1856. O âmnion e a gelatina de Wharton protegem três importantes vasos sanguíneos, essenciais para o desenvolvimento do feto: um grande vaso sanguíneo que supre o desenvolvimento fetal com sangue placentário, rico em nutrientes e oxigênio e dois vasos menores, que retornam o sangue fetal, com dióxido de carbono, resíduos e outras toxinas (19).

Muitos estudos da medicina humana têm reportado a possibilidade de obtenção de CTMs não apenas do sangue do cordão umbilical, como também da gelatina de Wharton. Em 1991 a possibilidade de isolamento de células fibroblastóides derivadas da gelatina de Wharton foi relatada pela primeira vez (19). A academia francesa de medicina, em 2010, relatou que consideram as pesquisas com células derivadas do cordão umbilical extremamente promissoras, podendo fornecer novas ferramentas para o tratamento de inúmeras doenças (19).

Um simples fragmento de 5 a 10 mm<sup>3</sup> de gelatina de Wharton tem o potencial de render a produção de mais de um bilhão de CTMs em 30 dias (19). Considerando-se o tamanho médio do cordão umbilical de humanos de 50cm e, o ainda mais longo cordão umbilical eqüino, pode-se prever que esta fonte será cada vez mais clinicamente relevante com os avanços das pesquisas médicas e veterinárias.

Recentemente inúmeros estudos da medicina humana relataram o isolamento e a capacidade de diferenciação das células derivadas do tecido extravascular do cordão umbilical em células ósseas, da pele, endotélio, hepáticas e em linhagens neurogênicas (55-58).

A medicina veterinária eqüina também tem demonstrado interesse nesta fonte de CTMs. O Isolamento e cultivo de CTMs obtidas da gelatina de Wharton de cordões umbilicais eqüinos foram realizados com sucesso. As células demonstraram morfologia fibroblastóide e apresentaram a expressão de marcadores embrionários como Oct-4, SSEA-4 e c-Kit, bem como a expressão de c-Myc (proliferação celular), CD54, CD90, CD105 e CD146. Não

expressaram os marcadores CD34, CD45 e CD133. Além disso, as células demonstraram potencial de diferenciação *in vitro* para linhagens osteogênica, adipogênica, condrogênica e neurogênica (59).

Em 2008 Cremonesi et al. (60) consideraram a obtenção de CTMs do tecido do cordão de eqüinos um procedimento não invasivo, em que as células são caracterizadas por alta taxa de proliferação e capacidade de diferenciação, com expressão dos marcadores Oct-4 e Sox-2. Estas células também mostraram a habilidade de formar esferas de aglomerado celular já reportadas na literatura (14).

Em nosso laboratório isolamos CTMs por meio da digestão enzimática em solução de colagenase da matriz extravascular do cordão umbilical canino e equino e, após o cultivo, as mesmas demonstraram capacidade de aderência ao plástico, morfologia fibroblastóide, e foram marcadas positivamente para vimentina, não sendo coradas para citoqueratina através de imunocitoquímica, além de expressar os marcadores característicos de células mesenquimais CD44 e CD 90 e não expressarem o CD34 (43,44).

Ao comparar as CTMs derivadas de medula óssea, tecido de cordão umbilical e do líquido amniótico eqüino, observou-se que todos os tipos celulares expressaram os mesmos marcadores: positivas para CD105, CD29, CD44 e negativos para CD34, também expressaram Oct-4, SSEA-4 e TRA I-60, apresentando ainda a capacidade de diferenciar-se na linhagem osteogênica. No entanto, as células derivadas da medula óssea e do líquido amniótico apresentaram uma taxa de proliferação significativamente maior do que as células derivadas do tecido do cordão umbilical (17). No entanto, observou-se que a suplementação com EGF (fator de crescimento epidermal) no meio de cultivo de CTMs derivadas do tecido de cordão umbilical eqüino promoveu um aumento considerável na taxa de proliferação das mesmas, sem afetar a diferenciação condrogênica e adipogênica, promovendo o aumento da deposição de matriz de cálcio extra celular durante a diferenciação osteogênica (61). Também foi observado que a utilização de componentes como cálcio e calciomimético NPS R-476 no meio de cultivo de células derivadas do tecido de cordão umbilical eqüino podem aumentar consideravelmente a taxa de proliferação destas células (62), demonstrando que CTMs de origens diferentes podem requerer diferentes nutrientes para seu total desenvolvimento *in vitro*.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Levando em consideração que o agronegócio do eqüino é uma parcela de grande importância na economia Brasileira gerando riquezas e empregos em nosso país, podemos concluir que as pesquisas no intuito de incrementar a produção nacional e diminuir perdas econômicas são de extrema relevância.

Neste sentido, os estudos relativos à utilização de células-tronco na medicina veterinária eqüina são de grande interesse devido ao seu enorme potencial de uso na regeneração de tecidos e órgãos lesados e aplicação no campo terapêutico, incluindo a cirurgia regenerativa, principalmente no estabelecimento de novas terapias para as lesões osteomusculares e condroarticulares dos cavalos atletas.

Baseando-se nas pesquisas realizadas na medicina humana e nos resultados obtidos recentemente na medicina eqüina, também podemos ressaltar que os anexos embrionários são uma fonte ética de células-tronco mesenquimais, de fácil obtenção e coletadas de maneira não invasiva. Além disto, estas células apresentam grande capacidade de proliferação e potencial de diferenciação em linhagens celulares mesodermis, endodermis e ectodermis, apresentando-se como uma alternativa vantajosa de obtenção de células-tronco para a medicina veterinária equina.

**REFERÊNCIAS**

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da pecuária municipal. 2011. [cited 2011 Abr 20]. Available from: <<http://www.ibge.gov.br/home/>>
2. Almeida FQ, Silva VP. Progresso científico em equideocultura na 1a década do século XXI. *Rev Bras Zootec.* 2010;39(supl esp):119-29.
3. Violini S, Ramelli P, Pisani LF, Gorni C, Mariani P. Horse bone marrow mesenchymal stem cells embryo stem cell markers and show the ability for fenogenic differentiation by in vitro exposure to BMP-12. *BMC Cell Biol.* 2009;10:172-80.
4. Meisner R. Preclinical studies of a somatic stem cell therapy: pathway to clinical approval. In: *Proceedings of the ACVP/ASVCP Concurrent Annual Meetings; 2009, Monterey. Monterey: IVIS; 2009.*
5. Barry F, Murphy M, Dwyer R, O'Brien T, Kavanagh C, Duffy G. Stem cell therapy for tissue repair: the stem cell-host interaction. In: *Proceedings of the 15° ESVOT Congress; 2010, Bolonha. Bolonha: IVIS; 2010. p.43.*
6. Gandolfi F, Vanelli A, Pennarossa G, Rahaman M, Acocella F, Brevini TAL. Large animal models for cardiac stem cell therapies. *Theriogenology.* 2011;75:1416-25.
7. Zago MA, Covas DT. *Células-tronco: a nova fronteira da medicina.* São Paulo: Atheneu; 2006.
8. Mingroni-Netto RC, Dessen EMB. Células-tronco: o que são e o que serão? *Genet Esc.* 2006;1:12-5.
9. Pereira LV. A importância do uso das células-tronco para a saúde pública. *Cienc. Saude Colet.* 2008;13:7-14.
10. Nardi NB. Células-tronco: fatos, ficção e futuro. *Genet Esc.* 2007;2:25-9.
11. Muller S. Age-related decline in the osteogenic potencial of human bone marrow cells cultured in three dimensional collagen sponges. *J Cell Biochem.* 2001;86:583-90.
12. Minguell J, Erices A, Congent P. Mesenchymal stem cells. *Exp Biol Med.* 2001;(226):507-20.
13. Tsai MS, Lee JL, Chang YJ, Hwang SM. Isolation of human multipotent mesenchymal stem cells from second-semester amniotic fluid using a novel model two-stage culture protocol. *Hum Reprod.* 2004;19:1450-6.
14. Miki T, Lehmann T, Cai H, Stolz DB, Strom SC. Stem cell characteristics of amniotic epithelial cells. *Stem Cells.* 2005;23:1549-59.
15. Gucciardo L, Lories R, Ochsenbeiri-Kölble N, Done E, Zwijsen A, Deprest J. Fetal mesenchymal stem cells: isolation, properties and potencial use in perinatology and regenerative medicine. *Int J Obstet Gynaecol.* 2008;16:166-72.

16. Cabral ACV, Ângelo PC, Leite HV, Pereira AK, Lpoes APBM, Oliveira MB, et al. Isolamento, diferenciação e aspectos bioquímicos de células-tronco de líquido amniótico. *Rev Assoc Med Bras.* 2009;54:489-93.
17. Lovati AB, Corradetti B, Consiglio AL, Recordati C, Bonacina E, Bizzaro D, et al. Comparison of equine bone marrow, umbilical cord, and amniotic fluid-derived progenitor cells. *Vet Res Commun.* 2010;35:103-21.
18. Cremonesi F, Corradetti B, Lange CA. Fetal adnexa derived stem cells from domestic animals: progress and perspectives. *Theriogenology.* 2011;75:1400-15.
19. Forraz N, MCGuckin CP. The umbilical cord: a rich and ethical stem cell source to advance regenerative medicine. *Cell Prolif.* 2010;44(Suppl 1):60-9.
20. Prusa AR, Marton E, Rosner M, Bettelheim D, Lubec G, Pollack A, et al. Neurogenic cells in human amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191:309-14.
21. Uranio FM, Valentini L, Lange-Consiglio A, Caira M, Guaricci AC, L'abbate A, et al. Isolation, proliferation, cytogenetic, and molecular characterization and in vitro differentiation potency of canine stem cells from adnexa: A comparative study of amniotic fluid, amnion and umbilical cord matrix. *Mol Reprod Dev.* 2011 doi: 10.1002/mrd.21311.
22. Steigman SA, Armant M, Bayer-Zwirello L, Kao GS, Silberstein L, Ritz J, et al. Preclinical regulatory validation of 3-stage amniotic mesenchymal stem cell manufacturing protocol. *J Pediatr Surg.* 2009;43:1164-9.
23. Fauza D. Amniotic fluid stem cells. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2004;18: 877-91.
24. Gosden CM. Amniotic fluid cell types and culture. *Br Med Bull.* 1983;39:348-54.
25. Bydlowski SP, Debes AA, Duarte SA, Janz FL, Cavaglieri RC, Maselli LM. Células-tronco do líquido amniótico. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2009;31:45-52.
26. Torricelli F, Brizzi LB, Bernabei PA. Identification of hematopoietic progenitor cells in human amniotic fluid before 12th week of gestation. *Ital J Anat Embryol.* 1993;98:118-26.
27. Prusa AR, Hengstschlager M. Amniotic fluid cells and human stem cell research: a new connection. *Med Sci Monit.* 2002;8:RA253-RA7.
28. Park SB, Seo MS, Kang JG, Chae JS, Kang KS. Isolation and characterization of equine amniotic fluid-derived multipotent stem cells. *Cytotherapy.* 2011;13:341-9.
29. You Q, Tong X, Guan Y, Zhang D, Huang M, Zhang Y, et al. The biological characteristics of human third semester amniotic fluid stem cells. *J Int Med Res.* 2009;37:105-12.

30. De Coppi P, Bartsch Jr G, Siddiqui MM, Xu T, Santos CC, Perin L, et al. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nat Biotechnol.* 2007;25:100-6.
31. Tsai MS, Hwang SM, Tsai LY, Cheng FJ, Lee JL. Clonal Amniotic Fluid-derived stem cells express characteristics of both mesenchymal and neural stem cell. *Biol Reprod.* 2006;74:545-51.
32. Phermthai T, Odglun Y, Julavijitphong S, Titapant V, Chuenwattana P, Vantanasiri C, et al. A novel method to derive amniotic fluid stem cell for therapeutic purposes. *BMC Cell Biol.* 2010;11:1-9.
33. Peister A, Deutsch ER, Kolambbkar Y, Hutmacher DW, Guldberg RE. Amniotic fluid stem cells produce robust mineral deposits on biodegradable Scaffolds. *Tissue Eng Part A.* 2008;15:3129-38.
34. Antonucci I, Iezzi I, Morizio E, Mastrangelo F, Pantalone A, Mattioli-Belmonte M, et al. Isolation of osteogenic progenitors from human amniotic fluid using a single step cultura protocol. *BMC Biotechnol.* 2009;9:1-9.
35. De Vita B, Maia L, Martin I, Freitas NPP, Listoni AJ, Campos LL, et al. Éxito en la caracterización inmunocitoquímica de células madre mesenquimales del líquido amniótico equino. In: *Anais do Primer Curso Congreso Internacional de Ingeniería de Tejidos y Medicina Regenerativa; 2011, Bogotá. Bogotá: Universidad Nacional De Colombia; 2011. p.860.*
36. De Vita B, Maia L, Martin I, Freitas NPP, Pardo M, Monteiro BA, et al. Aislamiento y diferenciación de células madre mesenquimales de líquido amniótico equino en linaje adipogénico y osteogénico. In: *Anais do Primer Curso Congreso Internacional de Ingeniería de Tejidos y Medicina Regenerativa; 2011, Bogotá. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2011. p.890.*
37. Parolini O, Caruso M. Review: preclinical studies on placenta-derived cells and amniotic membrane: an update. *Placenta.* 2011;32(Suppl 2):S186-95.
38. Sakuragawa N, Kakishita K, Kikuchi A, Okano H, Uchida S, Kamo I, et al. Human amnion mesenchyme cells express phenotypes of neuroglial progenitor cells. *J Neurosci Res.* 2004;78:208-14.
39. Igura K, Zhang X, Takahashi K, Mitsuru A, Yamagushi S, Takashi TA. Isolation and characterization of mesenchymal progenitor cells from corionic villi of human placenta. *Cytotherapy.* 2004;6:543-53.
40. Yen BL, Huang HI, Chien CC, Jui HY, Ko BS, Yao M, et al. Isolation of multipotent cells from human placenta. *Stem Cells.* 2005;23:3-9.
41. Shuang-Zhi H, Ping S, Xi-Ning P. Culture and identification of human amniotic mesenchymal stem cells. *Chin Med Sci J.* 2010;25:211-4.

42. Díaz-Prado S, Muiños-López E, Hermida-Gomez T, Cicione C, Rendal-Vázquez ME, Fuentes-Boquete I, et al. Human amniotic membrane as an alternative source of stem cells for regenerative medicine. *Differentiation*. 2011;81:162-71.
43. De Vita B, Maia L, Freitas NPP, Alvarenga FCL, Amorim RL, Prestes NC. Isolation and culture of amniotic membrane and umbilical cord mesenchymal stem cells of canine foetus. In: *Proceedings of Annual International Meeting of the Portuguese Society for Stem Cells and Cellular Therapies; 2010, Guimarães*. Guimarães: Portuguese Society for Stem Cells and Cellular Therapies; 2010.
44. De Vita B, Maia L, Freitas NPP, Campos LL, Alvarenga FCL, Prestes NC. Isolamento e cultivo de células-tronco mesenquimais derivadas da membrana amniótica e gelatina de wharton de equinos. In: *Anais do 5º Congresso Brasileiro de Células-tronco e Terapia Celular; 2010, Gramado*. Gramado: ABTCel; 2010.
45. Knudtzon S. In vitro growth of granulocytic colonies from circulating cells in human cord blood. *Blood*. 1974;43:357-61.
46. Broxmeyer HE, Douglas GW. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci*. 1989;86:3828-32.
47. Broxmeyer HE. Umbilical cord blood transplantation. In: *StemBook*. Cambridge: Harvard Stem Cell Institute; 2010. [cited 2011 Abr 28]. Available from: <[www.stembook.org](http://www.stembook.org) 2010>.
48. McGuckin C, Forraz N, Baradez MO. Embryonic-like stem cells from umbilical cord blood and potential for neural modeling. *Acta Neurobiol Exp*. 2006;66:321-9.
49. Bieback K, Kern S, Kluter H, Eichler H. Critical parameters for the isolation of mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Stem Cells*. 2004;22:625-34.
50. Kogler G, Sensken S, Airey JA, Trapp T, Muschen M, Feldhahn N, et al. A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential. *J Exp Med*. 2004;200:123-35.
51. Koch TG, Heerckens T, Thomsen PD, Betts DH. Isolation of mesenchymal stem cells from equine umbilical cord. *BMC Biotechnol*. 2007;7:1-9.
52. Reed SA, Johnson SE. Equine umbilical cord blood contains a population of stem cells that express Oct4 and differentiate into mesodermal and endodermal cell types. *J Cell Physiol*. 2008;215:329-36.
53. Berg L, Koch T, Heerckens T, Bessonov K, Thomsen P, Betts D. Chondrogenic potential of mesenchymal stromal cells derived from equine bone marrow and umbilical cord blood. *Vet Comp Orthop Traumatol*. 2009;22:363-70.
54. Schuh EM, Friedman MS, Carrade DD, Li J, Heeke D, Oyserman SM, et al. Identification of variables that optimize isolation and culture of multipotent mesenchymal stem cells from equine umbilical-cord blood. *Am J Vet Res*. 2009;70:1526-35.

55. Xu HH, Zhao L, Detamore MS, Takagi S, Chow LC. Umbilical cord stem cell seeding on fast-resorbable calcium phosphate bone cement. *Tissue Eng Part A*. 2010;16:2743-53.
56. Caballero M, Reed CR, Madan G, Van Aalst JA. Osteoinduction in umbilical cord- and palate periosteum-derived mesenchymal stem cells. *Ann Plast Surg*. 2010;64:605-9.
57. Zhang YN, Lie PC, Wei X. Differentiation of mesenchymal stromal cells derived from umbilical cord Wharton's jelly into hepatocyte-like cells. *Cytherapy*. 2009;11:548-58.
58. Zhang HT, Fan J. Human Wharton's jelly cells can be induced to differentiate into growth factor-secreting oligodendrocyte progenitor-like cells. *Differentiation*. 2010;79:15-20.
59. Hoynowski SM, Fry MM, Gardner BM, Leming MT, Tucker JR, Black L. Characterization and differentiation of equine umbilical cord-derived matrix cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;362:347-53.
60. Cremonesi F, Violini S, Consiglio-Lange A, Ramelli P, Ranzenigo G, Mariani P. Isolation in vitro culture and characterization of foal umbilical cord cells at birth. *Vet Res Commun*. 2008;32(Suppl 1):S139-42.
61. Passeri S, Nocchi F, Lamanna R, Lapi S. Isolation and expansion of equine umbilical cord-derived matrix cells (EUCMCs). *Cell Biol Int*. 2009;33:100-5.
62. Martino NA, Lange-Consiglio A, Cremonesi F, Valentini L, Caira M, Guaricci AC, et al. Functional expression of extracellular calcium sensing receptor (CaSR) in equine umbilical cord matrix size-sieved stem cell. *PloS One*. 2011;6:1-9.

**Recebido em: 12/08/11**

**Aceito em: 06/10/11**

## DIAGNÓSTICO POR IMAGEM NA AVALIAÇÃO DO SISTEMA RESPIRATÓRIO DE EQUINOS

Roberta Valeriano dos Santos<sup>1</sup>  
Vânia Maria de Vasconcelos Machado<sup>2</sup>  
Felipe Carvalho Evangelista<sup>3</sup>  
Roberto Calderon Gonçalves<sup>4</sup>  
Luiz Carlos Vulcano<sup>5</sup>

### RESUMO

O sistema respiratório de grandes animais é um sistema complexo e desafiador que motiva diversos estudos na medicina veterinária. Dentre os exames complementares para avaliação do sistema respiratório, as técnicas de imagem fornecem informações importantes para condução do diagnóstico e prognóstico dos animais. Os principais métodos utilizados na rotina são a radiografia, a ultrassonografia convencional e a endoscopia. A tomografia computadorizada, a ressonância magnética e a cintilografia também podem ser utilizadas, porém com restrições quanto a relação custo/benefício, tamanho dos animais e complexidade do exame. É importante que novos estudos sejam realizados para que os exames que envolvem alta tecnologia sejam adaptados para a rotina e forneçam informações seguras que justifiquem o custo/benefício da técnica. O objetivo deste trabalho é revisar a aplicação dos diversos métodos de diagnóstico por imagem na avaliação do sistema respiratório e as contribuições para maior entendimento da dinâmica respiratória de equinos.

**Palavras-chave:** diagnóstico por imagem, equino, sistema respiratório.

### DIAGNOSTIC IMAGING IN THE EVALUATION OF THE EQUINE RESPIRATORY SYSTEM

#### ABSTRACT

The respiratory system of large animals is a complex and challenging system that motivates many studies in the veterinary medicine. Among the complementary tests to assess the respiratory system, the imaging techniques provide important information to conduct the diagnosis and prognosis of the animals. The main methods used for the routine are x-rays, conventional ultrasound and endoscopy. Computed tomography, magnetic resonance and scintigraphy can also be used but with restrictions on the cost / benefit ratio, size of the animals and complexity of the test animals. It is important that new studies be done to adopt those tests involving high technology to the routine and providing reliable information to justify the cost / benefit of the technique. The aim of this work is to review the application of various methods of diagnostic imaging in the evaluation of the respiratory system and contribution for greater understanding of the breathing dynamics of the horse.

**Keywords:** Diagnostic imaging, equine, respiratory system.

<sup>1</sup> Pós-Graduanda do Setor de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ – UNESP/Botucatu, Rubião Júnior, s/n, CEP 18618-970 (14)3811-6045, email: [robertavaleriano@yahoo.com.br](mailto:robertavaleriano@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Professora Assistente Doutora – Setor de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ – UNESP/Botucatu

<sup>3</sup> Pós-Graduando do Setor de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ – UNESP/Botucatu.

<sup>4</sup> Professor Doutor – Setor de Clínica Veterinária de Grandes Animais, FMVZ – UNESP/Botucatu Pós-Graduando do Setor de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ – UNESP/Botucatu.

<sup>5</sup> Professor Doutor – Setor de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ – UNESP/Botucatu



## DIAGNÓSTICO POR IMAGEN EN LA EVALUACIÓN DEL SISTEMA RESPIRATORIO DE LOS CABALLOS

### RESUMEN

El sistema respiratorio de los grandes animales es un sistema complejo y desafiador que motiva a muchos estudios en la medicina veterinaria. Entre los exámenes complementares para evaluar el sistema respiratorio, las técnicas de imagen proporcionan informaciones importantes para llevar a cabo el diagnóstico y el pronóstico de los animales. Los principales métodos utilizados en la rutina son las radiografías, la ecografía convencional y la endoscopia. La tomografía computarizada, la resonancia magnética y la gammagrafía también pueden ser utilizadas, pero con restricciones en relación a su costo/beneficio, el tamaño de los animales y la complejidad de los exámenes. Es importante que nuevos estudios sean realizados para que los exámenes que involucran a la alta tecnología se adapten a la rutina y proporcionen informaciones fidedignas para justificar el costo/beneficio de la técnica. El objetivo de este trabajo es revisar la aplicación de los diversos métodos de diagnóstico por imagen en la evaluación del sistema respiratorio y contribuir para una mayor comprensión de la dinámica de la respiración del caballo.

**Palabras-clave:** Diagnóstico por imagen, caballo, sistema respiratorio.

### INTRODUÇÃO

O sistema respiratório de grandes animais é um sistema complexo e desafiador que motiva diversos estudos na medicina veterinária, para melhor compreensão dos mecanismos envolvidos em sua fisiologia. O estudo do sistema respiratório depende de um exame físico adequado, da colheita de amostras satisfatórias e de vários exames complementares, dentre estes, os exames de diagnóstico por imagem.

Os exames complementares não substituem o exame clínico, porém são muito importantes para avaliar a extensão das alterações, o comprometimento das estruturas adjacentes, acompanhar a evolução clínica do paciente, averiguar a efetividade do tratamento instituído, além de contribuir para determinar o prognóstico.

As técnicas de imagem utilizadas comumente para avaliação do sistema respiratório são a endoscopia, a radiografia e a ultrassonografia convencional. A tomografia computadorizada, a ressonância magnética e a cintilografia também podem ser utilizadas, porém com restrições quanto a relação custo/benefício, tamanho dos animais e complexidade do exame. O objetivo deste trabalho foi revisar a contribuição dos métodos de diagnóstico por imagem utilizados para colheita de material e na avaliação do sistema respiratório de grandes animais.

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### ENDOSCOPIA

A endoscopia fornece informações relevantes sobre as vias aéreas, visto que permite a avaliação macroscópica adequada de quase toda extensão do sistema respiratório. Durante o exame é importante avaliar a conformação do lúmen, o aspecto da mucosa, a relação entre as estruturas, tais como o palato mole e a epiglote, os movimentos da laringe, além da presença, origem e aparência das secreções. O paciente deve ser estimulado a deglutir para melhor avaliação de alterações que podem não estar visíveis no exame direto, como pequenos cistos na epiglote (1).

A endoscopia também pode ser útil na detecção de material aspirado na traquéia, obtenção de biópsias da mucosa brônquica ou tecido transbronquial e na lavagem de segmentos do sistema respiratório, como bolsa gútural, traquéia e brônquios (2,3).

As biópsias bronquiais, com auxílio do endoscópio, são seguras e não estão associadas a maiores complicações, sendo de grande auxílio em alterações focais como no diagnóstico de neoplasias malignas (3).

As bolsas gútrais são locais comuns de infecção em equinos, o lavado do local guiado por endoscópio é o método mais sensível para identificar alguns agentes, como nos casos de portadores crônicos de *Streptococcus equi* (3,4).

Os lavados traqueobrônquicos (LTB) e broncoalveolares (LBA), guiados por endoscopia, permitem coletar amostras de secreções, células de liberação e descamação das mucosas bronquiais e da região alveolar, as quais podem ser indicativas de alterações respiratórias (5). Para realização dos lavados guiados por endoscopia, a sonda é introduzida pela narina do animal até atingir o local desejado. A mucosa brônquica deve ser dessensibilizada instilando lidocaína a 0,5%, conforme o avanço do endoscópio (3). O procedimento é baseado na infusão de fluido isotônico pré-aquecido e imediata sucção do mesmo, sendo o resultado associado aos sinais clínicos do paciente (5,6).

A execução do LBA pode desencadear discreta inflamação, leve hiperemia da mucosa e tosse transitória. Devido à indução de neutrofilia pulmonar local ou generalizada, com duração de pelo menos 48 horas, o intervalo entre lavados seriados deve ser de no mínimo 72 horas (7). Além disso, a endoscopia permite avaliar a anatomia e função do trato respiratório superior (TRS) com animal em repouso e durante o exercício (8). Devido à alta prevalência de anormalidades encontradas durante o exercício em equinos diagnosticados como saudáveis ao exame endoscópico em repouso, sugere-se que sejam realizados os dois tipos de avaliação em animais com redução de *performance* associada à disfunção do TRS (8,9). Permite ainda a avaliação de animais com hemorragia pulmonar induzida pelo exercício, em que a presença de sangue pode ser observada, na maioria dos animais, até sete dias após o episódio de hemorragia (9). Nestes casos, a endoscopia auxilia na classificação do grau de severidade da hemorragia pulmonar baseada no volume de sangue presente e pela sua distribuição ao longo das vias aéreas (10).

A classificação proposta por Baccarin (11) é:

- Grau I: presença de pequenas estrias e/ou coágulos situados no terço distal da traquéia.
- Grau II: filetes de sangue distribuídos aleatoriamente (não uniforme) por toda extensão da traquéia, além de coágulos maiores.
- Grau III: sangue distribuído uniformemente por toda extensão da traquéia.
- Grau IV: quantidade abundante de sangue por toda a traquéia, laringe, faringe e fossas nasais.
- Grau V: exacerbação do grau anterior e epistaxe.

Nos casos de doenças infecciosas do sistema respiratório, a contaminação do aparelho deve ser considerada como risco de infecção para outros animais, o que justifica assepsia adequada do endoscópio (4).

## **RADIOGRAFIA**

O exame radiográfico é útil na avaliação da cavidade nasal, seios paranasais, bolsas gútrais, região retrofaríngea e nos pulmões (4,9,3). As radiografias da cavidade nasal e seios nasais permitem a visualização das alterações devido ao contraste entre o ar e as estruturas ósseas presentes. Os sinais típicos de alterações incluem presença de interfaces de fluido nas cavidades, perda de contraste do ar visto a presença de líquido ou tecido mole, depressão ou elevação dos ossos da face e distorção das estruturas normais como as raízes dos dentes, conforme a Figura 1 (9).

Embora as bolsas gútrais sejam tecidos moles, o ar ao redor proporciona contraste radiográfico que permite a avaliação da estrutura. Os compartimentos medial e lateral de cada

bolsa são facilmente visualizados. A presença de interface de líquidos pode sugerir hematoma ou empiema (4). Nas radiografias torácicas, devido à grande sobreposição de estruturas, a técnica é limitada ao tamanho dos animais. Nestes casos, é comum ocorrer subexposição da técnica radiográfica devido à dificuldade de penetração dos feixes de raio x, o que pode levar a uma interpretação errônea das radiografias (12).

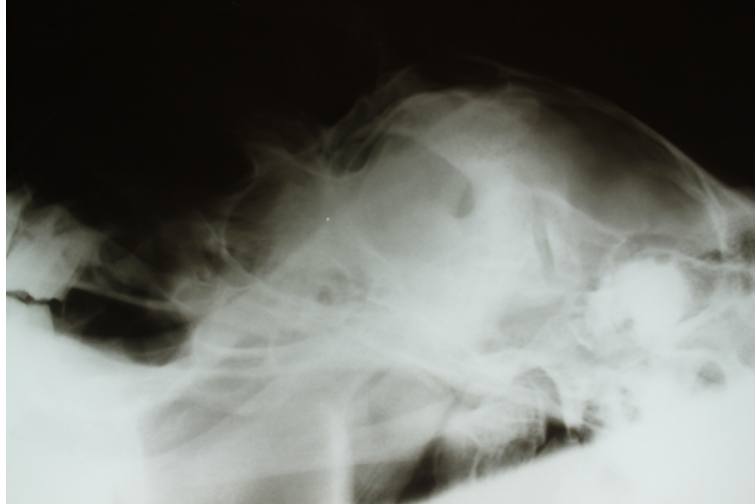


Figura 1. Radiografia lateral do crânio de equino adulto demonstrando área radiopaca circunscrita de limites parcialmente definidos em região caudal de seio nasal esquerdo. Fonte: Serviço de Diagnóstico por Imagem de Grandes Animais da FMVZ – UNESP Botucatu.

Para evitar avaliações dúbias das radiografias torácicas, pode-se acompanhar a evolução do paciente comparando a técnica radiográfica pela radiopacidade dos corpos vertebrais que devem manter-se constantes, garantindo, dessa forma, maior fidedignidade dos padrões pulmonares encontrados (13). Em animais adultos podem ser realizados três tipos de exames radiográficos do tórax: o básico, o modificado e o personalizado (12).

O básico consiste em quatro radiografias: a craniodorsal, a cranioventral, a caudodorsal e a caudoventral. O exame modificado inclui uma quinta radiografia mediodorsal que abrange melhor a porção dorsal do tórax. O exame personalizado é mais específico e localizado; utiliza-se a centralização do foco, principalmente quando há suspeita de massa ou outra alteração focal nos pulmões (12).

Em animais recém nascidos, o exame radiográfico pode apresentar interpretação questionável nas primeiras 48 horas, visto que o padrão misto (intersticial-alveolar) pode ser encontrado em animais recém nascidos normais, em animais prematuros e no caso de potros com alterações pulmonares (9). Este padrão é justificado pela inflação incompleta dos pulmões e retenção de líquidos, muito comum nas primeiras horas de vida. Dessa forma, em animais recém-nascidos com suspeita de alterações respiratórias, deve-se repetir os exames radiográficos, além de associar os resultados com outros exames laboratoriais (14).

O padrão pulmonar intersticial é predominantemente observado na fase inicial da maioria das doenças pulmonares, incluindo as virais, as bacterianas, as micóticas, as parasitárias e as neoplásicas (12). No entanto, o padrão intersticial nodular geralmente é associado à pneumonia fúngica, abscessos, granulomas ou metástase pulmonar (4,12).

O padrão pulmonar brônquico cursa com espessamento da parede e alterações no formato dos brônquios como demonstrado na Figura 2. Este quadro acomete animais com quadros inflamatórios como as pneumonias alérgicas e broncopneumonias (9). Em animais jovens, as cartilagens da traquéia podem não ser evidenciadas nas radiografias, visto que a calcificação destas ocorrem com o avançar da idade (3).

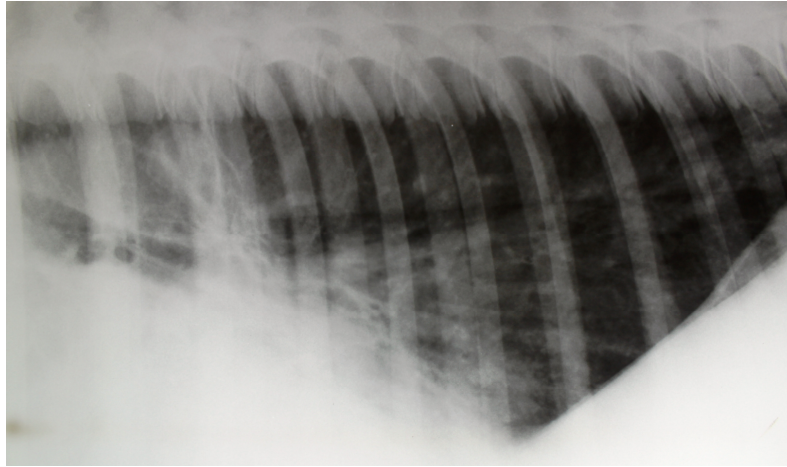


Figura 2. Radiografia caudodorsal do tórax de um equino adulto demonstrando padrão pulmonar misto (intersticial e brônquico) com aumento difuso da radiopacidade pulmonar e dilatação de brônquios com espessamento de parede. Fonte: Serviço de Diagnóstico por Imagem de Grandes Animais da FMVZ – UNESP Botucatu.

O padrão pulmonar alveolar caracteriza-se pelo preenchimento dos alvéolos por líquidos ou secreções, o que evidencia o ar dentro dos brônquios, formando os broncogramas aéreos. Este padrão inclui como diagnósticos diferenciais as pneumonias bacterianas, fúngicas, aspirativas e os edemas pulmonares (3).

Quando há efusão pleural, a cavidade torácica adquire radiopacidade água ao exame radiográfico. Neste caso, é importante repetir as radiografias após a remoção do líquido, a fim de avaliar os pulmões e demais estruturas. No entanto, a presença de líquido no tórax pode ser melhor visibilizada no exame ultrassonográfico (15).

Diferentemente de humanos e pequenos animais, as radiografias torácicas de equinos geralmente são muito inespecíficas. Além disso, muitas doenças pulmonares, tais como doença pulmonar induzida pelo exercício, doença inflamatória das vias aéreas e obstrução recorrente, podem estar associadas a radiografias normais, o que justifica o uso de outros métodos de diagnóstico por imagem (4).

### **ULTRASSONOGRAFIA TORÁCICA**

A avaliação ultrassonográfica do sistema respiratório de grandes animais depende da experiência do ultrassonografista e do conhecimento da anatomia do animal (16). O exame ultrassonográfico é útil para diagnóstico, terapêutica e avaliação do prognóstico de doenças pleurais e do parênquima periférico dos pulmões, além das doenças obstrutivas de equinos (17,4).

O ultrassom apresenta vantagens sobre a radiografia para detectar derrame pleural, consolidação pulmonar, abscessos mediastinais e pulmonares, tumores e granulomas (18,4). Adicionalmente, uma maior avaliação da laringe, especialmente da região muscular, pode ser realizada, já que na radiografia há grande sobreposição das estruturas (17). Outra vantagem da técnica é auxiliar na escolha do local para realização de pleurocentese, que fornece material para exame citológico e microbiológico, além de aliviar a compressão pulmonar quando há depósito de líquido ou ar no espaço pleural (18). O exame também possibilita caracterizar a celularidade do líquido pela sua ecogenicidade, estimar o volume e avaliar aderências, espessamento pleural, necrose pulmonar e atelectasia (12).

É comum encontrar discreta quantidade de líquido na porção mais cranioventral do tórax. No entanto, quando há um acúmulo de fluido, sugere-se derrame pleural, o qual pode ser observado como anecóico ou hipocóico, dependendo da celularidade (12). Nos casos de

transudatos e transudatos modificados, encontrados em pericardites e pleuropneumonias sem presença de fibrina, o fluido aparece anecóico. Já, quando há aderências, como nos casos de pleuropneumonias crônicas, a imagem apresenta-se hipocóica devido à presença de fibrina conforme a Figura 3 (19).

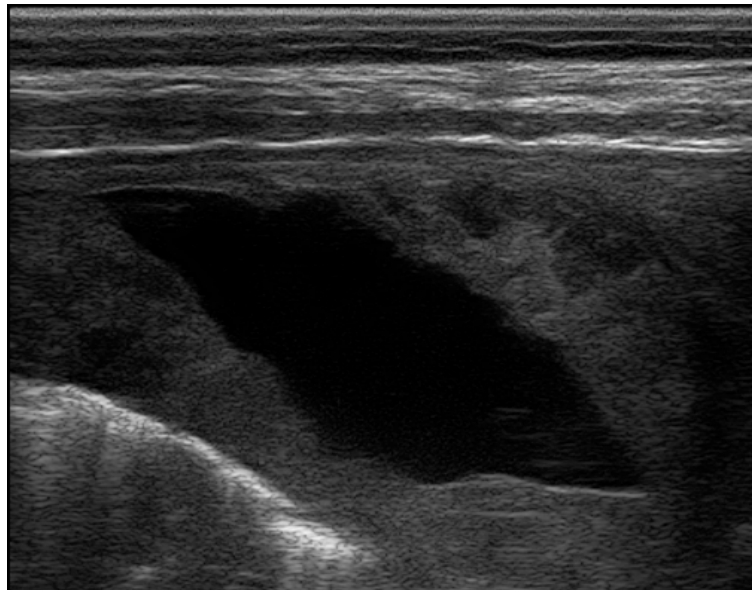


Figura 3. Sonograma obtido no 8º espaço intercostal do tórax de equino com pleuropneumonia crônica demonstrando grande quantidade de conteúdo hipocóico e anecóico no espaço pleural. Fonte: Serviço de Diagnóstico por Imagem de Grandes Animais da FMVZ – UNESP Botucatu.

A consolidação pulmonar ou abscessos na região periférica dos pulmões são facilmente visibilizados no exame ultrassonográfico, como áreas com alterações de ecogenicidade com perda do padrão normal de artefatos de reverberação, causados pela presença de ar durante a respiração do animal (4).

A biópsia pulmonar pode ser realizada por via percutânea, guiada por ultrassom. Em geral, as biópsias pulmonares são realizadas quando as radiografias apresentam padrão pulmonar miliar ou nos casos de suspeita de neoplasias e doenças infiltrativas (3,9). As complicações associadas com a biópsia pulmonar em equinos incluem epistaxe, hemorragia pulmonar, taquipnéia, desconforto respiratório e, raramente, pneumotórax (9). A biópsia deve ser contra-indicada nos casos de hipertensão pulmonar, cistos, abscessos, coagulopatias, animais em taquipnéia grave ou tosse incontrolável (3,18).

Outra aplicação da ultrassonografia é a detecção de hérnias diafragmáticas, em que os órgãos da cavidade abdominal invadem a cavidade torácica deslocando os pulmões e o coração. Nestes casos, é possível notar o deslocamento das estruturas, a presença de órgãos da cavidade abdominal no tórax e, nos casos de deslocamento intestinal, a presença de gás e peristaltismo das alças (20). As desvantagens da técnica estão relacionadas ao acesso limitado à cavidade torácica pelos espaços intercostais e à grande quantidade de artefato devido à presença de ar, o que limita a avaliação das pleuras e da porção superficial dos pulmões (4,19).

### **TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA**

A tomografia computadorizada (TC) oferece informações adicionais sobre alterações encontradas na cavidade nasal e seios paranasais, visto que sofre pouca interferência da

sobreposição das estruturas (Figura 4). A técnica permite identificar o local e extensão das lesões e avaliar as condições das estruturas adjacentes nos casos de traumas, neoplasias e infecções (16,21,22).



Figura 4. Corte tomográfico axial da cabeça de equino *post-mortem* demonstrando região de cavidade nasal e seios paranasais sem alterações. Fonte: Serviço de Diagnóstico por Imagem de Grandes Animais da FMVZ – UNESP Botucatu.

A TC também permite a reconstrução 3D e 4D do crânio e a remoção da sobreposição das estruturas, o que possibilita uma avaliação minuciosa do local desejado (16,22). Apesar da TC apresentar melhor resolução para avaliações ósseas, esta pode ser útil na diferenciação de massas, hemorragias e mineralização de tecidos moles, já que o diferente valor de atenuação das estruturas contribui para determinar a composição do tecido avaliado (3,23).

Alguns artefatos podem ocorrer durante o exame como artefatos de volume parcial e endurecimento do feixe (*cup artifacts*). Essas alterações se devem ao valor de coeficiente linear médio de atenuação de um voxel muito heterogêneo e ao grande contraste entre as interfaces dos ossos do crânio e o ar o que prejudica a reconstrução das imagens. Os artefatos podem ser minimizados colimando os feixes e com cortes de menor espessura (22).

Apesar da tomografia computadorizada ser um método sofisticado de diagnóstico, principalmente ao fornecer imagens em corte milimétricos de diversos planos, a disponibilidade desta técnica ainda é limitada devido ao alto custo, à necessidade de anestesia geral e ao tamanho dos equinos que, em relação ao diâmetro do gentry do aparelho, só permite a avaliação de algumas partes do corpo dos animais como cabeça e membros (16,22).

### RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

A ressonância magnética (MRI) é uma técnica baseada na composição de água dos tecidos e nas propriedades magnéticas das moléculas de hidrogênio no organismo (24). No trato respiratório de equinos, a técnica é limitada à cabeça dos animais adultos e ao tórax e cabeça, nos casos de pôneis e potros (16).

A avaliação da cabeça de equinos permite avaliações específicas, sem sobreposição de estruturas, além de permitir a reconstrução 3D das imagens (16,23). A grande vantagem da ressonância para a tomografia computadorizada é a melhor resolução para tecidos moles, o que permite, por exemplo, o estudo de estruturas extraluminiais da laringe e aparelho hióide (25).

O exame de MRI pode durar cerca de 60 a 120 minutos, dependendo do local avaliado, e são realizadas diferentes sequências durante um mesmo exame, as quais fornecem informações baseadas nas diferentes características de cada tecido. Muitas vezes, é necessário combinar as informações de todas sequências adquiridas para fazer um diagnóstico com precisão e oferecer um plano de tratamento e prognóstico (16).

Durante o exame de MRI, cuidados extremos devem ser tomados com materiais metálicos que possam ser atraídos pelo campo magnético, os quais podem ocasionar acidentes graves (16). Além disso, objetos metálicos e alguns materiais podem causar interferência no sinal magnético e criar artefatos na imagem, comprometendo a qualidade do exame (24). A ressonância magnética tem grande potencial para aumentar a capacidade de diagnóstico em doenças do trato respiratório superior de equinos, como alterações na laringe e tecidos adjacentes (17,25). No entanto, é geralmente reservada para casos específicos em que outros métodos de baixo custo são limitados ou não conclusivos, devido ao alto custo da técnica (16).

### **CINTILOGRAFIA**

A cintilografia permite obter informações sobre os processos fisiopatológicos de doenças que envolvem o sistema respiratório, além de detectar doenças subclínicas ou alterações não visibilizadas em outras técnicas de diagnóstico por imagem (26). O princípio físico da técnica baseia-se na aplicação de radiofármaco específico emissor de radiação gama, a qual é captada por uma câmara que emite luz proporcional à intensidade da radiação incidida. Os flashes de luz são convertidos em sinais elétricos proporcionais às amplitudes das ondas formando as imagens (3).

As imagens para cintilografia pulmonar em equinos são obtidas da região lateral do tórax, dividindo em porção cranial e caudal. Geralmente, é necessário sedar o animal, lembrando que os agonistas adrenérgicos podem alterar a função respiratória, principalmente em animais com doenças obstrutivas recorrentes (27).

O estudo da perfusão pulmonar local por meio da cintilografia, pode fornecer informações sobre abscessos pulmonares, bronquites e avaliar a resposta à tratamentos específicos (26). Com o avançar dos estudos em cintilografia será possível maior entendimento da dinâmica respiratória em equinos, visto que a técnica possibilita avaliar a perfusão pulmonar, ventilação e depuração alveolar, além de determinar o envolvimento das células em processos inflamatórios e contribuir em pesquisas sobre a deposição de aerossóis nos pulmões (3,4,27).

No entanto, o procedimento ainda é limitado na medicina veterinária e restrito a centros especializados, visto que envolve tecnologia avançada adaptada da medicina humana, o que requer grande experiência dos profissionais, além dos custos elevados (27).

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Com o aumento da disponibilidade e acessibilidade dos métodos complementares, mais informações são obtidas sobre os mecanismos de funcionamento do aparelho respiratório, o que tem auxiliado no diagnóstico e estudo das doenças respiratórias em grandes animais.

Embora alguns métodos de diagnóstico por imagem apresentem custos elevados ou pouca praticidade, em casos específicos estes são esclarecedores, fato que justifica a aplicabilidade em animais de alto valor econômico.

É importante que novos estudos sejam realizados para que os exames mais complexos sejam adaptados para a rotina e forneçam informações seguras que justifiquem o custo/benefício da técnica.

**REFERÊNCIAS**

1. Baraksai S. Handbook of equine respiratory endoscopy. Philadelphia: Saunders; 2007.
2. Marcondes JS. Estudo clínico-citológico em ovinos sadios e portadores de afecções pulmonares de ocorrência natural utilizando-se o lavado traqueobrônquico como auxílio diagnóstico [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2007.
3. Roy M, Lavoie J. Tools for the diagnosis of equine respiratory disorders. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2003;19:1-17.
4. Pusterla N, Watson JL, Wilson D. Diagnostic approach to infectious respiratory disorders. *Clin Tech Equine Pract.* 2006;5:174-86.
5. Lessa DAB, Mori E, Viana EB, Santos OJ, Moreira JFE, Fernandes WR. Lavado broncoalveolar em equinos: revisão de literatura parte 2: achados citológicos. *Arq Cienc Vet Zool.* 2007;10:31-8.
6. Fernandes WR, Mori E, Sanches A. Avaliação citológica de lavados traquebrônquico e broncoalveolar em cavalos clinicamente sadios pelo método de coloração de Rosenfeld. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2000;52:604-9.
7. Lessa DAB, Mori E, Viana EB, Santos OJ, Moreira JFE, Fernandes WR. Lavado broncoalveolar em eqüinos: revisão de literatura. Parte 1: técnicas de colheita. *Arq Cienc Vet Zool.* 2005;8:213-7.
8. Tan RHH, Downling BA, Dart AJ. High-speed treadmill videoendoscopic examination of the upper respiratory tract in the horse: the results of 291 clinical cases. *Vet J.* 2005;170:243-5.
9. Rush B, Mair T. Equine respiratory disease. Oxford: Blackwell Science; 2004.
10. Biava JS. Avaliação clínica, endoscópica e citológica da hemorragia pulmonar induzida por exercício (EIPH) em cavalos da raça quarto de milha [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2007.
11. Baccarin RYA. Diagnóstico e tratamento das pneumonias de esforço. In: Simpósio Internacional do Cavalo Atleta; 2005, Belo Horizonte. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2005. p.12-28.
12. Farrow CS. Veterinary diagnostic images - the horse. Philadelphia: Mosby; 2006.
13. Butler JA, Colles CM, Dyson SJ, Kold SE, Poulos PW. Clinical radiology of the horse. Oxford: Blackwell Science; 1993.
14. Kutasi O, Horvath A, Harnos A, Szenci O. Radiographic assessment of pulmonary fluid clearance in healthy neonatal foal horses. *Vet Radiol Ultrasound.* 2009;50:584-8.
15. Wilkins PA. Lower airway disease of adult horse. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2003;19:101-21.



16. Tucker RL. Magnetic resonance imaging of the equine head and neck region. *Equine Vet Educ.* 2008;20:294-6.
17. Garret KS, Woodie JB, Embertson RM, Pease AP. Diagnosis of laryngeal dysplasia in five horses using magnetic imaging and ultrasonography. *Equine Vet J.* 2009;41:766-71.
18. Feitosa FL. *Semiologia veterinária, a arte do diagnóstico.* São Paulo: Roca; 2008.
19. Biller DS. Imaging the respiratory tract with ultrasound. *J Equine Vet Sci.* 1997;17:136-7.
20. Vasconcellos LAS, Pardo PE, Guerra CCJ, Viana, LC. Ultra-sonographic diagnosis of the diaphragmatic hernia in two mares. *Rev Fac Zootec Vet Agron.* 1997;4:58-63.
21. Henninger W, Frame M, Willmann M, Simhofer H, Malleczek D, Kneissel SM, et al. CT features of alveolitis and sinusitis in horses. *Vet Radiol Ultrasound.* 2003;44:269-76.
22. Solano M, Brawer RS. CT of the equine head: technical considerations, anatomical guide, and selected diseases. *Clin Tech Equine.* 2004;3:374-88.
23. Kinns J, Pease A. Computed tomography in the evaluation of the equine head. *Equine Vet Educ.* 2009;21:291-4.
24. Amaro EJ, Yamashita H. Aspecto básico de tomografia computadorizada e ressonância magnética. *Rev Bras Psiquiatr.* 2001;23:2-3.
25. Pekarkova M, Kircher PR, Konar M, Lang J, Tessier C. Magnetic resonance imaging anatomy of the normal equine larynx and pharynx. *Vet Radiol Ultrasound.* 2009;50:392-7.
26. Archer DC, Cotton JC, Boswell JC. Non-skeletal scintigraphy of the horse: indications and validity. *Vet J.* 2007;173:45-7.
27. Votion DM, Lekeux PM. A dip into the world of veterinary nuclear medicine: equine lungs scintigraphy. *Clin Tech Equine Pract.* 2003;2:222-30.

**Recebido em: 29/01/11**

**Aceito em: 30/11/11**

## PLASMA RICO EM PLAQUETAS: UMA NOVA PERSPECTIVA TERAPÊUTICA PARA MEDICINA EQUINA\*

Cynthia do Prado Vendruscolo<sup>1\*\*</sup>  
Marcos Jun Watanabe<sup>2</sup>  
Leandro Maia<sup>3</sup>  
Armando Mattos de Carvalho<sup>4</sup>  
Ana Liz Garcia Alves<sup>5</sup>

### RESUMO

O Plasma Rico em Plaquetas (PRP) é um preparado do sangue total que contém diversos fatores de crescimento importantes na proliferação e diferenciação celular, angiogênese, além de síntese e deposição da matriz extracelular. Há na literatura diversos estudos sobre a ação do PRP na reparação de lesões musculoesqueléticas e cutâneas em várias espécies, com resultados promissores. Nesse sentido, o objetivo dessa revisão é relatar as propriedades do PRP, bem como a sua aplicação terapêutica em tecidos musculoesqueléticos e cutâneo, com enfoque particular na espécie equina.

**Palavras-chave:** cavalo, fatores de crescimento, terapia regenerativa, equino, PRP

### PLATELET-RICH PLASMA: A NEW THERAPEUTIC APPROACH FOR EQUINE MEDICINE

### ABSTRACT

Platelet Rich Plasma (PRP) is a preparation of whole blood that contains several important growth factors in cell proliferation and differentiation, angiogenesis, and synthesis and deposition of extracellular matrix. There are several studies in the literature about the action of PRP in the repair of musculoskeletal injuries and skin in several species, with promising results. Thus, the objective of this review is to describe the properties of the PRP, as well as its therapeutic application in musculoskeletal tissues and skin, but with particular focus on the equine species.

**Keywords:** horse, growth factors, regenerative therapy, equine, PRP

---

\* Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP

<sup>1</sup> Graduanda do curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil.

<sup>\*\*</sup> Correspondência: Cynthia do Prado Vendruscolo Departamento de Cirurgia e Anestesiologia, FMVZ, UNESP, Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, SP, 18.618-970, Caixa Postal 560, Brasil. Tel: (14) 8119-6863. E-mail: cynthiainpoluto@hotmail.com

<sup>2</sup> Professor Assistente Doutor do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

<sup>3</sup> Doutorando do Departamento de Clínica Veterinária, FMVZ, UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

<sup>4</sup> Doutorando do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

<sup>5</sup> Professora Adjunta do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

## PLASMA RICO EN PLAQUETAS: UN NUEVO ENFOQUE TERAPÉUTICO PARA LA MEDICINA EQUINA

### RESUMEN

Plasma rico en plaquetas (PRP) es una preparación de sangre total que contiene varios factores de crecimiento importante en la proliferación y diferenciación celular, la angiogénesis, además de la síntesis y deposición de matriz extracelular. Hay varios estudios en la literatura acerca de la acción del PRP en la reparación de lesiones músculo-esqueléticas y de la piel en varias especies, con resultados prometedores. Así, el objetivo de esta revisión es describir las propiedades del PRP, así como su aplicación terapéutica en los tejidos músculo-esqueléticos y la piel, pero con especial énfasis en la especie equina.

**Palabras-clave:** caballos, factores de crecimiento, terapia regenerativa, equino, PRP

### INTRODUÇÃO

O Plasma Rico em Plaquetas (PRP) é um concentrado de plaquetas obtido por meio de uma metodologia simples, com boa relação custo/benefício para se obter altas concentrações de fatores de crescimento com propriedades regenerativas. Concentrações superiores a 300.000 plaquetas/ $\mu$ l são necessárias para o efeito terapêutico desejado (1).

Na espécie equina, o PRP é estudado em diferentes enfermidades como, as tendinites (2), as desmites, as osteoartrites (3) e feridas cutâneas (4), com efeitos positivos tanto individualmente quanto sinergicamente, melhorando a migração e proliferação celular, angiogênese e deposição de matriz na cicatrização tendínea e de ferimentos (5).

O objetivo dessa revisão é relatar as propriedades do PRP, bem como a sua aplicação terapêutica em tecidos musculoesqueléticos e cutâneo de equinos.

### REVISÃO DE LITERATURA

#### *Plaquetas e fatores de crescimento*

As plaquetas são pequenos fragmentos citoplasmáticos anucleados, discoides, derivados de megacariócitos da medula óssea. Elas possuem de 5 a 7  $\mu$ m de diâmetro e largura inferior a 3  $\mu$ m (6). Estes fragmentos contêm no citoplasma várias proteínas, citocinas e fatores bioativos que estão envolvidos com a regulação dos aspectos básicos da reparação tecidual, além da coagulação sanguínea (7).

Os grânulos *alpha* são partículas presentes nas plaquetas nos quais estão contidos o fator de crescimento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), fator de crescimento semelhante a insulina 1 (IGF-1), fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), fator de crescimento fibroblástico (FGF), fator de crescimento epidermal (EGF) e fator de crescimento epidermal derivado de plaquetas (PDEGF) (8), que são liberados após a ativação plaquetária. Entretanto, recentemente McCarrel e Fortier (5) demonstraram a liberação dos fatores de crescimento por no mínimo quatro dias, sem a necessidade de agentes ativadores exógenos, como gluconato de cálcio, cloreto de cálcio e trombina (9).

Os fatores de crescimento contidos nas plaquetas são peptídeos sinalizadores, responsáveis pela regulação do metabolismo celular pela interação com um organizado complexo de receptores de superfície celular. Esta interação resulta no aumento da transcrição

gênica e consequente produção de proteínas que desencadeiam a proliferação e diferenciação celular, além do aumento da produção da matriz extracelular (10) e angiogênese, o que facilita o processo de reparação tecidual (11).

### ***Métodos de obtenção do PRP***

O PRP é obtido a partir de sangue não coagulado, pois as plaquetas fazem parte do coágulo, e nele elas já foram ativadas e degranularam (12). Ele pode ser obtido basicamente por três técnicas: do tubo (manual), centrifugação (semiautomática) e por aférese (automática) (13). Nestes procedimentos variam o custo, facilidade de preparação, o volume de sangue necessário e a concentração de plaquetas obtida. No primeiro os custos são mínimos, o volume utilizado é pequeno e o PRP é facilmente obtido, mas com pequena concentração de plaquetas. Na centrifugação os custos são baixos, porém é necessária a aquisição de uma centrífuga, o volume necessário é pequeno e também é de fácil obtenção, obtendo maior concentração de plaquetas. O último método é caro, pois são necessários equipamentos e “kits” específicos, o volume de sangue necessário é grande, porém se obtém altas concentrações plaquetárias e maior volume de PRP. Existe ainda o método desenvolvido pela VetCell (Quy Bioscience Ltd., T/A VetCell, Inglaterra) no qual o sangue é coletado em uma bolsa e passa pelo dispositivo *Pall's* para captura das plaquetas. Depois se lava o filtro, recuperando as plaquetas na solução, sendo de fácil realização, porém com custos elevados. As concentrações obtidas nos diversos estudos são mostradas no Quadro 1.

Quadro 1. Estudos realizados com PRP demonstrando os autores, método de preparo e concentração plaquetária média obtida.

<b>Autor</b>	<b>Método de preparo</b>	<b>Concentração de plaquetas média</b>
Maia et al. (2)	centrifugação	407.500 plaquetas/ $\mu$ l
Bosch et al. (11)	GPS II, Biomet*	639.700 plaquetas/ $\mu$ l
Carmona et al. (25)	centrifugação	250.000 plaquetas/ $\mu$ l
Textor et al. (14)	centrifugação	1.765.000 plaquetas/ $\mu$ l
Textor et al. (14)	Harvest Smart PReP2*	951.000 plaquetas/ $\mu$ l

\*Kits comerciais para o preparo do PRP.

Textor et al. (14) testaram os efeitos dos métodos de preparo, força de cisalhamento e a exposição ao colágeno para liberação dos fatores de crescimento utilizando seis equinos. Os métodos utilizados foram a centrifugação e um método automático (Harvest Smart PReP2), sendo que as maiores concentrações foram obtidas com a centrifugação ( $1.765 \times 10^3$  plaquetas/ $\mu$ l) do que no outro método ( $951 \times 10^3$  plaquetas/ $\mu$ l). Porém as quantidades de PDGF e TGF- $\beta$  foram maiores no método automático, fato que pode ser explicado pela ativação prematura das plaquetas durante o processamento, não ocorrendo na centrifugação pela adição de prostaglandina  $E_1$  que bloqueia a ativação plaquetária.

Nos protocolos de centrifugação para obtenção do PRP na primeira centrifugação separa-se as células vermelhas (7  $\mu$ m de diâmetro) e brancas (7-15  $\mu$ m de diâmetro) das plaquetas (2  $\mu$ m de diâmetro), devido a diferença de densidade. Na segunda ocorre a concentração das plaquetas, produzindo o PRP e o plasma pobre em plaquetas (PPP) (12). Existem diversos protocolos descritos de obtenção do PRP na espécie equina, embora sejam raros os estudos comparando a eficiência desses protocolos.

Vários estudos pré-clínicos com PRP já foram feitos e Kon et al. (8) revisaram os resultados obtidos em tecidos musculoesqueléticos em humanos, conforme demonstrado no Quadro 2.

Quadro 2. Resultados pré-clínicos de estudos (8).

<b>Tecido</b>	<b>Efeitos</b>
<b>Tendão</b>	Estimula a expressão de moléculas de matriz, proliferação de células de tendão síntese de angiogênicos e outros fatores de crescimento. Ativação da migração de células circulantes. Aumento da neovascularização e atividade metabólica. Aumento da maturação no calo tendíneo, rigidez, tensão máxima e força de ruptura.
<b>Ligamento</b>	Melhora nas propriedades histológicas e biomecânicas (usado como hidrogel colágeno-PRP).
<b>Cartilagem</b>	Diminuição da fibrilação da cartilagem, hiperplasia da membrana sinovial e hemorragia. Aceleração da expansão dos condrócitos. Melhora na proliferação e diferenciação condrogênica das células tronco mesenquimais.
<b>Músculo</b>	Aceleração da ativação das células satélites. Aumento do diâmetro das fibras regenerativas. Estimulação da miogênese. Aumento da expressão da proteína de myoD (38-kD) e miogenina. Aceleração do tempo de recuperação após lesão por esforço.

### *O emprego do PRP nas lesões tendíneas e ligamentares*

A tendinite e a desmíte resultam em perda econômica considerável para a indústria equina devido à diminuição de desempenho, reabilitação prolongada, lesões recorrentes e aposentadoria precoce. Atualmente, buscam-se métodos de tratamento que induzam a regeneração tecidual, ou seja, a restauração da arquitetura estrutural normal e função biomecânica, ao invés de formação de tecido cicatricial com aumento do risco de recidiva (15).

Com o objetivo de se obter uma melhor cicatrização e acelerar o processo tem-se estudado o efeito do PRP nas lesões tendíneas e ligamentares. Vários fatores de crescimento presentes nas plaquetas são importantes para o desenvolvimento e homeostase tendínea, mas o IGF-I e o TGF- $\beta$ 1 tem importante papel na reparação (16).

O IGF-I é um importante mediador em todas as fases da cicatrização de ferimentos, particularmente durante as fases inflamatórias e proliferativas (17). O pico deste fator ocorre quatro semanas após a lesão tendínea, durante as fases inflamatória e proliferativa da cicatrização, sendo que nas duas primeiras semanas os níveis teciduais da proteína IGF-I estão 40% abaixo do encontrado em tecido normal (16). O IGF-I fica aumentado localmente durante e após a inflamação e lesão em tecidos moles, o RNAm e os níveis de proteínas estão ambos aumentados, fato que é acompanhado por um correspondente aumento no número de receptores (17). Seu papel primário parece estimular a proliferação e migração de fibroblastos e outras células para o local da lesão, e subsequentemente aumentar a produção de colágeno e outras estruturas da matriz extracelular nessas células durante a fase de remodelamento, possuindo também a habilidade de reduzir a inflamação (17).

O TGF-  $\beta$  é ativo em quase todos os estágios da reparação tendínea. Ele possui variados efeitos como estimular extrinsecamente a migração celular, regular as proteinases, formar interações vinculadas a fibronectina, finalizar a proliferação celular via inibidores de cinase dependente de ciclina e estimular a produção de colágeno (17). A expressão de RNAm para TGF-  $\beta$ 1 aumenta imediatamente após a lesão no tendão, com pico após uma semana. Desta forma os níveis de proteína TGF-  $\beta$ 1 se elevam a partir da primeira semana tendo o pico com quatro semanas (18). Apesar das ações pró-reparativas, o TGF- $\beta$  também é uma citocina

chave no processo de patogênese da fibrose e formação de cicatriz, podendo resultar em uma desordem de deposição excessiva de colágeno (18).

O VEGF age nas primeiras fases de migração celular e proliferação, mas é mais ativo após a inflamação, notadamente durante as fases de proliferação e remodelamento na qual ele tem se mostrado um potente estimulador de angiogênese. A neovascularização parte da superfície do epitélio e promove a chegada de células extrínsecas, nutrientes e fatores de crescimento para a área lesada (17). Terapeuticamente o VEGF mostrou melhora na força tênsil do tendão durante o curso da reparação do tendão de Achiles em ratos quando administrado por via intralesional no tendão reparado quando comparado ao controle (18). O possível mecanismo terapêutico do VEGF pela aceleração do processo de angiogênese (18).

O PDGF tem papel significativo nos estágios iniciais da reparação, pela indução da síntese de outros fatores de crescimento, como o IGF-I. Aumentos nos níveis de PDGF tiveram como resultado aumento nos níveis de IGF-I e nos receptores de IGF, que uma vez ativados estimulam a síntese de DNA (19). Estudo *in vitro* realizado por Yoshikawa e Abrahamsson (20) demonstraram que este fator de crescimento também possui um importante papel durante o remodelamento tecidual. O PDGF estimulou a produção de proteínas colágenas e não colágenas, assim como a síntese de DNA, em dose dependente. A ativação dos receptores desse fator de crescimento leva a proliferação e diferenciação de fibroblastos, deposição de colágeno e angiogênese (18). Adicionalmente, o PDGF também aumenta a força tênsil de feridas incisionais e acelera a sua reparação quando aplicado topicamente (18).

O IGF-I e PDGF têm função vital durante a primeira fase e a fase intermediária da reparação, durante a qual eles agem na migração e proliferação dos fibroblastos e estimulam a síntese de matriz extracelular. O TGF- $\beta$  e o VEGF também possuem papéis neste processo, e adicionam instrumentos na fase de remodelamento, regulando a angiogênese dentro da lesão (17).

Baseando no importante papel dos fatores crescimento na fisiopatologia da tendinite e desmíte, o PRP pode ser considerado uma excelente alternativa terapêutica para o tratamento dessas afecções. Fato esse comprovado pelos bons resultados relatados na literatura científica (2,11,13, 15).

Maia et al. (2) estudaram experimentalmente a tendinite no tendão do músculo flexor digital superficial (TFDS) de equinos tratados com PRP, sendo observado na histopatologia reparação tecidual uniforme e organizada, 36 dias após aplicação intratendínea desse componente rico em plaquetas. Prades et al. (13) trataram sessenta e dois equinos com lesões tendíneas e ligamentares e, após um período de quatro a cinco meses, cinquenta e três animais voltaram ao treinamento.

Bosch et al. (11) testaram o efeito de uma única aplicação de PRP em lesões criadas cirurgicamente em equinos. Avaliou-se a neovascularização, por ultrassonografia com “Color Doppler” (uma semana após a lesão, logo antes da administração de PRP, duas, três, cinco, oito, doze, dezoito e vinte e quatro semanas após a indução), e realizou-se exame imunoistoquímico (vinte e quatro semanas após o início do experimento) para o fator VIII (fator de Von Willebrand), que está presente apenas em células endoteliais intactas e funcionais. Os resultados permitiram demonstrar que os membros tratados com PRP apresentaram maior neovascularização. A melhora na vascularização é proposta como uma razão para o prolongado efeito terapêutico de uma única aplicação de PRP, já que os fatores de crescimento agem por um curto período.

Schnabel et al. (21) testaram o efeito do PRP, do plasma pobre em plaquetas (PPP), do aspirado de medula óssea, do plasma e do sangue total em culturas de fragmento de TFDS de equinos em concentrações de 10%, 50% e 100% de cada um dos tratamentos. Observou-se que as culturas com 100% de PRP obtiveram maiores expressões de RNAm para colágeno tipo I (COL1A1), colágeno tipo III (COL3A1), proporção COL1A1: COL3A1, e proteína

oligomérica de matriz cartilaginosa (COMP). Além disso, não foi observada estimulação da expressão de metaloproteinase-13 (MMP-13) e MMP-3, sugerindo que o efeito dos fatores de crescimento liberados pelas plaquetas concentradas durante a centrifugação prevalece sobre o potencial de mediadores catabólicos ou pró-inflamatórios derivados dos leucócitos e plaquetas. O PRP também obteve as maiores concentrações de fatores de crescimento.

Em outro estudo com cultura de ligamento suspensório com plasma, sangue total, PRP, PPP e aspirado de medula óssea acelular, também nas concentrações de 10%, 50% e 100%, Schnabel et al. (22) avaliaram a resposta proliferativa e determinaram os níveis de RNAm. O PRP obteve os mais altos índices de estimulação das MMP-3 e MMP-13. No conteúdo de DNA e de colágeno total ele obteve desempenho intermediário. Os melhores resultados foram obtidos pelo aspirado a 100%.

Ridermann et al. (15) conduziram um estudo com seis equinos que apresentavam variados graus de tendinite, porém sem um grupo controle. Os resultados ultrassonográficos revelaram diminuição no percentual de área lesada, na área do tendão, no grau de ecogenicidade, além de melhor alinhamento das fibras. Além disso, não houve recidiva durante o período de monitoramento (treze meses pós-lesão).

### ***O emprego do PRP nas lesões osteoarticulares***

A lesão à cartilagem é um grande problema e vários equinos são afastados da carreira atlética, ou até mesmos eutanasiados, por apresentarem danos irreparáveis e, subsequente, osteoartrite da cartilagem articular (23).

Os fatores de crescimento contidos no PRP podem contribuir para a regeneração da cartilagem. O TGF- $\beta$  aumenta a expressão fenotípica dos condrócitos, diferenciação condrogênica das células tronco mesenquimais, deposição de matriz extracelular, além de diminuir os efeitos supressivos do mediador inflamatório interleucina-1 na síntese de proteoglicano na cartilagem. Já o PDGF aumenta a proliferação de condrócitos e síntese de proteoglicanos, e o IGF estimula a síntese de proteoglicanos e atrasa o seu catabolismo (8).

Dentre os estudos conduzidos com equinos, Prades et al. (13) trataram vinte e três animais com três aplicações intra-articulares, com duas a três semanas de intervalo entre elas. Observou-se melhora no grau de claudicação e efusão articular. Em outro estudo, Frisbie et al. (24) relataram melhora no grau de claudicação e diminuição da fibrose na cartilagem, da hiperplasia na membrana sinovial e da hemorragia após a administração de plasma autólogo em equinos com osteoartrite induzida experimentalmente na articulação do carpo.

Carmona et al. (25) realizaram estudo com equinos que não responderam a terapia convencional composto de três aplicações intraarticulares de PRP com um intervalo de duas semanas entre cada aplicação. Os resultados permitiram demonstrar redução no grau de claudicação principalmente após a terceira aplicação, além da regressão da efusão articular. A resposta terapêutica foi atribuída ao efeito analgésico e anti-inflamatório exercido pelo PRP mediante a inibição da expressão de fatores nucleares e bloqueio da ação dos metabólitos pró-inflamatórios em uma escala menor. Além disso, o PRP causa aumento da síntese *in vitro* de ácido hialurônico pelos sinoviócitos de humanos com osteoartrite, gerando conseqüentemente poderoso e prolongado efeito analgésico e anti-inflamatório na articulação (26).

Em estudos conduzidos com humanos, Sanchez et al. (27) publicaram um relato de caso no qual o PRP foi utilizado para tratar avulsão de cartilagem articular em um jogador de futebol, obtendo-se como resposta a diminuição do tempo de recuperação e completa restauração da cartilagem articular, com rápido retorno a atividade atlética sem apresentação de sintomas. Sanchez et al. (28) em outro estudo testaram o PRP para o tratamento de osteoartrites na articulação femurotibiopatelar. O ácido hialurônico foi utilizado como controle, mostrando melhora no tratamento da dor e função física com o uso do PRP.

### *O emprego do PRP nas lesões ósseas*

Há poucos estudos sobre a aplicação do PRP em lesões ósseas em equinos, sendo a maioria dos estudos conduzidos em outras espécies. Entretanto, há na literatura o relato de López et al. (29) que realizaram o tratamento de uma fratura escapular causada acidentalmente por um projétil de arma de fogo. O tratamento consistiu em três aplicações guiadas por ultrassom com duas semanas de intervalo. Com um mês de evolução houve redução no grau de claudicação (de 5 para 3) e não havia mais crepitação. O equino foi submetido a um programa de exercícios gradual e em nove meses estava completamente recuperado, não apresentando mais atrofia muscular do membro acometido.

Kitoh et al. (30) relataram uma série de casos no qual dezessete pacientes humanos receberam aplicação de PRP e vinte e nove não. Os autores concluíram que no grupo tratado com PRP não houve atraso na consolidação e tiveram menos complicações.

Em outro estudo foram criadas fraturas no fêmur de quarenta e oito ratos (9). O grupo tratado recebeu PRP e o controle recebeu solução salina. Na quarta semana após o tratamento as análises revelaram que no grupo tratado com PRP houve a formação de um maior calo ósseo, sendo também mais resistente. Houve maior expressão de TGF- $\beta$  e de proteína óssea morfogênica que foram associadas com a aceleração na reparação óssea.

Intini (31) realizou um estudo sobre as ações dos diversos fatores de crescimento plaquetários na reparação óssea, conforme demonstrado no Quadro 3.

Quadro 3. Diversas ações dos fatores de crescimento na reparação óssea (31).

Fator de crescimento	Ação nos ossos
<b>Fator de crescimento Epidermal (EGF)</b>	Age na proliferação óssea, promovendo a formação do osso periosteal e aumentando a reabsorção endosteal, em doses fisiológicas. A falta de receptores para este fator de crescimento causa um atraso na ossificação primária da cartilagem e atrasa o recrutamento dos osteoclastos e osteoblastos.
<b>Fator de crescimento Fibroblástico básico (bFGF)</b>	Age na proliferação e diferenciação ao induzir os preosteoblastos e osteoblastos capazes de induzir e sustentar a regeneração óssea.
<b>Fator de crescimento semelhante a insulina (IGF)</b>	Estimula células osteoblásticas em cultura a proliferarem, sintetizarem proteínas da matriz óssea e estimulam a expressão de mRNA para a fosfatase alcalina, osteopontina e osteocalcina na matriz óssea estromal.
<b>Fator de crescimento celular endotelial derivado de plaquetas (PDECGF)</b>	Angiogênese.
<b>Fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF)</b>	Proliferação: o efeito primário do PDGF nos ossos é relacionado a sua atividade mitogênica. Liberação controlada de PDGF é benéfica para a regeneração óssea quando aplicado no local de lesão.
<b>Fator de crescimento transformante - <math>\beta</math>1 (TGF-<math>\beta</math>1)</b>	Age como um fator de crescimento parácrino e autócrinoproliferativo, afetando principalmente os fibroblastos, células tronco medulares e preosteoblastos.
<b>Fator de crescimento vascular endotelial (VEGF)</b>	Angiogênese: aumenta a vascularização nos defeitos ósseos. Também é eficaz para induzir a regeneração óssea em ossos irradiados.

### *O emprego do PRP nas lesões musculares*

Lesões musculares, causadas por contusão ou estiramento, são comuns e incapacitantes. Elas acometem principalmente atletas em competições que envolvem contato, corrida, salto e atividade de aceleração, e podem ser responsáveis pela maioria dos dias perdidos na prática esportiva (12).

Em um estudo com ratos com múltiplas aplicações de PRP em lesões musculares excêntricas, houve redução significativa no tempo de recuperação (32).



Quatorze atletas profissionais que apresentavam lesão muscular aguda foram tratados com aplicação de PRP guiada por ultrassom após a aspiração do hematoma em uma série de casos não publicada (12). Houve redução do período de recuperação de 50%. Em intervalos regulares foi realizado acompanhamento médico com exames ultrassonográficos que confirmaram progressiva melhora do músculo acometido.

Apesar do sucesso obtido em alguns estudos, há a teoria de que o PRP pode induzir a fibrose muscular, principalmente pela presença do TGF- $\beta$  nos *alpha* grânulos. Em estudos *in vitro* com tecido muscular foi demonstrado que este fator de crescimento estimula a fibrose, e esta falha na reparação pode levar ao aumento do risco de recidiva (12).

A maioria desses estudos é conduzida em ratos, coelhos e humanos sendo escassa a literatura em equinos. São necessários mais estudos para avaliar a viabilidade do uso do PRP em lesões musculares nesta espécie.

### ***O emprego do PRP nas lesões cutâneas***

Os ferimentos traumáticos são desafiadores e, muitas vezes, exigem acompanhamento intensivo dos proprietários e veterinários de equinos, sendo que o fechamento primário de feridas é bem sucedido em apenas 24% dos casos (33). Para agravar o problema, a cicatrização de feridas por segunda intenção está sujeita a inúmeras complicações que comprometem o equino, incluindo inflamação crônica, contração fraca, desenvolvimento de tecido de granulação exuberante e reepitelização lenta (34).

Com o objetivo de reduzir o tempo de cicatrização das lesões cutâneas, vários estudos foram conduzidos. Dentre eles pode-se citar o de De Rossi et al. (4) que testaram o uso de PRP em gel no tratamento de feridas induzidas cirurgicamente na região do pescoço de equinos. Duas feridas com oito centímetros foram realizadas em cada antímero do pescoço, e os seis equinos foram divididos em grupo um e dois. O primeiro grupo teve uma lesão biopsiada no dia cinco e outra no dia trinta após a indução. O segundo grupo teve sua lesão biopsiada nos dias quinze e quarenta e cinco. Os resultados permitiram demonstrar que no grupo tratado a resposta inflamatória foi menor, nos parâmetros histológicos houve uma melhor organização tecidual e maior angiogênese do que no grupo controle. Por outro lado, Monteiro et al. (35) não observaram aceleração e nem melhora na qualidade da reparação ao tratar lesões na região metacarpiana. O PRP teve um efeito deletério estimulando o tecido de granulação exuberante e, conseqüentemente, atrasando significativamente a cicatrização. Neste estudo foram avaliados os parâmetros histológicos, biomecânicos e mensuração da quantidade de TGF- $\beta$  e de RNAm para colágeno tipo I e III, não havendo diferença nas avaliações. Uma provável justificativa é a elevada concentração de TGF- $\beta$  que possivelmente acelera a diferenciação dos fibroblastos em miofibroblastos, reduzindo a síntese e quantidade de matriz depositada no tecido de cicatrização.

A principal vantagem terapêutica do PRP sobre os fatores de crescimento purificados e isolados para o tratamento de feridas é que ele representa uma mistura natural de mediadores estimulantes e inibitórios projetados para ter efeitos biológicos sinérgicos no ambiente do ferimento (36).

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O PRP é estudado há muito tempo com grande sucesso em alguns casos, o que estimulou vários pesquisadores a utilizá-lo em lesões de diferentes tecidos. Alguns estudos como o de Maia et al. (2), Bosch et al. (11), Frisbie et al. (24) e De Rossi et al. (4) apresentaram resultados favoráveis, já o estudo de Monteiro et al. (35) não revelou resultados satisfatórios. Em lesões musculares há ainda grande receio quanto a sua utilização devido à

excessiva produção de tecido fibroso que pode ser provocada pelo TGF- $\beta$ . Apesar de alguns resultados positivos desses experimentos, há alguns estudos nos quais não se observa melhora. Isso se deve em parte a falta de padronização nos protocolos de obtenção, com diferentes formas de preparo, além de tempo e forças de centrifugação relativa variadas. Além disso, ainda não se sabe exatamente o correto número de aplicações, intervalo entre elas, a dose e concentração ideal de plaquetas e o momento correto para se realizar o tratamento. Portanto há a necessidade de mais estudos básicos para que se obtenha o máximo de efeito do PRP e se comprove ou não sua eficácia, particularmente na medicina equina.

## AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo pela a concessão das bolsas de iniciação científica a Vendruscolo e de doutorado ao Maia e Carvalho.

## REFERÊNCIAS

1. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelet source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost.* 2004;91:4-15.
2. Maia L, Souza MV, Ribeiro Júnior JI, Oliveira AC, Alves GES, Benjamin LA, et al. Platelet-Rich plasma in the treatment of induced tendinopathy in horses: histologic evaluation. *J Equine Vet Sci.* 2009;29:618-26.
3. Carmona JU, López C, Prades M. Uso de concentrados autólogos de plaquetas obtidos mediante el método del tubo como tratamiento de artropatías em caballos. *Arch Med Vet.* 2009;41:175-9.
4. De Rossi R, Coelho ACAO, Mello GS, Frazílio FO, Leal CRB, Facco GG, et al. Effects of platelet-rich plasma gel on skin healing in surgical wound in horses. *Acta Cir Bras.* 2009;24:276-81.
5. McCarrel T, Fortier L. Temporal growth factor release from platelet-rich plasma, trehalose lyophilized platelets, and bone marrow aspirate and their effect on tendon and ligament gene expression. *J Orthop Res.* 2009;27:1033-42.
6. Feldman BF. Schalm's veterinary hematology. 5<sup>a</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000.
7. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent.* 2001;10:225-8.
8. Kon E, Filardo G, Di Martino A, Marcacci M. Platelet-rich plasma (PRP) to treat sports injuries: evidence to support its use. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2011;19:516-27.
9. Simman R, Hoffmann A, Bohinc RJ, Peterson WC, Russ AJ. Role of platelet-rich plasma in acceleration of bone fracture healing. *Ann Plast Surg.* 2008;61:337-44.
10. Dahlgren LA, Nixon AJ, Brower-Toland BD. Effect of betaaminopropionitrile on equine tendon metabolism in vitro and on effects of insulin-like growth factor-I on matrix production by equine tenocytes. *Am J Vet Res.* 2001;62:1557-62.

11. Bosch G, Moleman M, Barneveld A, Van Weeren PR, Van Schie HT. The effect of platelet-rich plasma on the neovascularization of surgically created equine superficial digital flexor tendon lesions. *Scand J Med Sci Sports*. 2011;21:554-61.
12. Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *Am J Sports Med*. 2009;37:2259-72.
13. Prades M, Abellanet I, Carmona JU, Argüelles D, Masri M. Platelet rich plasma: a realistic alternative in tissue repair. In: *Proceedings of the 15th Annual Meeting European College of Veterinary Surgeons; 2006, Seville*. Seville: ECVS; 2006. p.211-6.
14. Textor JA, Norris JW, Tablin F. Effects of preparation method, shear force, and exposure to collagen on release of growth factors from equine platelet-rich plasma. *Am J Vet Res*. 2011;72:271-8.
15. Ridermann G, Cislakova M, Arndt G, Carstanjen B. Autologous conditioned plasma therapy of tendon and ligament lesions in seven horses. *J Vet Sci*. 2010;11:173-5.
16. Dahlgren LA, Mohammed HO, Nixon AJ. Temporal expression of growth factors and matrix molecules in healing tendon lesions. *J Orthop Res*. 2005;23:84-92.
17. Molloy T, Wang Y, Murrell GAC. The roles of growth factors in tendon and ligament healing. *Sports Med*. 2003;33:381-94.
18. Hsu C, Chang J. Clinical implications of growth factors in flexor tendon wound healing. *J Hand Surg*. 2004;29A:551-63.
19. Lynch SE, Colvin R, Antoniadis HN. Growth factor in wound healing: single and synergistic effects on partial thickness porcine skin wounds. *J Clin Invest*. 1989; 84:640-6.
20. Yoshikawa Y, Abrahamsson S. Dose-related cellular effects of platelet-derived growth factor-BB differ in various types of rabbits tendon in vitro. *Acta Orthop Scand*. 2001; 72:287-92.
21. Schnabel LV, Mohammed HO, Miller BJ, McDermott WG, Jacobson MS, Santangelo KS, et al. Platelet rich plasma (PRP) enhances anabolic gene expression patterns in flexor digitorum superficialis tendon. *J Orthop Res*. 2007;25:230-40.
22. Schnabel LV, Mohammed HO, Jacobson MS, Fortier LA. Effect of platelet-rich plasma and acellular bone marrow on gene expression patterns and DNA content of equine suspensory ligament explant cultures. *Equine Vet J*. 2008;40:260-5.
23. Brama P. Cartilage repair: an update. In: *Abstracts European Veterinary Conference; 2007, Voorjaarsdagen*. Voorjaarsdagen: IVIS; 2007. p. 210-1.
24. Frisbie DD, Kawcak CE, Werpy NM, Park RD, McIlwraith CW. Clinical, biochemical, and histological effects of intraarticular administration of autologous conditioned serum in horses with experimentally induced osteoarthritis. *Am J Vet Res*. 2007;68:290-6.

25. Carmona JU, López C, Prades M. Uso de concentrados autólogos de plaquetas obtenidos mediante el método del tubo como tratamiento de artropatías em caballos. Arch Med Vet. 2009;41:175-9.
26. Anitua E, Sánchez M, Nurden AT, Zalduendo MM, de la Fuente M, Azofra J, et al. Platelet-release growth factors enhance the secretion of hyaluronic acid and induce hepatocyte growth factor production by synovial fibroblasts from arthritic patients. Rheumatology. 2007;46:1769-72.
27. Sanchez M, Azofra J, Anitua E, Andía I, Padilla S, Santisteban J, et al. Plasma rich in growth factors to treat an articular cartilage avulsion: a case report. Med Sci Sports Exerc. 2003;35:1648-52.
28. Sanchez M, Anitua E, Azofra J, Aguirre JJ, Andia I. Intraarticular injection of an autologous preparation rich in growth factors for the treatment of knee OA: a retrospective cohort study. Clin Exp Rheumatol. 2008;26:910-3.
29. López C, Carmona JU, Samudio I. Uso de concentrados autólogos de plaquetas como tratamiento de una fractura escapular y una lesión del plexo braquial producidas por un disparo en un caballo. Arch Med Vet. 2010;42:209-14.
30. Kitoh H, Kitakoji T, Tsuchiya H, Katoh M, Ishiguro N. Transplantation of culture expanded bone marrow cells and platelet rich plasma in distraction osteogenesis of the long bones. Bone. 2007;40:522-8.
31. Intini G. The use of platelet-rich plasma in bone reconstruction therapy. Biomaterials. 2009;30:4956-66.
32. Hammond JW, Hinton RY, Curl LA, Muriel JM, Lovering RM. Use of autologous platelet-rich plasma to treat muscle strain injuries. Am J Sports Med. 2009;37:1135-42.
33. Wilmlink JM, Van Herten J, Van Weeren PR, Barneveld A. Retrospective study of primary intention healing and sequestrum formation in horses compared to ponies under clinical circumstances. Equine Vet J. 2002;34:270-3.
34. Theoret CL. What's new and innovative in wound management: problems and solutions. In: Proceedings of the 52th AAEP Convention; 2006, San Antonio. San Antonio, TX: AAEP; 2006. p.265-9.
35. Monteiro SO, Lepage OM, Theoret CL. Effects of platelet-rich plasma on the repair of wounds on the distal aspect of the forelimb in horses. Am J Vet Res. 2009;70:277-81.
36. Steel CM, Robertson ID, Thomas J, Yovich JV. Effect of topical rh-TGF- $\beta$ 1 on second intention wound healing in horses Aust Vet J. 1999;77:734-7.

**Recebido em: 30/06/11**

**Aceito em: 13/12/11**

## HIPOADRENOCORTICISMO EM CÃES: REVISÃO

Felipe Gazza Romão<sup>1</sup>  
Mariana Isa Poci Palumbo Antunes<sup>2</sup>

### RESUMO

O hipoadrenocorticism ou Síndrome de Addison, é uma endocrinopatia incomum de difícil diagnóstico em cães, já que os sinais clínicos mimetizam doenças comuns da clínica de pequenos animais. Pode ser classificado em primário, secundário ou terciário. Acomete animais jovens ou de meia-idade, sendo que as raças mais predispostas ao surgimento da enfermidade incluem: Poodle, Springer spaniel, Rottweiler, Basset hound e West highland terrier. Os sinais clínicos são bastante variáveis, e o paciente pode apresentar desde uma simples gastroenterite até sinais de decúbito e coma, em decorrência da falta de glicocorticóides e mineralocorticóides. O diagnóstico é feito baseado nos sinais clínicos e é confirmado pela escolha correta dos testes hormonais. O clínico não deve perder tempo para diagnosticar e tratar a doença, já que animais em crise adissoniana podem ir a óbito dentro de algumas horas. O objetivo desta revisão é alertar os clínicos sobre a ocorrência desta doença e a dificuldade do diagnóstico, em razão da semelhança dos sinais clínicos com os de outras enfermidades.

**Palavras-chave:** adrenal, estimulação por ACTH, cortisol, aldosterona.

### HYPOADRENOCORTICISM IN DOGS: REVIEW

#### ABSTRACT

Hypoadrenocorticism, or Addison's disease, is an uncommon endocrinopathy of hard diagnosis in dogs, since the clinical signs mimic common diseases of small animal's clinic. It can be classified in primary, secondary or tertiary. It affects young or middle-aged animals, and the most predisposed breeds to have this disease include: Poodle, Springer spaniel, Rottweiler, Basset hound and West highland terrier. Clinical signs are variable, and the patient may have from simple gastroenteritis to signs of recumbency and coma, due to the lack of glucocorticoids and mineralocorticoids. The diagnosis is made based on clinical signs and confirmed by the correct choice of hormonal tests. The clinician must not lose time to diagnose and treat the disease, since animals in crisis can die in hours. The objective of this review is to alert clinicians about the occurrence of this disease and the difficulty of diagnosis, because of the similarity of clinical signs with those of other diseases.

**Keywords:** adrenal, ACTH stimulation test, cortisol, aldosterone.

---

<sup>1</sup> Médico Veterinário Mestrando. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia- UNESP, Departamento de Clínica Veterinária, Campus de Botucatu, SP. Autor para correspondência: Felipe Gazza Romão. Rua Ministro Xavier de Toledo, 117/ apto. 51. Bairro: Campo Grande, Santos, SP. 11070-300. (13)32376700 – (13)91580470. fgazza\_vet@hotmail.com

<sup>2</sup> Médica Veterinária Mestranda Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia- UNESP, Departamento de Clínica Veterinária, Campus de Botucatu, SP.

## HIPOADRENOCORTICISMO EN PERROS: REVISIÓN

### RESUMEN

Hipoadrenocorticism, o síndrome de Addison, es un trastorno endocrino poco común de difícil diagnóstico en los perros, ya que los síntomas clínicos imitan las enfermedades comunes de la clínica de pequeños animales. Puede ser clasificado en primario, secundario o terciario. Afecta animales jóvenes o de mediana edad, y las razas más propensas a la aparición de la enfermedad son: Poodle, Springer spaniel, Rottweiler, Basset hound y West highland terrier. Los signos clínicos son variables, y el paciente puede tener una gastroenteritis simple hasta signos de postración y coma, debido a la falta de glucocorticoides y mineralocorticoides. El diagnóstico se realiza con base en los signos clínicos y es confirmado por la elección correcta de las pruebas hormonales. El clínico no debe perder tiempo para diagnosticar y tratar la enfermedad, ya que los animales en crisis se pueden morir en pocas horas. El objetivo de este trabajo es alertar a los clínicos sobre la incidencia de esta enfermedad y la dificultad del diagnóstico, debido a la similitud de los signos clínicos con los de otras enfermedades.

**Palabras-clave:** suprarrenal, teste de estimulación con ACTH, cortisol, aldosterona.

### INTRODUÇÃO

O hipoadrenocorticismo canino (síndrome de Addison) é resultante da secreção hormonal adrenocortical (glicocorticóide e mineralocorticóide) insuficiente para manter as necessidades fisiológicas básicas do organismo (1,2). Estima-se que a incidência da doença varie de 0,36% a 0,5% da população canina, sendo que os sinais clínicos somente aparecerão quando mais de 85% das adrenais estiverem comprometidas (3).

As glândulas adrenais são órgãos endócrinos bilateralmente simétricos localizados próximos aos rins (4), que se situam na porção dorsal do abdome, próximo à junção toracolombar. São retroperitoniais e, em geral, de localização craniomedial ao rim correspondente (5). A adrenal (supra-renal) direita tem forma triangular e está situada na borda medial do rim, cranialmente em relação ao hilo. O ápice da glândula está voltado em direção caudal, estando ainda relacionada dorsolateralmente com a veia cava posterior (6).

Normalmente, as glândulas adrenais não fazem contato com os rins. Elas têm coloração creme e são ricas em lipídios. Em cães adultos medem de 2 a 3 cm de comprimento, 1 cm de largura e 0,5 cm de espessura (6). Não existe diferença significativa entre cães de diferentes tamanhos, mas são relativamente maiores em indivíduos jovens em relação aos indivíduos adultos e em fêmeas prenhes e lactantes, do que naquelas reprodutivamente inativas (5,7).

Cada glândula é dividida em duas áreas separadas, a medula e a córtex, com produção de diferentes tipos de hormônios (4). A córtex adrenal é composta por três zonas: glomerular, fasciculada e reticulada. A zona glomerular, a mais externa, é responsável pela síntese e secreção de mineralocorticóides, como a aldosterona, sendo incapaz de sintetizar cortisol e hormônios sexuais devido à deficiência da enzima 17-alfa-hidroxilase. Tanto a zona fasciculada quanto a zona reticulada são responsáveis pela produção de cortisol e hormônios sexuais (8). O córtex desenvolve-se a partir do epitélio celômico mesodérmico e produz os hormônios esteróides cortisol, corticosterona, aldosterona e esteróides sexuais (4).

A aldosterona é o mineralocorticóide mais importante do organismo, enquanto o cortisol representa o glicocorticóide de maior importância. A aldosterona possui um papel vital no balanço hidroeletrólítico, pois a sua ação aumenta a excreção renal de potássio ( $K^+$ ) e do íon hidrogênio ( $H^+$ ), enquanto estimula a reabsorção tubular de sódio ( $Na^+$ ) e cloreto ( $Cl^-$ ).

Os rins são seu principal sítio de ação, mas a mucosa intestinal, e as glândulas sudoríparas e salivares também sofrem a atuação deste hormônio (3).

A ação do cortisol afeta quase todos os tecidos do organismo; ele ajuda a manter o balanço hidroeletrolítico, a pressão sanguínea, além de aumentar a sensibilidade vascular à ação das catecolaminas. O cortisol também suprime a resposta imune, estimula a eritrocitose e possui efeitos catabólicos sobre tecidos conjuntivos, musculares e ósseos (9). Além de todas estas funções citadas, esta substância estimula a neoglicogênese, aumenta o glicogênio hepático e a glicemia, e facilita a lipólise, sendo considerado um hormônio diabotogênico por estes motivos (4).

## INTRODUÇÃO E FISIOPATOLOGIA

O hipoadrenocorticismo é um distúrbio relativamente incomum em cães, que pode ser classificado em primário (mais comum), secundário e terciário. O comprometimento da função adrenal desenvolve-se como resultado de falha do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Em cães, o hipoadrenocorticismo é resultado geralmente de substancial destruição do tecido adrenocortical (hipoadrenocorticismo primário), o que leva à deficiência tanto de glicocorticóides quanto de mineralocorticóides na maioria dos casos. Calcula-se que 90% da glândula deva estar comprometida até que se desenvolvam sinais clínicos da doença (10-12). Nestes casos, os níveis de ACTH (hormônio adrenocorticotrófico) plasmáticos estarão aumentados, resultado da perda de “feedback” negativo sobre a hipófise em razão da falta de cortisol (13).

A destruição imunomediada do córtex adrenal aparentemente é a principal causa da forma primária da enfermidade. A avaliação histopatológica do córtex adrenal de diversos cães com a doença revelou infiltrados linfocíticos plasmocíticos (14). Nos seres humanos, a destruição adrenocortical imunomediada tem sido associada com duas condições hereditárias, resultando na síndrome da poliendocrinopatia imunomediada, enquanto em cães, uma predisposição genética para o hipoadrenocorticismo foi demonstrada em Poodles Standard e Collies (12). Já as causas raras de destruição cortical primária incluem infiltração fúngica (*Histoplasma*, *Blastomyces*, *Coccidioides*, *Cryptococcus*), neoplasia, amiloidose, trauma ou coagulopatia (3,15).

A superdosagem e/ou reações idiossincrásicas em cães com hiperadrenocorticismo tratados com mitotano e até mesmo com trilostano também resultam em hipoadrenocorticismo temporário ou permanente (12). O mitotano causa necrose citotóxica seletiva do córtex adrenal, ocasionando necrose progressiva e atrofia das zonas reticulada e fasciculada, poupando a zona glomerular. Porém, cerca de 5% dos cães sofrem necrose e perda de todas as três camadas do córtex adrenal, resultando em um quadro de hipoadrenocorticismo iatrogênico permanente (16). O mecanismo de ação do trilostano (inibição reversível da conversão de esteróides) não deveria causar destruição da glândula, embora tenham sido relatados casos de animais que apresentaram quadro de hipoadrenocorticismo e necrose adrenocortical após tratamento com esta droga (17). Uma variedade de outras drogas pode inibir a produção de esteróides adrenocorticais, como etomidato, drogas imidazólicas, metirapona, aminoglutetimida e mifepristona. No entanto, como seus efeitos são, em geral, relativamente de curta ação, raramente resultam em hipoadrenocorticismo clinicamente significativo (12).

Aproximadamente 10% dos casos de hipoadrenocorticismo primário apresentam evidência apenas de deficiência glicocorticóide (Addison atípico); isto ocorre pela destruição da camada secretora de cortisol sem comprometimento inicial da zona glomerular, produtora de aldosterona. Estes pacientes podem desenvolver distúrbios eletrolíticos semanas ou meses após o diagnóstico inicial da forma atípica (3,10).

O hipoadrenocorticismo secundário, resultado de produção inadequada de ACTH pela hipófise, pode ser causado por terapia esteroideal crônica, ou menos comumente por tumores, trauma ou defeitos congênitos da glândula pituitária (18). Dependendo da dose, preparação e duração do tratamento, a supressão do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal pode persistir durante semanas ou meses após a cessão da terapia exógena. Neste caso, ocorre uma deficiência de secreção glicocorticóide, pois a secreção de aldosterona é controlada principalmente pelas concentrações plasmáticas de renina e potássio, e não pelo ACTH. Por conseguinte, estes pacientes não apresentarão os sinais clássicos de hiponatremia e hipercalemia (12).

O hipoadrenocorticismo terciário, causado por disfunção da secreção de CRH (hormônio liberador de corticotrofina) pelo hipotálamo, é raramente relatada em humanos. Em cães, a falta de CRH resultaria em diminuição dos níveis de ACTH, o que seria manifestado como hipoadrenocorticismo secundário (3).

## SINAIS CLÍNICOS E ACHADOS LABORATORIAIS

A síndrome de Addison é uma doença de baixa incidência (cerca de 1 caso para 3000 cães), dos quais 70% dos animais acometidos são fêmeas. Afeta preferencialmente animais jovens (em média de 4 a 5 anos), sendo que algumas raças são mais predispostas, como: Poodle Standard, Great dane, cão d'água português, Bearded Collie, Rottweiler e West highland terrier (19,20).

Os proprietários geralmente reclamam de sinais inespecíficos, de caráter crônico e progressivo, como letargia, depressão, perda de peso, hiporexia, episódios de êmese e diarreia intermitentes, fraqueza e desidratação, que a princípio respondem razoavelmente à terapia de suporte e fluidoterapia. A inespecificidade dos sinais leva o clínico ao erro, já que a suspeita recairá sobre outras doenças mais comuns, como gastroenterites ou insuficiência renal (3,21). Estes sinais tipicamente pioram progressivamente ou em momentos de estresse até chegar ao ponto da ocorrência da crise adissoniana, na qual os pacientes apresentam sinais de choque moderados ou severos, evidenciados por fraqueza extrema ou coma, hematêmese, hematoquesia, hipotermia, tremores, hipovolemia, tempo de preenchimento capilar prolongado, características de pulso fraco e bradicardia intensa (10,18).

No hipoadrenocorticismo, a deficiência de glicocorticóides contribui para o surgimento de alguns dos sinais clínicos, como a letargia, fraqueza e inadequada função gastrointestinal. A deficiência mineralocorticóide resulta em perda de sódio, desidratação, prejuízo da função neuromuscular e distúrbios de condução cardíaca. Por este motivo, animais que sofrem da forma atípica ou do tipo secundário da síndrome de Addison apresentam sinais mais brandos da doença. Alguns pacientes apresentam megaesôfago e regurgitação como queixas primárias, ou outros sinais neurológicos, como dores musculares (10).

A diminuição das concentrações de aldosterona leva a taxas de excreção diminuídas de potássio ( $K^+$ ) e perda excessiva de sódio ( $Na^+$ ) e água, o que acarreta em poliúria e polidipsia compensatória. O decréscimo da perfusão renal em decorrência da hipovolemia resulta em azotemia pré-renal e consequente insuficiência renal, caso não seja realizada reposição hidroeletrólítica adequada (19).

As manifestações cardiovasculares decorrentes do hipoadrenocorticismo são relacionadas à hipercalemia e hipovolemia, esta em razão da perda excessiva de sódio e, conseqüentemente de água. A hipotensão ocorre por diminuição da sensibilidade de receptores vasculares para adrenalina, em razão da diminuição de cortisol. Geralmente, pacientes em crise adissoniana apresentam bradicardia apesar do quadro de choque hipovolêmico (19).

As anormalidades eletrólíticas clássicas, como a hipercalemia (95% dos casos), hiponatremia (86%), hipocloremia (40%) e relação sódio: potássio menor que 23 são fatores



altamente sugestivos para o diagnóstico de hipoadrenocorticismo primário (3,18). Alguns estudos concluíram que o hipoadrenocorticismo foi a causa de maior ocorrência em casos onde havia hiponatremia e hipercalemia (12). A hipocloremia ocorre concomitantemente à hiponatremia, por perdas renais e gastrointestinais (3). A hipercalemia é outra anormalidade eletrolítica presente em alguns casos de hipoadrenocorticismo (cerca de 30%), em razão da hemoconcentração decorrente da desidratação (18).

A acidose metabólica é resultado da diminuição da secreção de íons  $H^+$  (hidrogênio) pelos túbulos renais distais, aumento da geração de ácidos secundária à redução da perfusão tecidual e retenção renal de diversos ácidos orgânicos (18).

Além da azotemia citada anteriormente, outras anormalidades bioquímicas presentes em animais acometidos são hipoproteinemia e hipoglicemia. A primeira é consequência de perda protéica pela hemorragia gastrointestinal, mas na maioria das vezes é mascarada pela desidratação do paciente. Já a hipoglicemia ocorre pela queda dos níveis de cortisol e consequente diminuição da glicogenólise e gliconeogênese, e pode ser a única anormalidade em pacientes com a forma atípica da enfermidade ou com hipoadrenocorticismo secundário (18,22).

Os achados hematológicos incluem a presença de anemia normocítica normocrômica arregenerativa (que pode ser mascarada pela desidratação), linfocitose (em até 10% dos casos) e eosinofilia (20% dos pacientes) (21,23). O clínico deve suspeitar de hipoadrenocorticismo se a contagem de células brancas não revelar um leucograma de estresse, esperado em casos de estresse e doenças crônicas (21).

Muitos cães acometidos pela doença apresentam prejuízo na capacidade de concentrar a urina devido à perda urinária crônica de sódio, à depleção do conteúdo de sódio da medula renal, à perda do gradiente de concentração medular normal e à reabsorção prejudicada de água pelos tubos coletores renais. Em consequência, alguns pacientes com azotemia pré-renal têm densidades urinárias na variação isostenúrica (1.007 a 1.015). Este quadro pode ser facilmente confundido com insuficiência renal crônica. Felizmente, o tratamento inicial para estes dois distúrbios é similar; portanto, testes hormonais são necessários para diferenciar estas duas condições (18,24).

O eletrocardiograma pode ser extremamente útil no diagnóstico do hipoadrenocorticismo se houver bradicardia. Achados eletrocardiográficos clássicos associados à hipercalemia, responsável por alterações da excitabilidade da membrana celular e depressão do sistema de condução, incluem: prolongamento de complexos QRS, diminuição da amplitude da onda R, aumento da amplitude da onda T, prolongamento ou ausência de onda P e parada sinoatrial. Assístole ou fibrilação ventricular podem ser observadas em casos de hipercalemia severa (3,18,21). Cães com deficiência somente de glicocorticóides não demonstram geralmente nenhuma alteração eletrocardiográfica (3).

Exames radiográficos e ultrassonográficos podem ser utilizados, embora apenas possam revelar sinais inespecíficos de diversas doenças. Microcardia e diminuição do calibre da artéria pulmonar e veia cava caudal decorrentes da hipovolemia podem ser observados, além da presença de megaesôfago. A ultrassonografia abdominal pode demonstrar diminuição do tamanho das glândulas adrenais, especialmente da sua largura (3,18,21,22).

## DIAGNÓSTICO

O diagnóstico do hipoadrenocorticismo é baseado nos sinais clínicos, achados do exame físico, desequilíbrio eletrolítico clássico (em casos da forma primária da doença) e confirmação pelo teste de estimulação com ACTH. A concentração basal sérica de cortisol e a relação cortisol: creatinina da urina não são métodos diagnósticos confiáveis, pois a

administração de drogas e a presença de doenças concomitantes podem levar a resultados falso-positivos, além de não avaliarem a reserva adrenal de cortisol (18,25).

O teste de estimulação com ACTH consiste na administração intravenosa ou intramuscular de ACTH sintético<sup>a</sup> na dose de 5 µg/kg, e coleta de sangue antes e após uma hora da administração da droga para mensuração dos níveis de cortisol (19). Níveis pós-estimulação de 2 µg/dL de cortisol confirmam o diagnóstico, enquanto concentrações de 2,1 µg/dL até 5 µg/dL são inconclusivos. Resultados superiores a 5 µg/dL descartam qualquer possibilidade de insuficiência adrenal (25). É importante lembrar que glicocorticóides como a hidrocortisona, prednisona e prednisolona interferem no teste; então, deve-se esperar para o início da terapia após a realização do teste, ou utilizar a dexametasona para suprir as necessidades de glicocorticóides em pacientes em estado crítico, já que a inibição da produção de cortisol endógeno ocorrerá de 4 a 6 horas após a administração desta droga (11). Deve-se também salientar que a administração intramuscular do ACTH sintético em animais severamente desidratados pode resultar em uma absorção mais lenta, causando interferência na interpretação dos exames; portanto, sugere-se o uso da via intravenosa para a realização do teste (26).

O clínico pode guardar o montante não utilizado do ACTH sintético, em razão do seu alto custo e da quantidade ínfima utilizada para o exame. Amostras reconstituídas podem ser refrigeradas sem perda da eficácia por até 21 dias. Por não possuir substâncias conservantes, deve-se tomar extremo cuidado para prevenir a contaminação bacteriana durante a reconstituição. A amostra também pode ser estocada em um freezer (-20 °C) em seringas plásticas por até 6 meses sem perder a eficácia; porém, freezers frost-free não devem ser utilizados, pois os ciclos de descongelamento podem causar desnaturação de proteínas (26,27).

O teste de estimulação com ACTH não distingue os tipos primário e secundário de hipoadrenocorticismo, já que apenas os níveis de cortisol sérico são mensurados neste exame. Concentrações eletrolíticas anormais (especialmente de potássio e sódio) implicam na existência de hipoadrenocorticismo primário, já que estes tipos de distúrbio são causados pela deficiência de mineralocorticóides. Concentrações de sódio e potássio normais não diferenciam hipoadrenocorticismo primário na fase inicial de hipoadrenocorticismo secundário (18,25,27).

Para diferenciar as várias formas da síndrome de Addison, deve-se recorrer à mensuração da concentração plasmática de ACTH endógeno. Animais acometidos pela forma primária apresentarão elevada concentração de ACTH (>100 pg/mL), enquanto pacientes que sofrem do tipo secundário têm valores abaixo do normal ou indetectáveis (<20 pg/mL). As amostras necessitam de cuidado especial, pois o ACTH pode ser facilmente modificado pela proteólise e/ou hemólise após a coleta. Além disso, as concentrações de ACTH endógeno são rápida e drasticamente suprimidas por qualquer glicocorticóide exógeno. Consequentemente, a determinação de ACTH plasmático endógeno só deverá ser realizada em amostras colhidas antes da suplementação com glicocorticóides (12).

Testes para a aferição dos níveis de aldosterona plasmáticos (seja basal ou estimulado por ACTH) não são muito disponíveis comercialmente nem fidedignos, já que muitos animais saudáveis têm concentrações baixas de aldosterona plasmática; por isso, este exame não é largamente utilizado no diagnóstico do hipoadrenocorticismo (15).

## TRATAMENTO E PROGNÓSTICO

O tratamento da crise adissoniana, estado repentino e emergencial causado pela insuficiência adrenocortical, é direcionado para o controle da hipotensão, hipovolemia, desequilíbrios eletrolíticos e acidose metabólica, melhora da integridade vascular e

fornecimento de uma fonte imediata de glicocorticóides (24). Como a morte resultante do hipoadrenocorticismo é frequentemente atribuída ao colapso e choque vascular, a correção da hipovolemia constitui a primeira e mais importante ação terapêutica (24,28).

A fluidoterapia agressiva restaura a volemia e melhora a perfusão renal, o que diminui os níveis de potássio sérico por diluição e aumento da excreção renal (18). A taxa de reposição de choque (60-90 mL/kg/h) deve ser utilizada (26). Na ausência de doenças cardiovasculares ou insuficiência renal aguda anúrica, recomenda-se administrar um terço ou quarto da reposição de choque calculada (20-30 mL/kg/IV) em bolus, em um período de aproximadamente 10 minutos. Enquanto isso, os parâmetros vitais do animal devem ser avaliados (frequência cardíaca, pressão sanguínea, débito urinário, concentração de lactato sanguíneo). Se a condição do animal não melhora, bolus de 20-30 mL/kg de fluido devem ser aplicados até estabilidade da hemodinâmica (28). A taxa de infusão do fluido deve ser ajustada de acordo com a resposta clínica do animal (26).

A solução fisiológica salina (NaCl 0,9%) é o fluido de escolha para a reposição volêmica em pacientes com hipoadrenocorticismo porque não contém potássio e tem alta concentração de sódio quando comparada a outras soluções (28). Porém, o clínico deve estar atento à rápida correção da hiponatremia, pois esta alteração brusca de osmolaridade pode resultar em doença neurológica estrutural e mielinólise caracterizada por uma variedade de sintomas neurológicos variavelmente reversíveis; por isso, recomenda-se reduzir a taxa de infusão para 5 mL/kg/h após duas horas do início da fluidoterapia, para evitar este tipo de problema (12). Se não houver disponibilidade de NaCl 0,9%, outros cristalóides, como o Ringer com Lactato, podem ser utilizados. A quantidade de potássio neste fluido é mínima e, portanto, não piora o quadro de hipercalemia (26).

A decisão para a realização de tratamento emergencial para a hipercalemia deve ser tomada com base nas alterações contidas no eletrocardiograma do paciente; se o traçado mostrar mudanças, como fibrilação ou assistolia ventricular, bradicardia severa e parada sinoatrial, o tratamento deve ser instituído. Para isso, administra-se insulina regular por via intravenosa, na dose de 0,2 UI/kg, além de solução de dextrose a 25% (2 g/unidade de insulina aplicada) para evitar a ocorrência de hipoglicemia. A insulina atua facilitando a entrada de potássio para o meio intracelular, diminuindo assim a hipercalemia (18,22). Outra medida interessante é a aplicação de gluconato de cálcio a 10%, na dose de 0,5 a 1 mL/kg ou de 2 a 10 mL/cão, já que esta droga antagoniza temporariamente os efeitos da hipercalemia sobre o potencial de membrana das células cardíacas. Esta dose deve ser administrada em um período de 10 a 15 minutos, com monitoração do eletrocardiograma. A infusão deve ser descontinuada se houverem sinais de piora da bradicardia, elevação do segmento S-T ou diminuição do intervalo Q-T. A infusão pode ser reiniciada assim que estas anormalidades desaparecerem. Os efeitos protetores do gluconato de cálcio sobre o miocárdio têm início rapidamente, mas duram por apenas 30 minutos, no máximo; porém, sua administração pode ser importante, pois a administração de fluido e insulina neste período pode diminuir os níveis de potássio sérico (26).

A hipoglicemia deve ser tratada com um bolus inicial de 0,5 a 1 mL/kg de solução 50% de dextrose por via endovenosa se sinais clínicos de hipoglicemia estiverem presentes; caso contrário, soluções de 2,5 a 5% podem ser utilizadas. É importante ressaltar que a administração da solução a 50% preferencialmente deve ser feita por um cateter central na veia jugular, para evitar a ocorrência de flebite da veia cefálica ou safena (26).

A maioria dos cães em crise adissoniana tem acidose metabólica discreta a moderada, que geralmente é resolvida pela fluidoterapia. Se a acidose metabólica severa persistir após o início da administração de fluidos intravenosos (pH < 7.1 ou [HCO<sub>3</sub>] < 12 mEq/L), o bicarbonato de sódio pode ser administrado (26). O déficit de bicarbonato é calculado pela seguinte fórmula:

Déficit (mEq/L) = Peso corpóreo (kg) x 0,5 x Déficit de base (mEq/L). Um quarto da dose de bicarbonato calculada deve ser administrado nos fluidos intravenosos durante as 6 a 8 horas iniciais do tratamento (24). O objetivo da terapia com bicarbonato é aumentar o pH sanguíneo para 7,2, e não corrigir totalmente a acidose metabólica (26).

O tratamento com bicarbonato de sódio ajuda a corrigir a acidose metabólica e também diminui a concentração sérica de potássio. O movimento intracelular dos íons  $K^+$  após a administração de bicarbonato, em associação aos efeitos diluentes da fluidoterapia salina e à melhora da perfusão renal, são bastante eficazes na diminuição da hipercalemia e na normalização das alterações eletrocardiográficas (24).

A suplementação com glicocorticóide é de extrema importância durante a crise adissoniana. O seu uso melhora a integridade vascular e do sistema gastrointestinal, a manutenção da pressão sanguínea e a volemia. A administração dos glicocorticóides é feita inicialmente por via parenteral, com repetição das doses a cada 2 a 6 horas após a aplicação inicial. O teste de estimulação com ACTH deve ser feito antes da administração destes medicamentos, para que os resultados não sofram nenhum tipo de interferência. Caso isto não seja possível, o clínico deve administrar o fosfato sódico de dexametasona <sup>b</sup> (0,5 a 4 mg/kg/IV), pois este medicamento demora mais para alterar os níveis de cortisol endógeno quando comparado a outros corticóides (26).

Outras opções de glicocorticóides incluem o succinato sódico de metilprednisolona <sup>c</sup>, na dose de 15 a 20 mg/kg/IV, administrada em um período de 2 a 4 minutos, ou o succinato sódico de hidrocortisona (5 mg/kg/IV inicialmente administrados em um período de 5 minutos, seguido de 1 mg/kg/IV a cada 6 horas) (26). A hidrocortisona possui atividades mineralocorticóide e glicocorticóide equivalentes, podendo assim ser utilizada de maneira eficaz nos doentes a curto prazo (12).

Assim que o paciente estiver devidamente estabilizado, a terapia de reposição hormonal com mineralocorticóides e glicocorticóides é iniciada e deve ser mantida por toda a vida, nos casos de hipoadrenocorticism primário (11). Já os cães com a forma atípica da doença necessitarão inicialmente de suplementação com glicocorticóides e muito provavelmente de reposição mineralocorticóide dentro de meses ou anos após o diagnóstico inicial. Animais com hipoadrenocorticism secundário necessitarão apenas da suplementação com glicocorticóides (prednisona <sup>d</sup> na dose de 0,22 mg/kg/BID é a melhor opção) (26).

A melhor opção para a terapia de reposição mineralocorticóide a longo prazo recai sobre a administração do acetato de fludrocortisona <sup>e</sup>, na dose de 0,02 mg/kg a cada 12 a 24 horas, com um aumento diário de 0,05 mg a 0,1 mg até que as concentrações dos eletrólitos séricos estejam estabilizadas. Esta droga possui atividades mineralocorticóide e glicocorticóide. Outra opção é o uso do pivalato de desoxicorticosterona <sup>f</sup> (DOCP), na dose de 2 mg/kg a cada 21 dias, por via intramuscular ou subcutânea (nunca intravenosa); porém, se o clínico optar por esta terapia, deve ser feita a suplementação com prednisona na dose de 0,22 mg/kg, a cada 12 horas, já que o DOCP não possui nenhuma atividade glicocorticóide; além disso, este medicamento não é encontrado no Brasil. Por estes motivos, o acetato de fludrocortisona surge como melhor opção na terapia de manutenção a longo prazo, embora o clínico deva lançar mão do uso da prednisona em situações de estresse, como viagens, estadias em hotéis e cirurgias (28).

Em alguns pacientes, a necessidade de aumento da dose do acetato de fludrocortisona para melhor controle da concentração séria de eletrólitos leva a sinais de hipercortisolismo (poliúria, polidipsia, polifagia, alopecia); nestes casos somente, a troca pelo DOCP deve ser feita (26).

A razão mais comum para a persistência dos sinais clínicos, a despeito do tratamento apropriado, é a suplementação inadequada de glicocorticóides. Quando saudáveis e mantidos em um ambiente livre de estresse, os cães com insuficiência adrenal requerem comumente

pequenas quantidades de prednisona, ou mesmo nenhuma. Entretanto, quando estressados ou doentes, esses mesmos animais podem necessitar de grandes quantidades do corticóide (0,5 a 1 mg/kg/BID). A falha em fornecer quantidades adequadas de prednisona pode levar a persistência e piora de sinais como letargia, inapetência e êmese (24).

Os pacientes em crise adissoniana têm prognóstico favorável se receberem terapia emergencial adequada, seguida de suplementação crônica adequada de glicocorticóides e mineralocorticóides e acompanhamento rotineiro do quadro clínico do animal pelo médico veterinário (22). Além disso, uma vez que esses cães não apresentam reserva adrenocortical, qualquer doença ou evento estressante deve ser acompanhado pelo aumento da quantidade de glicocorticóides. Cães com a forma atípica da doença devem ser cuidadosamente observados para evitar posterior surgimento de deficiência de mineralocorticóides (12).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de ser uma doença de relativa baixa ocorrência, a síndrome de Addison deve ser sempre considerada como um dos diagnósticos diferenciais de distúrbios gastrointestinais inespecíficos, como êmese, hiporexia e diarreia, por exemplo, pois a rápida intervenção do clínico permite uma melhor condução da terapia e, conseqüentemente, do prognóstico do animal. É importante lembrar que quanto antes houver a ação do médico veterinário, menores as chances da ocorrência da crise adissoniana, quadro grave que pode levar o animal a óbito dentro de algumas horas.

## REFERÊNCIAS

1. Boujon CE, Bornand-Jaunin V, Schärer V, Rossi GL, Bestetti GE. Pituitary gland changes in canine hypoadrenocorticism: a functional and immunocytochemical study. *J Comp Pathol.* 1994;111:287-95.
2. Scott-Moncrieff JC. Canine hypoadrenocorticism: what's new? In: *Proceedings of 24th North American Veterinary Conference; 2007, Ithaca. Ithaca: NAVC; 2007.*
3. Klein SC, Peterson ME. Canine hypoadrenocorticism: part I. *Can Vet J.* 2010;51:63-9.
4. Greco D, Stabenfeldt GH. *Tratado de fisiologia veterinária.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
5. Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. *Tratado de anatomia veterinária.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997.
6. Venzke WG. Endocrinologia. In: Getty R. *Anatomia dos animais domésticos.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1986. p.1481-4.
7. Bertolini G, Caldin M, De Lorenzi D, Furlanello T. Computed tomographic quantification of canine adrenal gland volume and attenuation. *Vet Radiol Ultrasound.* 2006;47:444-8.
8. Scott-Moncrieff JC. Role of sex hormones in diagnosis of adrenal dysfunction. In: *Proceedings of 24th North American Veterinary Conference; 2007, Ithaca. Ithaca: NAVC; 2007.*

9. Kempainen RJ, Behrend E. Adrenal physiology. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1997;27:173-86.
10. Mooney CT. Addison's disease – Is it always acute? In: *Proceedings of 32nd World Small Animal Veterinary Congress; 2007, Sidney.* Sidney: WSAVA; 2007.
11. Church DB. Addison's disease: what's the best treatment? In: *Proceedings of 33rd World Small Animal Veterinary Congress; 2008, Dublin.* Dublin: WSAVA; 2008.
12. Church DB. Hipoadrenocorticismo canino. In: Mooney CT, Peterson ME. *Manual de endocrinologia canina e felina.* São Paulo: Roca; 2009. p.207-16.
13. Kooistra HS. Pitfalls in the diagnosis of hypoadrenocorticism in dogs. In: *Proceedings of 31st World Small Animal Veterinary Congress; 2006, Prague.* Prague: WSAVA; 2006.
14. Sellon RK. The immune-mediated basis of endocrine diseases. In: *Proceedings of 32nd World Small Animal Veterinary Congress; 2007, Sidney.* Sidney: WSAVA; 2007.
15. Feldman EC, Nelson RW. *Canine and feline reproduction and endocrinology.* St. Louis: Saunders; 2004.
16. Peterson ME. Medical treatment of canine pituitary-dependent hyperadrenocorticism (Cushing's disease). *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2001;31:1005-14.
17. Chapman PS, Kelly DF, Archer J, Brockman DJ, Neiger R. Adrenal necrosis in a dog receiving trilostane for the treatment of hyperadrenocorticism. *J Small Anim Pract.* 2004;45:307-10.
18. Greco DS. Hypoadrenocorticism in small animals. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2007;22:32-5.
19. Panciera DL, Carr AP. *Endocrinologia para o clínico de pequenos animais.* São Paulo: Roca; 2007.
20. Scott-Moncrieff JC. Canine hypoadrenocorticism: what's new? In: *Proceedings of 24th North American Veterinary Conference; 2007, Ithaca.* Ithaca: NAVC; 2007.
21. Daminet S. How to recognize addison's disease in dogs: "The great pretender". In: *Proceedings of 42nd European Veterinary Conference; 2008, Amsterdam.* Amsterdam: NACAM; 2008. p.104-5.
22. Meeking S. Treatment of acute adrenal insufficiency. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2007;22:36-9.
23. Avery AC, Avery PR. Determining the significance of persistent lymphocytosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2007;37:267-82.
24. Nelson RW. Hipoadrenocorticismo. In: Nelson RW, Couto CG. *Medicina interna de pequenos animais.* Rio de Janeiro: Elsevier; 2006. p.769-75.
25. Nelson RW. Diagnostic testing for Addison's and Cushing's disease. In: *Proceedings of 24th North American Veterinary Conference; 2007, Ithaca.* Ithaca: NAVC; 2007.

26. Klein SC, Peterson ME. Canine hypoadrenocorticism: part II. Can Vet J. 2010;51:179-84.
27. Frank LA, Oliver JW. Comparison of serum cortisol concentrations in clinically normal dogs after the administration of freshly reconstituted versus reconstituted and stored frozen cosyntropin. J Am Vet Med Assoc. 1998;212:1569-71.
28. Boysen SR. Fluid and electrolyte therapy in endocrine disorders: diabetes mellitus and hypoadrenocorticism. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2008;38:699-717.

**Recebido em: 07/10/10**

**Aceito em: 21/12/11**

## HELMINTOSES ZOONÓTICAS TRANSMITIDAS PELO CONSUMO INADEQUADO DE PEIXES

Daniel Fontana Ferreira Cardia<sup>1</sup>  
Katia Denise Saraiva Bresciani<sup>2</sup>

### RESUMO

Dentre as principais zoonoses parasitárias de origem alimentar, as helmintoses transmitidas pelo consumo de pescado destacam-se devido ao aumento de sua incidência em várias regiões do mundo nos últimos anos. No passado estas parasitoses restringiam-se a nações subdesenvolvidas ou com hábitos alimentares peculiares, entretanto, diversos fatores como o processo de globalização da produção de alimentos, o aumento das viagens internacionais e do consumo de peixes pelos seus benefícios nutricionais, causaram a expansão destas doenças à áreas onde nunca antes haviam sido registradas, tornando-se um grave problema de saúde pública em alguns países. Nesta revisão são abordadas as principais helmintoses transmitidas pela ingestão de peixe cru ou mal cozido, com o intuito de alertar a população, comunidade científica e autoridades sanitárias sobre os seus riscos à saúde humana, bem como estimular a realização de novas pesquisas que contribuam para um maior conhecimento epidemiológico da situação destas parasitoses no país e na elaboração de estratégias de prevenção e controle.

**Palavras-chave:** helmintos, parasitoses, zoonoses, peixes, homem.

## ZOONOTIC HELMINTHIASIS TRANSMITTED BY THE INADEQUATE CONSUMPTION OF FISHES

### ABSTRACT

Among the major food-borne parasitic zoonoses, the helminthiasis transmitted by consumption of fish have been highlighted because they involve a large number of individuals in many regions of the world in recent years. In the past, these parasitosis were restricted to underdeveloped nations or with peculiar eating habits; however the process of globalization of food production, the increased international travel and consumption of fish for their nutritional benefits caused the expansion into new areas, which had never before been recorded, making it a serious public health problem in some countries. This review discuss the main helminths transmitted by eating raw or undercooked fish, in order to alert the public, the scientific community and health authorities about their risks to human health, as well as stimulate the realization of new researches that contributes to a greater knowledge of the epidemiological situation in the country of these parasites and the development of strategies for prevention and control of them.

**Key words:** helminths, parasites, zoonoses, fish, man.

---

<sup>1</sup> Doutorando do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista (UNESP). Via de acesso Professor Paulo Donato Castellane, s/nº, Jaboticabal, SP, Brasil. CEP: 14884-900. Email: cardia@posgrad.fcav.unesp.br

<sup>2</sup> Professora Adjunto do Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal - Faculdade de Medicina Veterinária - UNESP. Rua Clóvis Pestana, nº 793, Araçatuba, SP, Brasil. CEP: 16050-680. Email: bresciani@fmva.unesp.br



## HELMINTIASIS ZOONÓTICAS TRANSMITIDAS POR CONSUMO INADECUADO DE PESCADO

### RESUMEN

Las helmintiasis por consumo de pescado se destacan entre las principales zoonosis parasitarias transmitidas por alimentos, debido al aumento en su incidencia en varias regiones del mundo durante los últimos años. En el pasado, la presencia de estas parasitosis se limitaba a países subdesarrollados o con hábitos de alimentación peculiares. Sin embargo, el proceso de globalización en la producción de alimentos, el aumento de viajes internacionales y el consumo de pescado por sus beneficios nutricionales han provocado la diseminación de estas enfermedades hacia regiones sin registro de casuística previo, convirtiéndose en un grave problema de salud pública en algunos países. En esta revisión se discuten las principales helmintiasis transmitidas por consumo de pescado crudo o mal cocido, con la finalidad de alertar a la población, a la comunidad científica y a las autoridades de salud sobre los riesgos para la salud humana, así como estimular la realización de nuevas investigaciones que puedan contribuir con un mejor conocimiento de la situación epidemiológica relacionada con estas parasitosis en el país así como con el desarrollo de estrategias de prevención y control de las mismas.

**Palabras-clave:** helmintos, parasitosis, zoonosis, pescado, hombre.

### INTRODUÇÃO

Os seres humanos são acometidos por numerosas zoonoses parasitárias de origem alimentar, sendo a grande maioria causadas por helmintos (1). Dentre estas parasitoses, destacam-se algumas helmintoses causadas por nematódeos, cestódeos e trematódeos, transmitidas pelo consumo de peixes crus ou mal cozidos, que apesar de serem pouco conhecidas pela população, são responsáveis pela infecção de um grande número de indivíduos todos os anos em diversas regiões (2). Dados mundiais revelam que mais de 18 milhões de pessoas podem albergar alguns destes parasitas e que anualmente 0,5 bilhão está em situação de risco para aquisição destas infecções (3).

No passado, estas helmintoses limitavam-se apenas a áreas restritas do planeta, caracterizadas por baixo desenvolvimento econômico ou com hábitos alimentares específicos. Entretanto, nas últimas décadas, estas enfermidades expandiram-se por diversas regiões em virtude da globalização que permitiu um maior fluxo de alimentos e pessoas entre diferentes países e causou a incorporação da culinária tradicional de algumas culturas no cotidiano de outras (2). Somado a isso, nos últimos anos, ocorreu um aumento considerável no consumo mundial de pescado, em decorrência da crescente conscientização de seus benefícios nutricionais à saúde humana, principalmente por pessoas que buscam uma alimentação mais saudável (4).

O hábito de ingerir peixe cru, na forma de “sushis” e “sashimis” foi introduzido pelos primeiros imigrantes japoneses no início do século XX, com grande aceitação na culinária brasileira. Pratos de culinária exótica como o “ceviche” peruano, “marinado” espanhol, “green herring” holandês, “gravlax” escandinavo, “lomi-lomi” havaiano e “gefilte fish” judaico, estão se tornando cada vez mais comuns no cotidiano gastronômico dos brasileiros, constituindo-se em risco à população, por também utilizarem em seu preparo, pescado cru ou levemente cozido (5).

Neste contexto, insere-se a importância do conhecimento destas parasitoses por médicos veterinários envolvidos com a produção, inspeção e comercialização de pescado, os quais têm

a responsabilidade de assegurar aos consumidores, produtos de qualidade, inócuos à saúde humana. Portanto, nesta revisão são abordadas as principais helmintoses zoonóticas transmitidas pelo consumo inadequado de peixes dulcícolas e marinhos, com o intuito de alertar a comunidade científica e autoridades sanitárias para este importante problema de saúde pública e também incentivar a realização de novas pesquisas relacionadas à epidemiologia, prevenção e controle destas parasitoses.

## ANISAQUIÁSE

Anisaquíase é o termo utilizado para designar a infecção parasitária humana causada pelos estágios larvais de alguns gêneros de nematódeos da Família Anisakidae, principalmente *Anisakis* spp. e *Pseudoterranova* spp., sendo as espécies *Anisakis simplex* e *Pseudoterranova decipiens* as mais comumente encontradas nos casos de infecção em humanos (1). Anisaquídeos adultos normalmente parasitam o estômago e intestino delgado de mamíferos marinhos como golfinhos, baleias, focas, leões marinhos e morsas (6).

O ciclo evolutivo destes nematódeos inicia-se com a postura de quantidade de ovos pelas fêmeas que são eliminados para o ambiente, juntamente com fezes dos hospedeiros definitivos. Uma vez no meio aquático, ocorre no interior dos ovos, o desenvolvimento dos embriões até a formação de larvas de segundo estágio (L2), que eclodem e locomovem na água até serem ingeridas por várias espécies de crustáceos que atuam como hospedeiros intermediários destes parasitas, uma vez que nestes ocorre o desenvolvimento das L2 em larvas de terceiro estágio (L3) (1).

Quando os crustáceos são ingeridos por uma infinidade de espécies de peixes, principalmente marinhos e moluscos cefalópodes, ocorre a liberação das larvas L3, que penetram e invadem os tecidos destes hospedeiros, encistando-se à espera do hospedeiro definitivo (6). Ao ingerir os hospedeiros intermediários ou paratênicos, ocorre o fechamento do ciclo evolutivo destes helmintos com o desenvolvimento dos estágios adultos e sexualmente maduros no trato gastrointestinal dos hospedeiros definitivos (2). A infecção humana ocorre pela ingestão de peixes, lulas e crustáceos crus ou mal cozidos contendo larvas L3 em seus tecidos (6).

Esta helmintose é considerada uma zoonose grave, apesar de ser pouco conhecida pela população, com aumento de sua prevalência nas últimas décadas em diferentes países do mundo como Alemanha, Holanda, Espanha e França (7). Entretanto cerca de 90% dos casos de anisaquíase em humanos concentram-se no Japão, onde mais de 2.000 pessoas infectam-se anualmente com esta parasitose (2). Em 2009, na Europa, a incidência de casos de anisaquíase foi de 3,8/100.000 (8). Na América, casos de anisaquíase foram diagnosticados em indivíduos dos EUA, Canadá e Chile, porém no Brasil, ainda não há notificação de casos, mas sim o relato da presença de L3 destes nematódeos em peixes marinhos da costa fluminense (9,10), além de bacalhau importado comercializado no estado de São Paulo (4).

Apesar dos seres humanos serem hospedeiros acidentais no ciclo evolutivo destes helmintos, por raramente desenvolverem-se em indivíduos adultos, os sintomas da anisaquíase dependem da localização e das lesões histopatológicas causadas pelas larvas (2). Quando limitadas a luz do trato gastrointestinal, podem causar infecções assintomáticas que só serão percebidas quando os parasitas forem expulsos pelas fezes ou vômitos, porém, quando há penetração tecidual pelas larvas, na mucosa gastrointestinal, o hospedeiro comumente apresenta dor abdominal, diarreia e vômitos (1). Exames histopatológicos geralmente revelam a presença das larvas envoltas por granulomas eosinofílicos na mucosa gastrointestinal, com aspecto semelhante a tumores (2), que são extremamente dolorosos nos casos severos, necessitando na maioria das vezes remoção cirúrgica (11).

A similaridade dos sintomas da anisakiase com outras doenças gastrointestinais como apendicite, úlcera, peritonite, neoplasias e doença de Crohn (2) dificultam seu diagnóstico, que deve ser sempre apoiado em uma cuidadosa avaliação clínica do paciente associada ao seu histórico. Em alguns casos, é também possível se observar reações de hipersensibilidade mediadas por IgE aos antígenos do parasita, ocasionando quadros que variam de simples urticária a reações de anafilaxia (11).

## GNATOSTOMÍASE

A Gnatostomíase é uma zoonose parasitária causada por larvas de terceiro estágio do gênero de nematódeo *Gnathostoma* spp., endêmico de regiões onde as pessoas têm o hábito de consumir peixes de água doce crus ou mal cozidos (12). Anteriormente estes parasitas se restringiam ao sudeste asiático, principalmente no Japão e Tailândia, porém, nos últimos anos, tem se tornado um problema crescente na Europa e na América Latina (13). No Brasil há apenas um relato da doença notificado em 2008 pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), em um indivíduo com história de viagem ao Peru (14). Casos autóctones da doença em humanos ainda não foram identificados, porém este gênero de nematódeo já foi registrado em felídeos silvestres e marsupiais brasileiros (15).

Os principais hospedeiros definitivos deste parasita são carnívoros e suínos, tanto domésticos como selvagens, onde se observa a presença dos machos e fêmeas adultas inseridos na parede gástrica, formando tumorações, que após a cópula, liberam seus ovos no trato gastrointestinal, os quais são eliminados pelas fezes (14). Estes ovos liberam para o ambiente aquático larvas de primeiro estágio (L1), as quais penetram em pequenos crustáceos, principalmente do gênero *Cyclops* spp. tornando-se larvas L2, que são posteriormente ingeridas por peixes, além de crustáceos, anfíbios, répteis, aves e roedores, liberando estas larvas que sofrerão nova muda para L3 e encistamento na musculatura destes novos hospedeiros intermediários (1). Os hospedeiros definitivos infectam-se ao ingerir o segundo hospedeiro intermediário destes helmintos, que inicialmente penetram na mucosa intestinal, migrando para o peritônio, fígado, outros órgãos, retornando posteriormente para a mucosa estomacal reiniciando seu ciclo biológico (12).

Os seres humanos são hospedeiros acidentais, uma vez que os parasitas não conseguem atingir sua maturidade sexual (13), portanto a sua patogenia é decorrente dos processos inflamatórios provocados pela migração das L3 pelo organismo após penetrarem na mucosa gástrica e caírem na circulação sanguínea em três a quatro semanas (16), uma vez que estas são capazes de se moverem 1cm/hora (12).

Dependendo do local de migração das larvas e dos sintomas subsequentes, a doença manifesta-se sobre duas formas nos seres humanos: cutânea e visceral (13). A forma cutânea frequentemente caracteriza-se por edema migratório, trajeto serpiginoso e forte prurido (14), já a forma visceral caracteriza-se por febre, mal-estar, náusea, vômitos, anorexia, diarreia e dor epigástrica em decorrência da migração das larvas da parede do estômago para o fígado e por outros órgãos (12). Embora de manifestação rara, a gnatostomíase também pode acometer o sistema nervoso central, levando a quadros de meningite eosinofílica e paraplegia (13).

O surgimento da gnatostomíase em áreas anteriormente não endêmicas, demanda de conhecimento mais amplo para a identificação da doença, o que a torna de difícil diagnóstico, portanto, deve-se atentar para sua ocorrência em indivíduos com alterações cutâneas ou com sintomas gastrointestinais inespecíficos, pelo histórico de viagens internacionais e consumo de peixe cru ou mal cozido (13).

## CAPILARIOSE

Capilariose é ocasionada pelo nematódeo *Capillaria philippinensis*, transmitida aos seres humanos pela ingestão de peixes dulcícolas (1). Mais de 2000 casos de infecções em pessoas por estes parasitas ocorreram nas Filipinas e Tailândia, países endêmicos. Ocorrências esporádicas também foram observadas até o momento no Japão, Coréia, Taiwan, China, Indonésia, Índia, Irã, Emirados Árabes, Egito, Itália, Espanha e Reino Unido (17).

Os estágios adultos destes parasitas vivem intimamente aderidos à mucosa intestinal do jejuno (1), onde após a cópula, produzem dois tipos de ovos com características distintas, que são necessárias para a perpetuação de seu ciclo evolutivo (6). O primeiro tipo de ovo, com casca grossa, que lhe confere proteção é eliminado para o exterior, juntamente com as fezes do indivíduo acometido, contaminando rios e lagos. No ambiente aquático, estes ovos são ingeridos por peixes de água doce, liberando larvas que permanecem encistadas em seus tecidos, até que sejam ingeridos crus ou mal cozidos por seres humanos, onde concluirão sua biologia, tornando-se nematódeos adultos no intestino delgado (6).

O segundo tipo de ovo apresenta apenas membrana vitelínica, com um embrião em seu interior, pois produzem larvas com a capacidade de desenvolverem na luz intestinal e serem auto-infectantes aos próprios hospedeiros definitivos, dando origem a novas gerações de parasitas adultos na mucosa do intestino delgado (6). Embora não se conheçam mais hospedeiros definitivos, além do homem, acredita-se que aves piscívoras possam também apresentar formas adultas destes parasitas (1).

A sintomatologia destas infecções é caracterizada por quadros de diarreia intermitente, que levam os indivíduos acometidos a apresentar forte dor abdominal, borborigmos intestinais, edemas, fraqueza, caquexia e que se não tratados a tempo podem vir ao óbito. Na maioria dos casos os pacientes morrem em decorrência da grande perda de eletrólitos, que podem resultar em falhas no funcionamento cardíaco e/ou septicemias (18).

## DIFILOBOTRÍASE

Difilobotríase é a denominação utilizada para designar a parasitose intestinal causada por cestódeos do gênero *Diphyllobothrium* spp., o qual possui mais de 50 espécies, sendo 13 destas capazes de afetar também o homem (2). No Japão, o cestódeo *Diplogonoporus grandis*, também é responsável por causar infecções semelhantes em seres humanos (19).

A difilobotríase é considerada a mais importante zoonose transmitida pelo consumo de pescado, destacando-se também por ser a cestodiose humana com maior número de casos em todo o mundo, superando até mesmo o complexo teníase-cisticercose (2), com ampla distribuição por países da Europa, Ásia, América do Norte e do Sul, que consomem frequentemente peixes dulcícolas ou anádromas crus ou mal cozidos (20). Estimativas recentes indicam que 20 milhões de pessoas possam estar parasitadas por este cestódeo (21).

No Brasil, durante os anos de 2004 e 2005, o primeiro surto de difilobotríase, causada pela espécie *Diphyllobothrium latum*, foi registrado no estado de São Paulo em 55 indivíduos que haviam consumido salmão chileno cru em restaurantes japoneses e que em sua maioria nunca havia saído do país. Nesta ocasião, após investigações epidemiológicas, o Centro de Vigilância Epidemiológica de São Paulo registrou os primeiros casos autóctones desta parasitose no Brasil (22).

O ciclo biológico destes parasitas é complexo, pois envolve três hospedeiros, dois intermediários e um definitivo (23). Inicia-se com a eliminação de grande número de ovos pelas fezes do hospedeiro definitivo, os quais liberam para o meio aquático um embrião móvel, denominado coracídio, que após ser ingerido por crustáceos copépodos, presentes no plâncton, desenvolve-se em procercóide (24). Quando estes crustáceos são ingeridos

principalmente por salmonídeos (25), o procercóide é liberado, encistando-se como plerocercóide nos tecidos destes novos hospedeiros intermediários, permanecendo assim, até que estes peixes sejam ingeridos crus ou mal cozidos pelos hospedeiros definitivos desta parasitose (24). O estágio adulto do gênero *Diphyllbothrium* spp. vive no intestino delgado de diversos mamíferos e aves piscívoras, onde pode atingir até 15 metros de comprimento, o que faz com que este cestódeo seja um dos maiores parasitas encontrados no ser humano (2).

As infecções humanas por estes parasitas podem variar desde casos assintomáticos a manifestações clínicas como distensão abdominal, dor epigástrica, flatulência, astenia, náuseas, vômitos, perda de peso, eosinofilia e diarreia (25). Uma importante consequência desta helmintose é o desenvolvimento de anemia microcítica e megaloblástica, decorrente da grande absorção de vitamina B12 pelo parasita, além de obstrução da luz intestinal em infecções maciças e prolongadas (26).

## OPISTORQUIÁSE

A opistorquíase é designação dada às infecções humanas causadas por várias espécies de trematódeos hepáticos da Família Opisthorchiidae transmitidas pelo consumo de pescado dulcícola (27). Dentre estas espécies destacam-se: *Clonorchis sinensis* e *Opisthorchis viverrini*, endêmicos da Ásia, *Opisthorchis felineus* da Europa Oriental e *Metorchis conjunctus* da América do Norte (2). Estimativas mundiais indicam que 35 milhões de pessoas possam albergar alguns destes trematódeos, sendo 15 milhões apenas na China (28).

O estágio adulto destes trematódeos pode habitar os ductos biliares de diferentes grupos de mamíferos, inclusive o homem (1). Todas as espécies destes helmintos compartilham ciclos biológicos muito semelhantes entre si, o qual se inicia com a liberação de ovos nas vias biliares, que chegam até o intestino para serem eliminados para o meio aquático, juntamente com as fezes do hospedeiro definitivo (2). Uma vez no ambiente, estes ovos são ingeridos por caramujos, onde eclodem, liberando miracídeos que penetram nos tecidos destes moluscos passando por sucessivos processos de replicação, até formação das cercárias, que serão liberadas para o meio aquático infectando diversas espécies de peixes de água doce, com destaque para a família Cyprinidae, além de algumas espécies de camarões dulcícolas. A infecção humana ou de outros mamíferos ocorre quando os peixes contendo metacercárias destes trematódeos são ingeridos crus ou mal cozidos (29).

As várias espécies de opistorquídeos são altamente patogênicas e em infecções crônicas podem provocar no organismo de seu hospedeiro severas patologias, tais como: pancreatite, colangite piogênica, cálculos biliares, cirrose hepática e colangiocarcinoma (2).

O Brasil ainda não possui registros de casos autóctones de opistorquíase, nem mesmo condições ideais para o desenvolvimento do ciclo biológico desta parasitose, em decorrência da não existência de seus hospedeiros intermediários naturais, no entanto, a ingestão de peixes crus ou mal cozidos, oriundos de regiões endêmicas, constitui-se situação de risco à população, tornando o diagnóstico e tratamento adequados destas trematodioses um desafio para serviços de saúde do país, como que foi constatado em 1989 por Leite et al. (30) em imigrantes asiáticos infectados com *C. sinensis*.

## HETEROFÍASE

Heterofíase é termo utilizado para agrupar todas as trematodioses causadas por várias espécies de helmintos da família Heterophyidae, parasitas intestinais de mamíferos e aves, com cerca de 35 espécies zoonóticas, dentre as quais destacam-se *Heterophyes heterophyes* e *Metagonimus yokogawai* (2). Estimativas da prevalência destes parasitas são imprecisas, pois seus ovos são praticamente indistinguíveis entre si, grande parte dos casos humanos já

registrados ocorreu no sudeste Asiático, Oriente Médio, Balcãs, Turquia, Espanha (2). Entretanto, apesar de imprecisos os números mundiais de indivíduos infectados podem chegar a 18 milhões (31).

O ciclo biológico destes trematódeos envolve a presença de um hospedeiro intermediário, representado por espécies de caramujos aquáticos, o qual pode ingerir ovos, que liberam miracídios para seus tecidos, que posteriormente desenvolve-se em cercárias. As cercárias abandonam os caramujos, penetram nos tecidos de seu segundo hospedeiro intermediário, representado por peixes de água doce, onde encistam-se como metacercárias. A infecção humana ocorre pela ingestão de metacercárias presentes na musculatura destes peixes, quando consumidos cru ou mal cozidos (1).

Quanto à patogenicidade destes parasitas, esta parece ainda não estar totalmente compreendida, entretanto, observa-se que algumas espécies podem causar doença fatal em seres humanos, pelo comprometimento de órgãos vitais, como coração, cérebro e coluna vertebral, decorrente da invasão do sistema circulatório por ovos. Já os estágios adultos localizam-se na mucosa do intestino delgado, onde causam atrofia de vilosidades, hiperplasia de criptas, com graus variáveis de reação inflamatória (2). Os principais sintomas apresentados pelos indivíduos parasitados vão desde dor epigástrica, diarreia e anorexia em infecções leves a cólicas abdominais, má absorção de nutrientes e perda de peso significativa (2).

No Brasil até o momento, só foram registradas ocorrências de heterofíase humana causada pela espécie *Ascocotyle (Phagicola) longa* nos municípios paulistas de Registro e Cananéia, onde foram confirmados 10 casos positivos entre 102 pacientes suspeitos que haviam ingerido tainha crua (32,33). Oliveira et al. (34) observaram prevalência de 100% de metacercárias deste parasita em tainhas adultas provenientes destas regiões. A similaridade dos ovos entre os trematódeos zoonóticos existentes (2), a ausência de sintomatologia característica e o desconhecimento dos médicos, prejudicam o correto diagnóstico desta parasitose, tornando sua prevalência subestimada no Brasil (34).

## ECHINOSTOMÍASE

Esta helmintose zoonótica é causada por diversas espécies de trematódeos pertencentes à Família Echinostomatidae, os quais habitam o intestino delgado de várias espécies de aves e mamíferos (1). Apesar de a Família Echinostomatidae possuir mais de 200 espécies, apenas 11 destas apresentam potencial de parasitar seres humanos pela ingestão de carne crua ou mal cozida de peixes, com destaque para as espécies *Echinostoma hortense* e *E. japonicus* (35).

A maioria dos relatos de infecções por estes parasitas em humanos concentram-se na Ásia e Oeste do Pacífico e possivelmente África. Nos EUA registram-se casos esporádicos desta enfermidade (35). O Brasil possui apenas uma única espécie desta família, com potencial zoonótico, denominada *E. echinatum*, que parasita normalmente aves, porém sua transmissão não está vinculada à ingestão de peixes crus ou mal cozidos, mas sim a moluscos (1).

O ciclo evolutivo destes parasitas varia de acordo com a espécie, entretanto, no geral necessitam de dois hospedeiros intermediários. Semelhantemente aos trematódeos das famílias Opisthorchiidae e Heterophyidae, suas cercárias se desenvolvem e abandonam caramujos aquáticos, encistando-se em metacercárias nos tecidos de outros moluscos, anfíbios ou peixes de água doce. Os humanos e outros animais infectam-se ao ingerir os tecidos destes hospedeiros intermediários crus ou mal cozidos, os quais podem conter grande número de metacercárias (1).

Geralmente a apresentação clínica desta enfermidade é leve, representada por quadros de diarreia, dor abdominal e fadiga, entretanto podem ocorrer graves ulcerações e hemorragias na mucosa duodenal (36).

## PREVENÇÃO E CONTROLE

A principal medida profilática para qualquer uma das helmintoses zoonóticas apresentadas nesta revisão, baseia-se em evitar a ingestão de peixes de procedência duvidosa, preparados crus, mal cozidos, levemente salgados ou defumados artesanalmente. O consumo de pescado nestas condições deve ser realizado apenas no caso de produtos certificados por órgãos oficiais de inspeção e submetidos a um prévio congelamento a  $-35^{\circ}\text{C}$  por 15 horas ou  $-20^{\circ}\text{C}$  por 7 dias, entretanto o congelamento promove a inativação apenas de nematódeos e cestódeos (37). Já em situações em que o pescado é consumido cozido, a temperatura de cocção utilizada é de  $70^{\circ}\text{C}$  por um período mínimo de 1 minuto, este procedimento garante total inativação dos estágios larvais de trematódeos, cestódeos e nematódeos (1), que pode também ocorrer por métodos industriais de irradiação, tornando os produtos cárneos de peixe inócuos ao consumo humano (22).

É recomendável que estas medidas sejam adotadas no preparo de qualquer tipo de peixe, pois mesmo que algumas espécies não façam parte da cadeia epidemiológica natural destes helmintos, podem funcionar como hospedeiros paratênicos, ao predarem peixes menores que estejam infectados por estágios larvais, constituindo-se também em fontes de infecção a animais e seres humanos (1).

No caso específico de regiões endêmicas para anisacídeos, a evisceração do pescado deve ocorrer imediatamente após sua captura, pois as larvas infectantes migram das vísceras para musculatura dos peixes, quando mantidas apenas sob refrigeração até a comercialização, o que aumenta seu potencial de infectividade aos seres humanos (38). Em casos de esta prática ser adotada, as vísceras destes peixes devem ser incineradas, pois se lançadas ao meio aquático, servem como fonte de infecção para outros peixes que as possam ingerir (38).

Dejetos humanos devem receber tratamento sanitário adequado, antes de serem lançados em mares, rios e lagoas, uma vez que constituem a principal via de eliminação de ovos da maioria destes helmintos para o ambiente aquático, contribuindo para perpetuação de seus ciclos biológicos, entretanto, esta recomendação é válida apenas para os parasitas que têm o homem como seu principal hospedeiro definitivo (39).

É fundamental para o controle das helmintoses transmitidas pelo consumo de peixes, a inclusão destas nos programas oficiais de saúde desenvolvidos em todo o Brasil. Estes programas devem conter ações de educação higiênico-sanitárias, que alertem à população, a importância do correto preparo do pescado destinado ao consumo na prevenção destas zoonoses e alertem as pessoas em viagens internacionais para os riscos da ingestão de pratos com peixe cru em países onde muitas destas parasitoses são comuns.

Os profissionais de saúde devem estar capacitados com conhecimentos técnico-científicos para o correto diagnóstico e conduta terapêutica adequada aos indivíduos acometidos por estas zoonoses. Salienta-se também que todos os casos diagnosticados devem sempre ser notificados aos Centros de Vigilância Epidemiológica de cada estado, no intuito que estes possam tomar todas as medidas cabíveis, que impeçam a instalação de algumas destas parasitoses no país e a ocorrência de novos casos já existentes.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

No Brasil, nos casos humanos identificados, fica clara a participação de peixes importados de regiões endêmicas consumidos inadequadamente, porém há uma escassez de

pesquisas que investiguem a participação dos peixes da fauna brasileira, dulcícolas ou marinhos, como potenciais transmissores destes parasitas, além da necessidade de mais estudos epidemiológicos que mostrem a real situação da prevalência e distribuição destas doenças no país.

O estudo das helmintoses zoonóticas transmitidas por peixes ainda é uma área de conhecimento dentro da parasitologia veterinária que precisa ser mais explorada pela comunidade científica, merecendo também ser alvo de maiores investimentos pelas agências nacionais de fomento à pesquisa.

## REFERÊNCIAS

1. Acha P, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ª ed. Washington DC: Organización Panamericana de la Salud; 2003.
2. Chai JY, Darwin Murrell MK, Lymbery AJ. Fish borne parasitic zoonoses: status and issues. *Int J Parasitol.* 2005;35:1233-54.
3. Food Agriculture Organization. Relatório final da conferência regional FAO/OMS sobre inocuidade dos alimentos. Roma: FAO/OMS; 2004.
4. Prado SPT, Capuano DM. Relato de nematóides da família Anisakidae em bacalhau comercializado em Ribeirão Preto, SP. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2006;39:580-1.
5. Barros LA, Moraes Filho J, Oliveira RL. Nematóides com potencial zoonótico em peixes com importância econômica provenientes do rio Cuiabá. *Rev Bras Cienc Vet.* 2006;13:55-7.
6. Anderson RC. Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission. 2a ed. Wallingford: CAB International; 2000.
7. Audicana MT, Ansotegui IJ, Corres LF, Kennedy MW. Anisakis simplex: dangerous-dead and alive? *Parasitol Today.* 2002;18:20-5.
8. Orphanet Report Series. Rare Diseases collection. Prevalence of rare diseases. 2009 [cited 2012 Jan 06]. Available from: <[http://www.orpha.net/orphacom/cahiers/docs/GB/Prevalence\\_of\\_rare\\_diseases\\_by\\_alphabetical\\_list.pdf](http://www.orpha.net/orphacom/cahiers/docs/GB/Prevalence_of_rare_diseases_by_alphabetical_list.pdf)>.
9. Caroline DRS, Luque JL. Larvas de Anisakidae na musculatura do pargo, *Pagrus pagrus*, no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2009;18:71-3.
10. Dias FJE, São Clemente SC, Knoff M. Nematoides anisakuídeos e cestoides Trypanorhyncha de importância em saúde pública em *Aluterus monoceros* (Linnaeus, 1758) no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2010;19:94-7.
11. Zuloaga J, Arias J, Balibrea JL. Anisakiasis digestiva. Aspectos de interes para el cirujano. *Cir Esp.* 2004;75:9-13.
12. Herman JS, Chiodini PL. Gnathostomiasis, another emerging imported disease. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22:484-92.



13. Moore DAJ, McCroddan J, Dekumyoy P, Chiodini PL. Gnathostomiasis: an emerging imported disease. *Emerg Infect Dis.* 2003;3:647-50.
14. Dani CMC, Mota KF, Sanchotene PV, Maia CPA, Mota KF, Piñeiro-Maceira J. Gnatostomíase no Brasil – relato de caso. *An Bras Dermatol.* 2009;84:400-4.
15. Vicente JJ, Rodrigues HO, Gomes DC, Pinto RM. Nematódeos do Brasil. Parte V: Nematódeos de mamíferos. *Rev Bras Zool.* 1997;1:1-452.
16. Hale DC, Blumberg L, Freaun J. Case report: Gnathostomiasis in two travelers to Zambia. *Am J Trop Med Hyg.* 2003;68:707-9.
17. Lu L, Lin M, Choi W, Hwang K, Hsu Y, Bair M, et al. Human intestinal capillariasis (*Capillaria philippinensis*) in Taiwan. *Am J Trop Med Hyg.* 2006;74:810-3.
18. Saichua P, Nithikathkul C, Kaewpitoon N. Human intestinal capillariasis in Thailand. *World J Gastroenterol.* 2008;14:506-10.
19. Kino H, Hori W, Kobayashi H, Nakamura N, Nagasawa K. A mass occurrence of human infection with *Diplogonoporus grandis* (Cestoda: Diphyllbothriidae) in Shizuoka Prefecture, central Japan. *Parasitol Int.* 2002;51:73-9.
20. Eduardo MBP, Sampaio JLM, Gonçalves EMN, Castilho VLP, Randi AP, Thiago C, et al. *Diphyllbothrium* spp.: um parasita emergente em São Paulo, associado ao consumo de peixe cru - sushis e sashimis, São Paulo, março de 2005. *Bol Epidemiol Paul.* 2005;2:1-5.
21. Scholtz T, Garcia HH, Kuchta R, Wicht B. Update on the human broad tapeworm (Genus *Diphyllbothrium*), including clinical relevance. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22:146-60.
22. Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo. Informações básicas sobre a Difilobotríase: Perguntas e Respostas. São Paulo; 2008 [cited 2011 Out 30]. Available from: <ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc\_tec/hidrica/doc/InfBasica09\_Diphy.pdf>.
23. Rausch RL, Adams AM. Natural transfer of helminths of marine origin to freshwater fishes with observation on the development of *Diphyllbothrium alascense*. *J Parasitol.* 2000;86:319-27.
24. Ministério da Saúde. Alerta e recomendações referentes a casos de Difilobotríase no município de São Paulo. Brasília; 2009 [cited 2011 Out 30]. Available from: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar\_texto.cfm?idtxt=21312>.
25. Emmel VE, Inamine E, Secchi C, Brodt TCZ, Amaro MCO, Cantarelli VV, et al. *Diphyllbothrium latum*: relato de caso no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2006;39: 82-4.
26. Dick TA, Nelson PA, Choudhury A. Diphyllbothriasis: update on human cases, foci, patterns and sources of human infections and future considerations. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2001;32:59-76.

27. Shen C, Kim J, Lee J, Bae YM, Choi M, Oh J, et al. Collection of *Clonorchis sinensis* adult worms from infected humans after praziquantel treatment. *Korean J Parasitol.* 2007;45:149-52.
28. Zhou P, Chen N, Zhang EL, Lin RQ, Zhu XQ. Food-borne parasitic zoonoses in China: perspective for control. *Trends Parasitol.* 2008;24:190-6.
29. Lun ZR, Gasser RB, Lai DH, Li AX, Zhu XQ, Yu XB, et al. Clonorchiasis: a key foodborne zoonosis in China. 2005 [cited 2011 Out 30]. Available from: <<http://infection.thelancet.com>>.
30. Leite OHM, Higaki Y, Serpentine SLP, Carvalho AS, Amato Neto V, Torres DMA, et al. Infecção por *Clonorchis sinensis* em imigrantes asiáticos no Brasil: tratamento com praziquantel. *Rev Inst Med Trop.* 1989;31:416-22.
31. Fried B, Graczyk TK, Tamang L. Food-borne intestinal trematodiasis in humans. *Parasitol Res.* 2004;93:159-70.
32. Chieffi PP, Gorla MC, Torres DM, Dias RM, Mangini AC, Monteiro AV, et al. Human infection by *Phagicola* sp. (Trematoda, Heterophyidae) in the municipality of Registro, São Paulo State, Brazil. *J Trop Med Hyg.* 1992;95:346-8.
33. Chieffi PP, Leite OH, Dias RM, Torres DM, Mangini AC. Human parasitism by *Phagicola* sp (Trematoda, Heterophyidae) in Cananéia, São Paulo state, Brazil. *Rev Inst Med Trop.* 1990;32:285-8.
34. Oliveira AS, Blazquez FJH, Antunes AS, Maia AAM. Metacercárias de *Ascocotyle* (*Phagicola*) *longa* Ransom, 1920 (Digenea: Heterophyidae), em *Mugil platanus*, no estuário de Cananéia, SP, Brasil. *Cienc Rural.* 2007;37:1056-9.
35. Chai JY, Lee SH. Food-borne intestinal trematode infections in the Republic of Korea. *Parasitol Int.* 2002;51:129-54.
36. Chai JY, Hong ST, Lee SH, Lee GC, Min YI. A case of echinostomiasis with ulcerative lesions in the duodenum. *Korean J Parasitol.* 1994;32:201-4.
37. Food and Drug Administration. Bad Bug Book: Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook *Anisakis simplex* and related worms. Silver Spring; 2009 [cited 2011 Out 30]. Available from: <<http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/ucm070768.htm>>.
38. Abollo E, Gestal C, Pascual S. *Anisakis* infestation in marine fish and cephalopods from Galician waters: an updated perspective. *Parasitol Res.* 2001;87:492-9.
39. Eduardo MBP, Sampaio JLM, Susuki E, César MLVS, Gonçalves EMN, Castilho VLP, et al. Investigação epidemiológica do surto de difilobotríase, São Paulo, maio de 2005. *Bol Epidemiol Paul.* 2005;2:1-12.

**Recebido em: 29/11/11**

**Aceito em: 14/02/12**

## ASPECTOS DE INFARTOS HEMORRÁGICOS EM CÃES NA TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA E RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

Viviam Rocco Babicsak<sup>1</sup>  
Vânia Maria de Vasconcelos Machado<sup>2</sup>  
Débora Rodrigues dos Santos<sup>3</sup>  
Karen Maciel Zardo<sup>3</sup>  
Lídice Araújo Campos<sup>4</sup>  
Luiz Carlos Vulcano<sup>5</sup>

### RESUMO

Com o passar dos anos, a Medicina Veterinária obteve grandes avanços tecnológicos, possibilitando, dessa forma, o auxílio no diagnóstico de muitas doenças que resultou no aumento da expectativa de vida dos animais. Em consequência a essa nova situação, houve um aumento do número de atendimento clínico de animais idosos. Assim, enfermidades consideradas incomuns no passado, começaram a ser melhor identificadas, como é o caso de acidentes cerebrovasculares. Ultimamente, a tomografia computadorizada e a ressonância magnética, têm sido utilizadas como instrumentos de auxílio no diagnóstico de diversas afecções, possibilitando a identificação e avaliação de lesões do tecido nervoso central. Fornecem informações a respeito do tamanho, forma e localização da lesão, além de identificar a magnitude da compressão tecidual e seus efeitos secundários. Esta revisão tem como objetivo apresentar os principais aspectos dos infartos hemorrágicos observados nos exames de tomografia computadorizada e ressonância magnética de cães.

**Palavras chave:** tomografia computadorizada, ressonância magnética, infarto hemorrágico, cães.

### COMPUTED TOMOGRAPHY AND MAGNETIC RESONANCE IMAGING ASPECTS OF HEMORRHAGIC STROKES IN DOGS

### ABSTRACT

Over the years, veterinary medicine has made great technological advances, allowing, thus, aid in the diagnosis of many diseases that resulted in increased animals life expectancy. As a result of this new situation, there was an increase of older animals clinical care. Thus, illnesses considered unusual in the past, began to be better identified, as is the case of strokes. Recently, computed tomography and magnetic resonance imaging, have been used as aid tools in the diagnosis of many diseases, enabling the identification and evaluation of the central nervous tissue lesions. Information is provided regarding the size, shape and location

---

<sup>1</sup> Programa de pós-graduação em Diagnóstico por imagem, Depto de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP/ Botucatu, 18618-970, São Paulo, Brasil. E-mail: viviam.babicsak@gmail.com. Autor para correspondência.

<sup>2</sup> Diagnóstico por imagem, Depto de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP/ Botucatu, 18618-970, São Paulo, Brasil. Docente do setor de Diagnóstico por imagem - FMVZ - UNESP/Botucatu, SP, Brasil

<sup>3</sup> Programa de pós-graduação em Diagnóstico por imagem, Depto de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP/ Botucatu, 18618-970, São Paulo, Brasil

<sup>4</sup> Médica veterinária

<sup>5</sup> Diagnóstico por imagem, Depto de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP/ Botucatu, 18618-970, São Paulo, Brasil. Docente do setor de Diagnóstico por imagem - FMVZ - UNESP/Botucatu, SP, Brasil

of the lesion, and the magnitude of tissue compression and its side effects. This review aims to present the main aspects of hemorrhagic strokes in computed tomography and magnetic resonance imaging in dogs.

**Keywords:** computed tomography, magnetic resonance, hemorrhagic stroke, dogs.

## CARACTERÍSTICAS DE LOS INFARTOS HEMORRÁGICOS EN PERROS EVALUADOS CON TOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA Y RESONANCIA MAGNÉTICA

### RESUMEN

A través de los años, la medicina veterinaria ha realizado grandes avances tecnológicos, permitiendo con ello el diagnóstico de muchas enfermedades y así, el aumento en la esperanza de vida de los animales. Con lo anterior, se ha registrado un incremento en la demanda de atención clínica para los animales geriatras. Así, enfermedades consideradas poco comunes en el pasado, como los accidentes cerebrovasculares, empezaron a ser mejor identificadas. Recientemente, la tomografía computarizada y la resonancia magnética, han sido utilizadas como herramientas auxiliares en el diagnóstico de muchas enfermedades, lo que permite la identificación y evaluación de lesiones en el tejido nervioso central. Estas técnicas, proporcionan información sobre tamaño, forma y localización de la lesión, y permiten identificar la magnitud de la compresión de los tejidos así como los efectos secundarios de dicha compresión. Esta revisión tiene como objetivo presentar las principales características de los infartos hemorrágicos en perros evaluados mediante las técnicas de tomografía computarizada y resonancia magnética.

**Palabras clave:** tomografía computarizada, resonancia magnética, infarto hemorrágico, perros.

### INTRODUÇÃO

A Medicina Veterinária obteve grandes avanços tecnológicos nos últimos anos, possibilitando, dessa forma, o diagnóstico de muitas doenças que resultou no aumento da expectativa de vida dos animais. Em consequência a essa nova situação, houve um aumento do número de atendimento clínico de animais idosos. Assim, enfermidades consideradas incomuns no passado, começam a ser melhor identificadas, como é o caso de acidentes cerebrovasculares (AVC), que são desordens agudas cerebrais resultantes de uma isquemia ou de uma hemorragia espontânea intracerebral. Considerados por muito tempo como incomuns, esses eventos começaram a ser reconhecidos com o avanço da neuroimagem (1). A incidência das desordens cerebrovasculares em cães não é conhecida, no entanto, acredita-se que estas ocorram em uma frequência inferior a do homem (2, 3).

Esta revisão tem como objetivo apresentar os principais aspectos dos infartos hemorrágicos observados nos exames de tomografia computadorizada e ressonância magnética de cães.

### REVISÃO DE LITERATURA

A hemorragia intracraniana é um distúrbio causado pelo extravasamento de sangue para o interior do parênquima encefálico, ou suas adjacências e pode resultar em rápida disfunção

cerebral, geralmente por alteração no volume cerebral, denominado efeito de massa. Pode ser classificada como epidural, subdural, subaracnóide, intraparenquimal (primária ou secundária) ou intraventricular. Em cães, o local mais comum de ocorrência de hemorragia é intraparenquimal. Quando o sangramento é suficientemente severo para formar um volume adicional excessivo dentro do sistema nervoso central, os resultados podem ser fatais (4).

O hematoma, formado em virtude da hemorragia intracraniana, causa uma alteração da relação volume/pressão, podendo levar a um aumento da pressão intracraniana (5).

A presença do hematoma leva a edema e a danos neuronais do parênquima cerebral adjacente. Imediatamente após o evento hemorrágico, há um acúmulo de fluido na região adjacente ao hematoma, resultante da liberação e do acúmulo de proteínas osmoticamente ativas do soro sanguíneo, presentes no coágulo (4). Além disso, o referido edema pode ser resultante do extravasamento de plasma de capilares sanguíneos presentes dentro da lesão, ou na área adjacente em direção ao espaço extracelular cerebral, ou pode ser decorrente de necrose isquêmica compressiva do tecido nervoso adjacente (6).

Acreditava-se que a isquemia ocorria como resultado da compressão mecânica do tecido cerebral adjacente pelo hematoma. Entretanto, estudos recentes em animais e humanos não o confirmaram. Acredita-se que o sangue e os produtos do plasma mediam a maioria dos processos secundários que são iniciados após a hemorragia intracerebral. A morte neuronal na região ao redor do hematoma é predominantemente necrótica, com evidências recentes sugerindo a presença de apoptose, ou seja, morte celular programada (4).

As causas de hemorragias intracerebrais incluem hipertensão, que pode ser secundária a doença renal e hiperadrenocorticismismo (4); mal formação vascular; doença do colágeno vascular; coagulopatias e terapias anticoagulantes; angiopatia amilóide; vasculite; migração parasitária; neoplasia e origem idiopática (6, 7). A hemorragia também pode ocorrer como sequela de infarto (6).

O infarto hemorrágico é caracterizado clinicamente por uma disfunção neurológica focal e assimétrica, apresentando um início agudo ou subagudo. Neste tipo de infarto pode haver progressão dos sinais neurológicos, por um breve período de 24 a 72 horas pelo agravamento da hemorragia (4).

Os sinais clínicos podem se resolver em um período de dias a semanas dependendo da severidade e da localização da lesão (6, 8).

Os sintomas neurológicos decorrentes do infarto hemorrágico dependem da localização do dano vascular (telencéfalo, tálamo, mesencéfalo, tronco encefálico e cerebelo). Geralmente, os sinais clínicos mais apresentados nos animais são déficits neurológicos focais, ataxia, paresia ou paralisia, convulsões, andar em círculos, alterações comportamentais, depressão, perda de consciência e/ou morte (6, 8). Sinais sistêmicos podem ocorrer dependendo da presença de uma doença de base (6).

O exame do líquido cerebrospinal pode sugerir a presença de uma hemorragia recente por meio da presença de xantocromia (4), verificada quando o líquido apresenta-se com uma coloração amarelada decorrente da transformação da hemoglobina em pigmentos hematogênicos. O líquido cerebrospinal pode revelar um aumento da proteína e pleocitose neutrofílica ou mononuclear (4, 6). Além disso, na maioria dos casos, o líquido cerebrospinal pode apresentar uma pressão elevada, observada no momento de sua coleta (6).

As modalidades de imagem utilizadas para avaliação de infartos hemorrágicos incluem cintilografia, angiografia, tomografia computadorizada e ressonância magnética (6). A cintilografia cerebral estática não permite a diferenciação entre os tipos de infarto e outras desordens que levam a um distúrbio da barreira hematoencefálica (6).

A angiografia é o procedimento de escolha na determinação da etiologia de lesões hemorrágicas em humanos, entretanto, esta é raramente utilizada na Medicina Veterinária; diferentemente da tomografia computadorizada e da ressonância magnética que são

modalidades de imagem de grande importância no diagnóstico de acidentes cerebrovasculares com utilização crescente no Brasil (6).

A tomografia computadorizada e a ressonância magnética são métodos de imagem não invasivos e sem sobreposições, que permitem a detecção e avaliação de diversas lesões do sistema nervoso central. Estes fornecem informações a respeito da localização e da extensão da lesão, além de demonstrar a magnitude dos efeitos secundários como, o edema e o efeito de massa. A ressonância magnética apresenta uma qualidade superior na avaliação cerebral, entretanto, este exame apresenta custo elevado (9).

A tomografia computadorizada apresenta uma especificidade de aproximadamente 100% de identificação de hemorragia intracraniana (1) e é a técnica de imagem inicial para exclusão de hemorragia em humanos (10).

O hematoma apresenta diferentes aspectos tomográficos de acordo com a sua fase de evolução. Na fase aguda (menos de 1 semana de evolução), a hemorragia intracerebral é facilmente reconhecida devido à grande habilidade do sangue em atenuar a radiação. Isto ocorre devido à globina, a fração proteica da hemoglobina que faz com que a imagem tomográfica da hemorragia seja hiperdensa (mais atenuante) em relação ao tecido cerebral normal (2, 6). Além disso, a fibrina é outro fator que colabora com o aumento da densidade tomográfica (2). Esta característica tende a apresentar um aumento da sua atenuação nas primeiras 72 horas (4).

A área hemorrágica, na fase aguda, se apresenta como uma imagem hiperdensa e bem definida (2, 6), apresentando correlação linear entre a atenuação tomográfica e o hematócrito (11).

A densidade da área hemorrágica nesta fase pode apresentar uma variação entre 55 a 95 HU (6) e entre 60 a 80 HU (2). A unidade Hounsfield (HU) representa o valor da densidade do voxel de cada tecido baseada na mensuração do coeficiente de atenuação relativo à água (8).

O edema é visibilizado tomograficamente como uma área hipodensa (menos atenuante em relação ao tecido cerebral normal) nas adjacências da lesão (2, 6) e seu valor correspondente à unidade Hounsfield pode variar entre 10 a 20 (9).

Após a primeira semana de duração (fase subaguda), há uma diminuição da densidade tomográfica do hematoma, apresentando um valor de unidade Hounsfield variando entre 40 a 60 (6).

Durante as semanas após o evento agudo, a atenuação do hematoma diminui em uma média de 0,7 a 1,5 HU por dia, devido à reação química que leva a quebra das moléculas de globina (2). Com o tempo, geralmente um mês após o evento hemorrágico, a hemorragia se torna isodensa ao tecido cerebral normal e potencialmente imperceptível (2, 4, 6).

Com relação à ressonância magnética, o aspecto da imagem da hemorragia intracraniana é dependente de vários fatores intrínsecos (tempo de evolução, origem, tamanho e localização da hemorragia) e extrínsecos (sequência de pulso e campo de força). Dentro das primeiras 24 horas, assim como qualquer fluido com alta fração de proteína, a hemorragia intracraniana é relativamente isoíntensa na sequência T1-weighted e hiperíntensa nas imagens T2-weighted, devido à presença de oxihemoglobina intracelular. Após as primeiras 24 horas, o acúmulo de deoxihemoglobina dentro dos eritrócitos leva o hematoma a apresentar um aspecto isoíntenso a hipointenso em T1-weighted e hipointenso em T2-weighted. Por volta do quarto dia do evento hemorrágico, a deoxihemoglobina é oxidada em metahemoglobina no eritrócito íntegro, demonstrando hiperintensidade em T1 e hipointensidade em T2, devido aos efeitos paramagnéticos da metahemoglobina. A partir do sétimo dia ocorre a lise do eritrócito e a saída da metahemoglobina para o espaço extracelular, representado pela hiperintensidade em T1 e T2-weighted. Na sequência de T1-weighted a hemorragia apresenta uma hiperintensidade em formato de “anel”. No hematoma com mais de 14 dias de duração há um

infiltrado de macrófagos no tecido cerebral adjacente. Estes são responsáveis pela fagocitose de ferro da metahemoglobina extracelular. A deposição de ferro, assim como de hemossiderina e ferritina na periferia do infarto, encurta a relaxação de T2-weighted. O centro do hematoma eventualmente colapsa ou é preenchido por líquido cerebrospinal, que é hipointenso em T1-weighted e hiperintenso em T2-weighted (figura 1) (8).

A sequência “gradient-echo” (GRE) é a sequência de ressonância magnética mais acurada na determinação da hemorragia. Comparado com outras sequências, o GRE demonstra hipointensidade facilmente reconhecível independentemente do tempo de evolução, da origem e da localização da hemorragia, ou do campo de força. Entretanto, a hipointensidade na sequência GRE não é específica para hemorragia e pode ser observada em calcificações, ar, ferro, corpos estranhos e melanina. Contudo, calcificações, ar e muitos corpos estranhos são também hipointensos em outras sequências (5).

Tanto na tomografia computadorizada quanto na ressonância magnética, a intensificação de contraste pode ocorrer quando há um dano suficiente na barreira hematoencefálica, permitindo o extravasamento de meio de contraste. A captação de contraste pode ocorrer em menos de 24 horas da hemorragia, entretanto, esta não se torna máxima até o sétimo dia (8). A intensificação de contraste não é verificada na fase aguda da hemorragia devido à diminuição da perfusão sanguínea (4, 6, 12). Essa característica pode ser evidenciada a partir do sexto dia e se estender até a sexta semana (4, 6). Por volta de uma semana após o evento hemorrágico, o efeito em “anel”, visibilizado como uma margem intensificada na periferia da lesão, pode ser observado em decorrência da neovascularização na periferia do hematoma (2,6) e de distúrbios na barreira hematoencefálica na cápsula vascularizada (2).

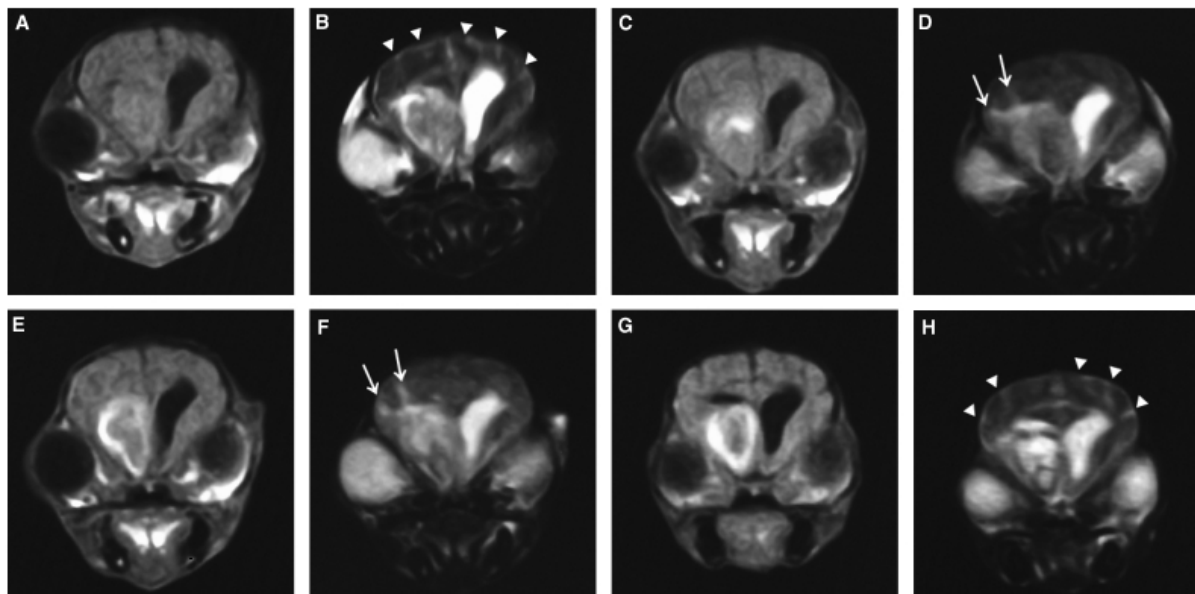


Figura 1. Imagens transversais de ressonância magnética de uma hemorragia cerebral em um cão. Há uma grande massa no lobo frontal direito. A massa se apresenta isointensa na sequência T1-weighted (A) e discretamente hiperintensa em T2-weighted (B), uma hora após a injúria. A intensidade do sinal aumenta gradualmente na periferia da massa nas imagens de T1-weighted (C: dia 3, E: dia 5, G: dia 14). As imagens de T2-weighted (D: dia 3, F: dia 5) demonstram uma área hipointensa no centro da massa; no dia 14 (H), a massa é hiperintensa na região central e hipointensa na porção periférica. O edema (setas pequenas) apresenta um crescimento por volta do dia 2 e diminuição no dia 14 nas imagens de T2. Os giros e os sulcos cerebrais (setas) são indistintos do dia 2 a 6, mas visível novamente por volta do dia 14. Fonte: Tamura et al. (13).

Na fase crônica, a intensificação de contraste apresenta um padrão variável (2, 13).

O efeito de massa secundário ao hematoma, verificado como um deslocamento da falx cerebral e/ou assimetria ventricular, pode persistir por até 17 dias após pequenos hematomas e até mais tarde em grandes hemorragias (3). De acordo com outros autores, o efeito de massa em hematomas permanece por até 28 dias (11).

Avaliando-se o desvio da falx cerebral em pacientes humanos com hemorragia intracerebral, foi observado que todos os casos de progressão inicial estavam associados ao aumento do hematoma, e os casos com progressão tardia do efeito de “massa” foram relacionados com o desenvolvimento de edema. Esta última progressão está mais propensa a ocorrer em casos de hematomas iniciais de grandes dimensões (14).

O efeito de massa persiste por um período de tempo maior em casos de hemorragia cerebral em comparação com o infarto isquêmico (3). O edema pode aumentar em dimensões até 4 a 5 dias em casos de hemorragias intracranianas (6). Geralmente, o edema persiste por 5 dias, entretanto, em algumas instâncias, este pode perdurar por 2 semanas (2).

No exame de ressonância magnética sequencial de um cão com hematoma intracraniano, o edema foi considerado moderado na fase hiperaguda da hemorragia (aproximadamente 1 hora), se tornando severo há aproximadamente 24 horas após o evento hemorrágico (fase aguda) e permanecendo desta forma até o décimo quarto dia (fase crônica) (13).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A tomografia computadorizada e a ressonância magnética são métodos de imagem que permitem a detecção e a avaliação de diversas lesões do sistema nervoso central. Estes exames não invasivos fornecem informações a respeito da localização, extensão e magnitude dos efeitos secundários das alterações tais como, o edema e o efeito de massa. Dessa forma, as imagens obtidas na tomografia computadorizada e na ressonância magnética auxiliam no diagnóstico de infartos hemorrágicos, de grande importância para o prognóstico e tratamento de animais.

## REFERÊNCIAS

1. Berg JM, Joseph RJ. Cerebellar infarcts in two dogs diagnosed with magnetic resonance imaging. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2003;39:203-7.
2. Dennler M, Lange EM, Schmied O, Kaser-Hotz B. Imaging diagnosis – Metastatic hemangiosarcoma causing cerebral hemorrhage in a dog. *Vet Radiol Ultrasound.* 2007;48:138-40.
3. Dolinskas CA, Bilaniuk LT, Zimmerman RA, Kuhl DA. Computed tomography of intracerebral hematomas, I: transmission, CT observations on hematoma resolution. *Am J Roentgenol.* 1977;129:681-8.
4. Platt SR. Cerebrovascular disease in dogs. In: *Proceedings of the Annual Congress of the World Small Animal Veterinary Association; 2006, Praga. Praga: WSAVA; 2006. p. 542-7.*
5. Garosi LS. Cerebrovascular disease in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2010;40:65-79.



6. Tidwell AS, Mahony OM, Moore RP, Fitzmaurice SN. Computed tomography of an acute hemorrhagic cerebral infarct in a dog. *Vet Radiol Ultrasound*. 1994;35:290-6.
7. Hecht S, Adams WH. MRI of brain disease in veterinary patients part 2: acquired brain disorders. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2010;40:39-63.
8. Thomas WB, Sorjonen DC, Scheuler RO, Kornegay JN. Magnetic resonance imaging of brain infarction in seven dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 1999;37:345-50.
9. Tucker RL, Gavin PR. Brain imaging. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1996; 26:735-58.
10. Wessmann A, Chandler K, Garosi L. Ischaemic and haemorrhagic stroke in the dog. *Vet J*. 2009;180:290-303.
11. Mutlu N, Berry RG, Alpers BJ. Massive cerebral hemorrhage: clinical and pathologic correlations. *Arch Neurol*. 1963;8:644-61.
12. Garosi LS. Advance diagnostic imaging in cerebrovascular accident. In: *International Congress of the Italian Association of Companion Animal Veterinarians; 2009, Rimini. Rimini: SCIVAC; 2009. p.28-30.*
13. Tamura S, Tamura Y, Tsuka T, Kazuyuki U. Sequential magnetic resonance imaging of an intracranial hematoma in a dog. *Vet Radiol Ultrasound*. 2006;47:142-4.
14. Zazulia AR, Diringner MN, Derdeyn CP, Powers WJ. Progression of mass effect after intracerebral hemorrhage. *Stroke*. 1999;30:1167-73.

**Recebido em: 12/08/10**

**Aceito em: 08/03/12**

**DERMATOFITOSE NEONATAL CANINA POR *Microsporium gypseum***

Isabel Martins Madrid<sup>1\*</sup>  
Angelita dos Reis Gomes<sup>2</sup>  
Antonella Souza Mattei<sup>3</sup>  
Rosema Santin<sup>4</sup>  
Marlete Brum Cleff<sup>5</sup>  
Renata Osório Faria<sup>6</sup>  
Mário Carlos Araújo Meireles<sup>7</sup>

**RESUMO**

A dermatofitose é a micose cutânea de maior ocorrência na clínica de pequenos animais e, que pelo seu caráter zoonótico, é considerada uma importante doença em saúde pública. O presente trabalho teve como objetivo descrever um surto de dermatofitose neonatal canina causada por *Microsporium gypseum*. Sete filhotes com 20 dias de idade foram encaminhados para exame clínico onde cinco apresentavam áreas de alopecia, eritema e descamação no membro posterior e/ou cauda. A dermatofitose foi confirmada pelo isolamento de *M. gypseum*, sendo indicada terapia antifúngica tópica para todos os animais. Dois animais tiveram cura clínica espontânea das lesões e os outros foram tratados com cetoconazol ou miconazol por 30 dias, sendo obtida a negatividade da cultura fúngica ao final do tratamento.

**Palavras-chave:** Dermatofitose, filhotes, antifúngico.

**CANINE NEONATAL DERMATOPHYTOSIS BY *Microsporium gypseum*****ABSTRACT**

Dermatophytosis is a cutaneous mycosis of great occurrence in the small animal clinics and, that due to zoonotic character is considered an important disease in public health. This paper has the objective to report a outbreak of canine neonatal dermatophytosis caused by *Microsporium gypseum*. Seven puppies with 20 days old-age were submitted to clinical examination, where five showed regions of alopecia, erythema and scaling in the hindlimb and/or tail. Dermatophytosis was confirmed by isolation of *M. gypseum* and topical antifungal therapy was prescribed to all animals. Two animals had spontaneous clinical cure of the lesions and the others were treated for 30 days with ketoconazole or miconazole. Fungal cultures were negative after the end of the treatment.

**Keywords:** Dermatophytosis, puppies, antifungal.

<sup>1</sup> DSc. Sanidade Animal, Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Micologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Rio Grande do Sul \*Autor para correspondência: I.M. Madrid, Rua Gonçalves Chaves 3435, 96015-560, Centro, Pelotas, RS. Tel/Fax(53)9911.2744, (53)3275.7644; email: imadrid\_rs@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Programa de Pós-graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

<sup>3</sup> MSc., Programa de Pós-graduação em Ciências Pneumológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

<sup>4</sup> MSc., Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

<sup>5</sup> Profa. Dra., Departamento de Clínicas Veterinárias, Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

<sup>6</sup> DSc. Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

<sup>7</sup> Prof. Dr., Departamento de Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

## DERMATOFITOSIS NEONATAL CANINA POR *Microsporium gypseum*

### RESUMEN

La dermatofitosis es la micosis cutánea de mayor ocurrencia en la clínica de pequeños animales y, que por su carácter zoonótico es considerada una importante enfermedad de salud pública. El presente trabajo tuvo como objetivo describir un surto de dermatofitosis neonatal canina causada por *Microsporium gypseum*. Siete perros con 20 días de edad fueron sometidos al examen clínico, donde cinco presentaron áreas de alopecia, eritema y descamación en el miembro posterior y/o cauda. La dermatofitosis fue confirmada a través del aislamiento de *M. gypseum*, siendo indicada terapia antifúngica tópica para todos los animales. Dos de los animales presentaron cura clínica espontánea de las lesiones, los otros fueron tratados por 30 días con cetoconazol o miconazol, obteniendo resultado negativo en el cultivo al final del tratamiento.

**Palabras-clave:** Dermatofitosis, perros, antifúngico.

### INTRODUÇÃO

A dermatofitose é a dermatopatia fúngica de maior ocorrência na clínica de pequenos animais, sendo causada por um grupo de fungos queratinofílicos. Estes fungos taxonomicamente relacionados pertencem aos gêneros *Microsporium*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*, sendo as espécies *Microsporium canis*, *M. gypseum* e *Trichophyton mentagrophytes* as mais comumente relacionadas à doença em animais de companhia (1).

A micose pode ser adquirida de diferentes formas, uma vez que os dermatófitos têm como habitat o solo, os animais e os humanos. Dessa forma, estes fungos podem ser classificados em geofílicos, zoofílicos e antropofílicos, respectivamente. A transmissão ocorre pelo contato direto ou indireto com artroconídios fúngicos, os quais podem permanecer viáveis no ambiente por até 18 meses. Os dermatófitos ao penetrarem na pele, pêlos e unhas causam danos mecânicos que resultam em descamação da superfície epitelial e quebra do pêlo. Por outro lado, seus metabólitos se difundem pelas células da epiderme causando reação inflamatória resultando no desenvolvimento de lesões alopecias, eritematosas, circulares e secas, localizadas ou disseminadas no tegumento cutâneo (2,3). Este artigo tem como objetivo descrever um surto de dermatofitose em cães neonatos causado por *Microsporium gypseum*.

### RELATO DO CASO

Foram atendidos sete filhotes da espécie canina, cinco machos e duas fêmeas, sem raça definida e com 20 dias de idade apresentando lesões cutâneas eritematosas, alopecias e pruriginosas, e aumento de volume da região acometida, há aproximadamente dez dias (Figura 1). Dos sete filhotes, cinco apresentavam sinais clínicos sendo dois com lesões localizadas no membro posterior esquerdo e cauda, dois na cauda e um com lesões apenas no membro posterior esquerdo. Segundo o proprietário, a ninhada permanecia em um local com palha e terra no município de Pelotas (Rio Grande do Sul), junto à cadela, a qual não apresentava nenhuma lesão cutânea. Ao exame clínico observou-se temperatura, frequência respiratória e cardíaca dentro dos parâmetros fisiológicos e mucosas róseas. Observou-se infestação por pulgas e prurido generalizado.



Figura 1. Presença de aumento de volume, alopecia e eritema em membro posterior direito de filhote acometido por dermatofitose.

Os animais foram submetidos a um exame parasitológico por raspado cutâneo com auxílio de lâmina de bisturi para a verificação da presença de ácaros causadores de sarna. O material foi encaminhado ao laboratório para exame direto em microscópio óptico. Foi prescrito tratamento tópico para o combate às pulgas com fipronil spray em todos os animais e banhos diários do local lesionado com sabão a base de monossulfiram até a liberação do resultado laboratorial. Prescreveu-se também anti-helmíntico a base de pamoato de pirantel, pamoato de oxantel e praziquantel na dose de 1mL/kg para todos os filhotes. O exame para detecção de sarna resultou negativo, sendo colhidas novas amostras pela técnica do carpete estéril com antisepsia prévia da lesão com álcool 70°. Estas amostras foram encaminhadas para exame micológico como diagnóstico diferencial, sendo cultivadas em ágar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol e cicloheximida, incubadas a 30°C por até dez dias. Após o período de incubação observou-se o crescimento de colônias brancas, inicialmente cotonosas tornando-se pulverulentas e acastanhadas, com reverso pigmentado (Figura 2). Microscopicamente, as colônias eram caracterizadas pela presença de grande quantidade de macroconídios hialinos, elipsóides, equinulados contendo de quatro a seis septos (Figura 3). As características macro e micromorfológicas das colônias foram compatíveis com *Microsporum gypseum* e resultaram no diagnóstico de certeza de dermatofitose.

Com a confirmação da doença, recomendou-se limpeza e desinfecção do local onde os cães estavam abrigados com hipoclorito de sódio 4% e prescreveu-se terapia antifúngica tópica, sendo que os dois filhotes que apresentavam lesões apenas na cauda tiveram regressão espontânea antes do início do tratamento. Do restante dos filhotes, dois foram tratados com miconazol 2% e um com cetoconazol, betametasona e neomicina, sendo recomendada a aplicação diária do produto três vezes ao dia por um período mínimo de 30 dias. Após sete dias de tratamento, os animais apresentaram melhora significativa das lesões, com diminuição do prurido, eritema e descamação. Após dez dias, o filhote tratado com cetoconazol apresentou piora das lesões, sendo colhida nova amostra para exame micológico a qual resultou em positiva para *M. gypseum*. Dessa forma, o tratamento foi alterado para miconazol 2% tópico, sendo prescrito por mais 20 dias. Ao final do tratamento (30 dias), verificou-se o

crescimento de pêlos nos locais lesionados em todos os animais, sendo realizado exame micológico para confirmação da negatividade de isolamento fúngico.

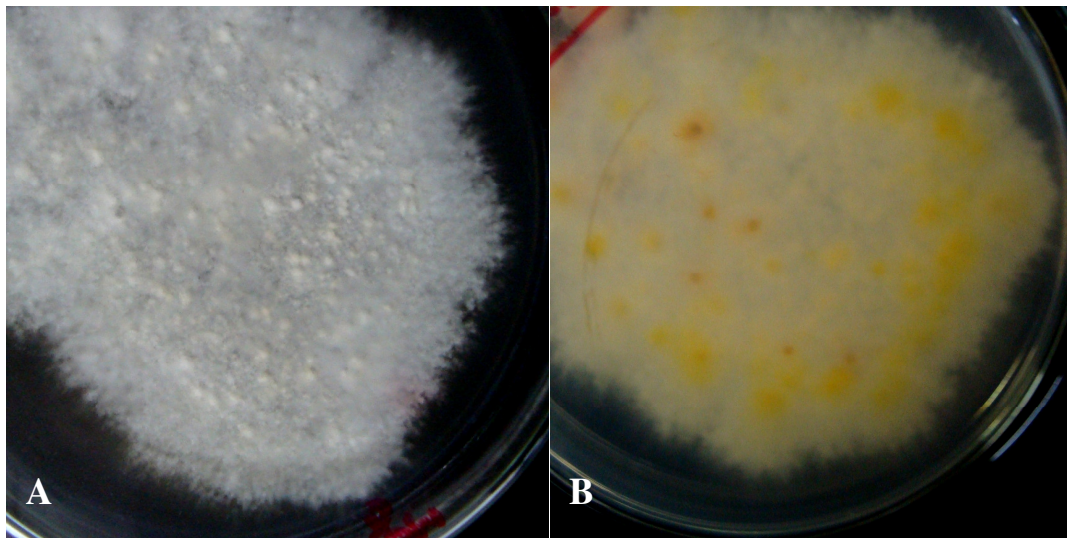


Figura 2. Aspecto macromorfológico do verso (a) e reverso (b) do isolado de *Microsporum gypseum* obtido do caso clínico.

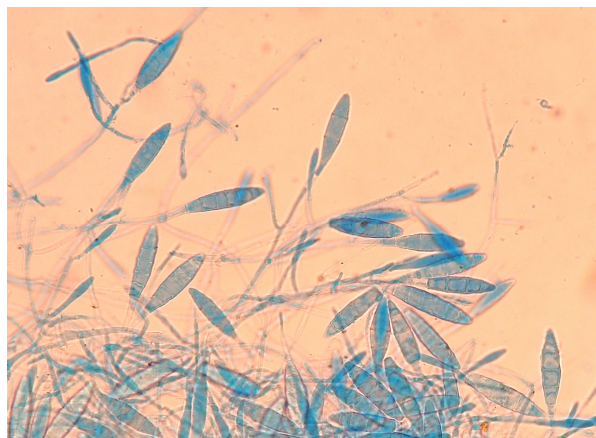


Figura 3. Aspecto micromorfológico do isolado de *Microsporum gypseum* contendo inúmeros macroconídeos hialinos, elipsóides e equinulados.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A dermatofitose é uma micose frequente em cães, sendo a infecção relacionada predominantemente a *Microsporum canis*. Estudos demonstram que esta espécie é responsável pela maioria (70%) dos casos de dermatofitose em cães, enquanto que *M. gypseum* é encontrado em 2 a 8% dos casos (4-8). A infecção é caracterizada por ser auto-limitante em animais imunocompetentes, sendo muitas vezes observada a cura clínica sem a utilização de fármacos antifúngicos (9). No entanto, fatores intrínsecos e extrínsecos podem alterar a microbiota cutânea e predispor ao desenvolvimento da infecção dermatofítica, principalmente em animais jovens e idosos ou naqueles com imunossupressão causada por doenças virais ou pelo uso prolongado de corticoesteróides, quimioterápicos entre outros (1). No presente caso, os filhotes recém-nascidos ficaram expostos ao fungo provavelmente devido ao ambiente onde estavam abrigados, sendo a infecção propiciada também pela

ocorrência concomitante de pulicose e verminose. A característica clínica das lesões foi compatível com a literatura, no entanto, o alto grau de prurido difere dos demais autores, podendo este ser decorrente da infecção por pulgas ou de infecção bacteriana secundária (3). Além disso, segundo Copetti et al. (10), os sinais clínicos da dermatofitose são altamente variados e dependentes da interação fungo-hospedeiro e do grau de inflamação. Dessa forma, estes autores relataram a presença de ácaros, principalmente *Demodex canis*, em 5% das amostras com suspeita de dermatofitose indicando que diagnósticos clínicos de dermatofitose podem ser confundidos com infecções de etiologia parasitária.

Na dermatofitose humana o tratamento de escolha é a base de antifúngicos tópicos pertencentes aos grupos dos azóis ou alilaminas (11). Em veterinária, a escolha de uma terapia antifúngica tópica ou sistêmica é dependente da localização e gravidade das lesões (1). Os fármacos utilizados rotineiramente para o tratamento das dermatofitoses em animais são compostos a base de cetoconazol, griseofulvina e terbinafina (12).

Balda et al. (12) observaram que animais tratados com antifúngico oral podem apresentar positividade no exame micológico por 15 a 60 dias após o início do tratamento. Neste trabalho a positividade foi observada no animal que apresentou piora das lesões dez dias após o início do tratamento tópico, sendo alterado o princípio ativo da terapia antifúngica.

O presente relato alerta para a importância da realização de diagnóstico diferencial a fim de confirmar a etiologia da lesão clínica, uma vez que a utilização de fármacos antimicrobianos e antiparasitários em filhotes deve ser cautelosa.

## REFERÊNCIAS

1. Meinerz ARM, Rosa CS. Dermatofitose. In: Meireles MCA, Nascente PS. Micologia veterinária. Pelotas: Ed. Universitária UFPEL; 2009. p.85-96.
2. Dalh MV. Dermatophytosis and the immune response. J Am Acad Dermatol. 1994; 31:34-41.
3. Maciel AS, Viana JA. Dermatofitose em cães e gatos: uma revisão. Clin Vet. 2005; 57:74-82.
4. Brilhante RSN, Cavalcante CSP, Soares-Junior FA, Cordeiro RA, Sidrim JJC, Rocha MFG. High rate of *Microsporum canis* feline and canine dermatophytoses in Northeast Brazil: epidemiological and diagnostic features. Mycopathologia. 2003; 156:303-30.
5. Cabanes FJ, Abarca ML, Bragulat MR. Dermatophytes isolated from domestic animals in Barcelona, Spain. Mycopathologia. 1997;137:107-13.
6. Coelho AC, Alegria N, Rodrigues J. Isolamento de dermatófitos em animais domésticos em Vila Real, Portugal. Arq Bras Med Vet Zootec. 2008;60:1017-20.
7. Machado MLS, Appelt CE, Ferreiro L. Dermatófitos e leveduras isolados da pele de cães com dermatopatias diversas. Acta Sci Vet. 2004;32:225-32.
8. Mancianti F, Nardoni S, Cecchi S, Corazza M, Taccini F. Dermatophytes isolated from symptomatic dogs and cats in Tuscany, Italy during a 15-year-period. Mycopathologia. 2002;156:13-8.

9. Chermette R, Ferreiro L, Guillot J. Dermatophytoses in animals. *Mycopathologia*. 2008;166:385-405.
10. Copetti MV, Santurio JM, Cavalheiro AS, Boeck AA, Argenta JS, Aguiar LC, et al. Dermatophytes isolated from dogs and cats suspected of dermatophytosis in Southern Brazil. *Acta Sci Vet*. 2006;34:119-24.
11. Gupta AK, Cooper EA. Update in antifungal therapy of dermatophytosis. *Mycopathologia*. 2008;166:353-67.
12. Balda AC, Otsuka M, Larsson CE. Ensaio clínico da griseofulvina e da terbinafina na terapia das dermatofitoses em cães e gatos. *Cienc Rural*. 2007;37:750-4.

**Recebido em: 12/04/11**

**Aceito em: 13/12/11**

## TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL INTRA-OCULAR EM CÃO: RELATO DE CASO

Andréia Vitor Couto do Amaral<sup>1\*</sup>  
Rafael Farias de Oliveira<sup>2</sup>  
Ana Paula de Souza Martins da Silva<sup>3</sup>  
Mayara Leão Baylão<sup>3</sup>  
Laura da Costa Luz<sup>3</sup>  
Fabiano José Ferreira de Sant'Ana<sup>1</sup>

### RESUMO

Um cão sem raça definida, macho, quatro anos de idade apresentou massa avermelhada e friável na órbita direita. A lesão foi submetida ao exame citopatológico por *imprint* e notou-se uma população homogênea de células mononucleares com numerosos vacúolos citoplasmáticos, típicos de TVT. Diante do resultado, realizou-se a exenteração do olho direito. Macroscopicamente, após corte longitudinal do globo ocular afetado, visualizaram-se duas massas brancas, macias, regulares, que mediam 1,0 cm e 0,8 cm de diâmetro, localizadas na esclera e na córnea. As massas invadiam a câmara anterior do olho direito. O diagnóstico de TVT também foi confirmado no exame histopatológico. Não foi possível definir a via de acesso exata (metástase ou implantação) das células neoplásicas ao globo ocular. Entretanto, nestes casos, a implantação é a via mais freqüente, levando-se a acreditar em sua ocorrência.

**Palavras-chave:** TVT, olho, doenças de cães

### INTRAOCULAR TRANSMISSIBLE VENEREAL TUMOR IN A DOG – CASE REPORT

#### ABSTRACT

A 4-year-old mixed-breed dog, male, presented a reddish and friable mass in the right orbit. The lesion was subjected to examination by imprint cytology and it was observed a homogeneous population of mononuclear cells with numerous cytoplasmic vacuoles, typical of TVT. After the result, was held exenteration of the right eye. Macroscopically, after longitudinal section the affected eye was displayed two white masses, soft, regular, with 1.0 cm and 0.8 cm in diameter, located in the sclera and cornea. The mass invaded the anterior chamber of the right eye. The diagnosis of TVT was also confirmed on histopathology. It was not possible to define the exact access road (metastasis or implantation) to the neoplasm in the orbit. However, in these cases, the implantation is more frequent, leading them to believe in its occurrence.

**Keywords:** TVT, eye, diseases of dogs

---

<sup>1</sup> Professor (a) Adjunto (a), Curso de Medicina Veterinária, UFG, Campus Jataí, Jataí, GO, Brasil.

\* Andréia Vitor Couto do Amaral. Campus Jataí, Unidade Jatobá, Curso de Medicina Veterinária. Rodovia BR 364, Km 192, Setor Parque Industrial, n. 3800, Caixa Postal 03, CEP.: 75801-615, Jataí, Goiás. Fone: (62) 3606-8281. E-mail: andreiavcvet@hotmail.com

<sup>2</sup> Professor Substituto, Curso de Medicina Veterinária, UFG, Campus Jataí, Jataí, GO, Brasil.

<sup>3</sup> Aluno da graduação do Curso de Medicina Veterinária, UFG, Campus Jataí, Jataí, GO, Brasil.



## TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL INTRAOCULAR EN PERRO – REPORTE DE CASO

### RESUMEN

Un perro de raza mixta, masculina, cuatro años, presentó en la cuenca del ojo derecho y una masa friable de color rojizo. La lesión fue sometida al examen de citología de impresión, y se observó una población homogénea de células mononucleares con numerosas vacuolas citoplasmáticas, típico de TVT. Sobre el resultado, se realizó exenteración del ojo derecho. Macroscópicamente, después del corte en el ojo afectado, se observó dos masas de color blanco, suave, regular, que mide 1,0 cm y 0,8 cm de diámetro, situado en la esclerótica y córnea. La masa invadió la cámara anterior del ojo derecho. El diagnóstico de TVT se pudo confirmar en el estudio histopatológico. No se pudo establecer la ruta exacta de acceso (o metástasis o implantación) de las células cancerosas en el globo ocular. Sin embargo, en estos casos, el despliegue es el problema más frecuente que lleva a creer como más probable.

**Palabras-clave:** TVT, ojos, enfermedades de perros

### INTRODUÇÃO

O tumor venéreo transmissível (TVT), também já chamado linfoma venéreo, plasmacitoma venéreo, histiocitoma infeccioso, condiloma canino, sarcoma transmissível e tumor de Sticker, é uma neoplasia de ocorrência comum, transmitida entre cães pela implantação celular por meio do coito, por lambeduras ou por interação entre o animal infectado e o susceptível, ou ainda por transplantes experimentais (1-3). Localiza-se geralmente na genitália externa de ambos os sexos. Entretanto, a implantação em áreas extragenitais, especialmente em mucosas lesionadas e a ocorrência de metástases foram descritas em linfonodos, no baço, na pele, no ânus e espaço perianal, na mucosa oral, na mucosa nasal, no globo ocular dentre outros locais (4-7). As metástases em locais extracutâneos são incomuns, correspondendo a cerca de 1% dos casos de TVT (3). Casos de TVT envolvendo o globo ocular foram relatados, podendo ocorrer por metástase ou por implantação (8-10).

Macroscopicamente, o TVT possui morfologia vegetativa, com várias massas de aspecto irregular e friável, podendo apresentar coloração que vai desde o vermelho escuro ao rosa acinzentado. Pode ainda apresentar lesões ulceradas e hemorragias incessantes (3). Microscopicamente, observam-se células tumorais grandes, poliédricas, redondas ou ovais e de dimensões uniformes. O núcleo é grande e o citoplasma não é bem definido e se cora palidamente (1). No exame citopatológico por aspiração, o TVT pode ser classificado como de aspecto plasmocitóide, quando no mínimo 70% das células neoplásicas apresentam-se ovóides, com menor relação núcleo: citoplasma e núcleo excêntrico; TVT de aspecto linfocitóide, quando no mínimo 70% das células tumorais assemelham-se a linfócitos (arredondadas), células arredondadas, com maior relação núcleo : citoplasma e núcleo redondo e central; ou de aspecto linfoplasmocitóide ou misto, quando ambos os tipos celulares estão presentes (11).

O presente trabalho objetiva descrever um caso incomum de TVT intra-ocular em um cão e discutir a patogenia do comprometimento neoplásico ocular.

## RELATO DO CASO

Foi atendido, no Serviço de Oftalmologia do Ambulatório Veterinário da UFG, Campus Jataí, um cão SRD, macho, de quatro anos de idade, com histórico de aumento progressivo de volume na órbita direita com curso de seis meses. O proprietário relatou que havia sangramento constante na massa ocular e secreção sanguinolenta no prepúcio. O cão tinha acesso à rua. No exame clínico, foi observado aumento de volume orbital direito, friável, sanguinolento, de 2,5 cm de diâmetro e com formato de couve-flor (Figura 1). Foi realizado no olho esquerdo o teste lacrimal de Schirmer, testes de resposta à ameaça, de reflexo fotopupilar direto, de reflexo palpebral e corneal, oftalmoscopia direta e teste da coloração com fluoresceína, não sendo evidenciadas alterações dignas de nota. Ao exame do pênis e prepúcio, foi evidenciado massa de aspecto semelhante à descrita na órbita direita, com 6 cm de diâmetro, em torno da base do pênis. Foi procedido exame físico completo e coletadas amostras para realização de hemograma, urinálise e bioquímica (ALT, AST, GGT, fosfatase alcalina, ureia e creatinina), não sendo encontradas alterações significativas.



Figura 1. Cão, TVT intra-ocular. Observa-se massa avermelhada e friável na órbita ocular direita.

Adicionalmente, foram realizados *imprints* das massas ocular e genital para citopatologia. As lâminas foram coradas com panótico rápido e notou-se população homogênea de células mononucleares com discreta a moderada anisocitose, onde os núcleos eram redondos, hiper cromáticos e excêntricos, de aspecto predominantemente plasmocitóide (Figura 2), podendo-se firmar o diagnóstico de TVT de acordo com Amaral et al. (11) e Meuten (12). Havia numerosos vacúolos citoplasmáticos em muitas células e mitoses típicas ocasionais, conforme o descrito também por Meuten (12). O exame citopatológico por *imprint* corado pelo panótico rápido foi de fácil execução, resultando em um diagnóstico imediato, assim como o reportado por Santos et al. (13) e Amaral et al. (11). Tal diagnóstico propiciou o início da terapia antineoplásica com o sulfato de vincristina, logo no primeiro dia de atendimento ao paciente.

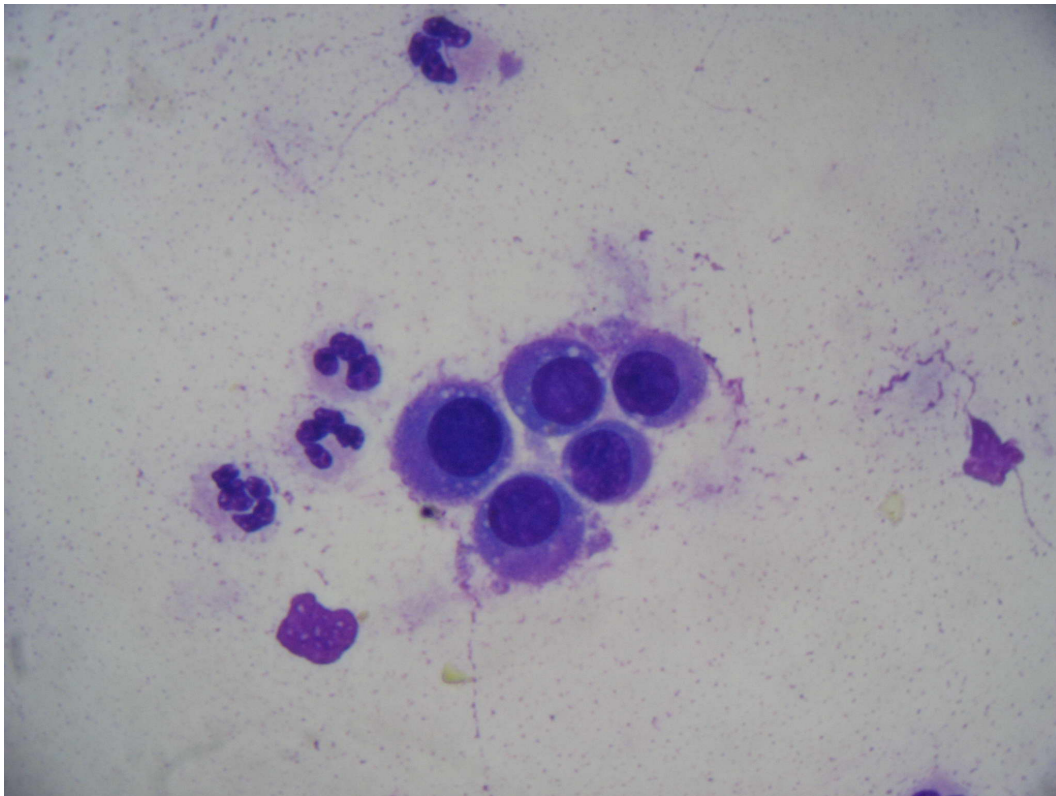


Figura 2. Cão, TVT intra-ocular. Exame citopatológico por *imprint* revela células mononucleares com discreta a moderada anisocitose, núcleos redondos, excêntricos e hipercromáticos com vacúolos brancos citoplasmáticos, caracterizando uma morfologia predominantemente plasmocitóide. Panótico rápido, obj. 40X.

Diante dos resultados, optou-se por exenteração do olho direito. O material proveniente da exenteração foi fixado em formol a 10% para histopatologia. Macroscopicamente, após corte longitudinal do globo ocular afetado, visualizaram-se dois nódulos brancos, macios, regulares, que mediam 0,8 cm e 1,0 cm de diâmetro, localizados na esclera e na córnea (Figura 3). Os nódulos invadiam a câmara anterior. As amostras foram processadas rotineiramente para inclusão em parafina e coradas pelas hematoxilina-eosina (HE). À microscopia, pôde-se identificar na superfície ocular, invadindo a córnea e a câmara anterior, duas áreas bem delimitadas onde havia proliferação, em manto, de células redondas contendo finas septações trabeculares conjuntivas. As células eram levemente pleomórficas e apresentavam citoplasma eosinofílico, núcleo redondo e hipercromático, com nucléolos únicos ou múltiplos e evidentes (Figura 4). O limite entre as células neoplásicas era distinto. Uma a duas mitoses foram observadas por campo de maior aumento. Havia necrose focalmente extensa da córnea, que incluiu o epitélio, estroma, membrana de Descemet e endotélio. Foram também evidenciadas áreas multifocais de calcificação da lente. Na íris, notou-se infiltrado inflamatório focalmente extenso acentuado de linfócitos e plasmócitos.

Os achados histopatológicos estão condizentes com aqueles descritos por Meuten (12), Santos et al. (13) e Tinucci-Costa (3) para o diagnóstico de TVT.

Foram procedidas sete sessões de quimioterapia com sulfato de vincristina na dose de 0,05 mg/kg de peso corpóreo a intervalos de sete dias, sendo que, uma aplicação foi feita antes e seis foram realizadas após a exenteração do globo ocular. Houve total remissão do TVT genital. De acordo com Gaspar et al. (14), pode ser encontrada uma resistência à quimioterapia com sulfato de vincristina no TVT, principalmente nos tumores plasmocitóides, onde foi verificada uma maior expressão de glicoproteína-p. Entretanto, neste caso, a resposta à quimioterapia foi eficaz.



Figura 3. Cão, TVT intra-ocular. Corte sagital do globo ocular afetado evidenciando dois nódulos brancos bem delimitados na córnea e esclera.

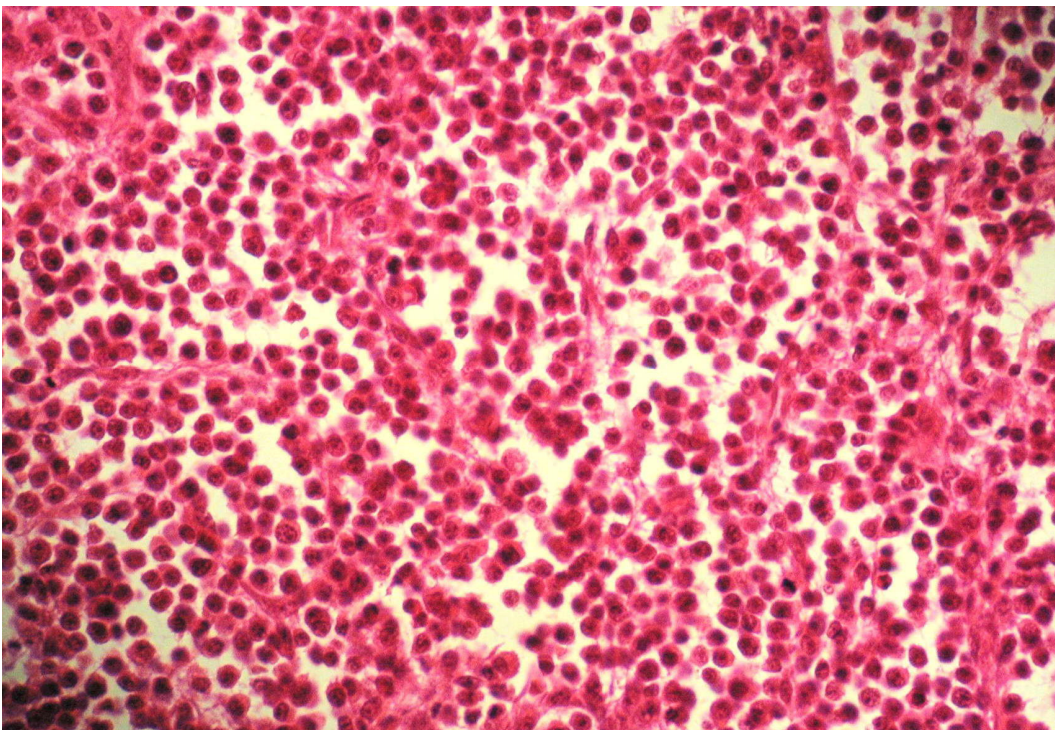


Figura 4. Cão, TVT intra-ocular. Nota-se população homogênea de células mononucleares, levemente pleomórficas, com citoplasma levemente eosinofílico, núcleo redondo e hiper cromático e nucléolos únicos ou múltiplos e evidentes. HE, obj. 40X.

Sobre o TVT de localização intra-ocular, há três relatos do neoplasma acometendo essa região em cães (8-10). Em apenas um trabalho, foi comprovado que o acometimento ocular do TVT foi por metástase (9). Nos outros dois casos, de forma semelhante aos achados deste relato, observou-se a presença de massas tumorais de apresentação ocular externa e o rompimento da córnea, não sendo possível definir a via de acesso do neoplasma ao globo ocular (implantação ou metástase) (8,10).

No presente caso, é mais provável que a neoplasia tenha se iniciado por implante na superfície ocular, pois as massas apresentavam crescimento externo ocular e grande comprometimento da esclera e córnea, o que levou à sua ruptura, sem apresentação de células neoplásicas na íris, corpo ciliar ou coróide, que compõem a malha vascular ocular. Caso o TVT intra-ocular fosse oriundo de metástase, poder-se-ia corroborar, como mais provável, o acometimento das estruturas intra-oculares que compõem a malha vascular com tecido linfóide (íris e/ou corpo ciliar) (15). Entretanto, ainda existem outras estruturas oftálmicas com tecido linfóide e extensa malha vascular e que são de localização externa, como as conjuntivas oculares e a terceira pálpebra. Assim, mesmo que o início do crescimento neoplásico do TVT por implantação seja atribuído a estruturas da superfície ocular, não se pode descartar a possibilidade de metástase em estruturas oculares externas.

Durante a avaliação macroscópica ou microscópica, não foi possível identificar a estrutura da terceira pálpebra, o que poderia indicar total destruição pelo crescimento neoplásico. Metástases de neoplasias mamárias e de hemangiossarcoma já foram relatadas acometendo a terceira pálpebra e as pálpebras, assim como de TVT (5, 16). A córnea também é alvo de metástases tumorais. O epitélio corneal possui constante reposição celular por migração celular a partir na membrana basal e por deslizamento de células epiteliais a partir do limbo, que está em contato com a conjuntiva escleral, em direção ao centro da córnea (16). Tal processo de reparação poderia levar consigo células neoplásicas, não só provenientes de metástases, como também provenientes de implantes de TVT conjuntivais.

Apesar de o tratamento cirúrgico não ser a modalidade terapêutica mais indicada em casos de TVT, optou-se pela exenteração ocular por dois motivos. Em primeiro lugar, devido ao sangramento constante da neoplasia ocular, que não cessou decorridos sete dias da primeira aplicação do sulfato de vincristina e, em segundo, em função da remissão neoplásica não excluir uma posterior enucleação, devido à intensa destruição da estrutura ocular.

## REFERÊNCIAS

1. Santos FGA, Vasconcelos AC, Moro L, Nunes JES, Paixão TA. Apoptose no tumor venéreo transmissível canino: características morfológicas e evidenciação bioquímica. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2001;53:557-62.
2. Dabus DMM, Tentrin TC, Bocardo M, Lima GS, Lot RFE, Bariani MH, et al. Estudo epidemiológico do tumor venéreo transmissível baseado nos padrões plasmocitóide e linfocitóide em cães atendidos no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça. *Rev Cient Eletr Med Vet.* 2008;6(11):s/p.
3. Tinucci-Costa M. Tumor venéreo transmissível canino. In: Daleck CR, Nardi AB, Rodaski S. *Oncologia em cães e gatos.* São Paulo: Roca; 2008. p. 539-56.
4. Ginel PJ, Molleda JM, Novales M, Martin E, Margarito JM, Lopez R. Primary transmissible venereal tumor in the nasal cavity of a dog. *Vet Rec.* 1995;136:222-3.

5. Ferreira AJA, Jaggy A, Varejão AP, Ferreira MLP, Correia MJM, Mulas JM, et al. Brain and ocular metastases from a transmissible venereal tumour in a dog. *J Small Anim Pract.* 2000;41:165-8.
6. Sant'ana FJF, Lima TF, Souza FR, Rabelo RE, Romani AF, Kunz TL. Caracterização anatomopatológica do Tumor Venéreo Transmissível em cães atendidos na Escola de Veterinária da UFG/CAJ. In: Anais do 31º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária; 2004, São Luis. São Luis: UFG; 2004.
7. Batista JS, Soares HSS, Pereira RHMA, Petri AA, Sousa DNS, Nunes FCR. Tumor venéreo transmissível canino com localização intra-ocular e metástase no baço. *Acta Vet Bras.* 2007;1:45-8.
8. Boscos CM, Ververidis HN, Tondis DK, Stamou AI, Samartzi FC. Ocular involvement of transmissible venereal tumor in a dog. *Vet Ophthalmol.* 1998;1:167-70.
9. Pereira JL, Silva ABF, Martins ALB, Ferreira AMR, Brooks DF. Immunohistochemical characterization of intraocular metastasis of a canine transmissible venereal tumor. *Vet Ophthalmol.* 2000;3:43-7.
10. Rodrigues GN, Alessi AC, Laus JL. Intraocular transmissible venereal tumor in a dog. *Cienc Rural.* 2001;31:141-3.
11. Amaral AS, Gaspar LFJ, Silva SB, Rocha NS. Diagnóstico citológico do tumor venéreo transmissível na região de Botucatu, Brasil (estudo descritivo: 1994-2003). *Rev Port Cienc Vet.* 2004;99:167-71.
12. Meuten DJ. Tumors in domestic animals. 4ª ed. Iowa: Iowa State Press; 2002.
13. Santos FGA, Vasconcelos AC, Nunes JES, Cassali GD, Paixão TA, Moro L. Tumor venéreo transmissível canino – Aspectos gerais e abordagens moleculares. *Biosci J.* 2005;21:41-53.
14. Gaspar LFJ, Amaral AS, Bassani-Silva S, Rocha NS. Imunorreatividade à glicoproteína-p no tumor venéreo transmissível canino. *Vet Foco.* 2009;6:140-6.
15. Das U, Das AK. Review of canine transmissible venereal sarcoma. *Vet Res Commun.* 2000;24:545-56.
16. Maggs DJ, Miller PE, Ofri R. Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology. 4ª ed. St. Louis: Saunders; 2008.

**Recebido em: 15/09/11**

**Aceito em: 21/12/11**

## CITOLOGIA ASPIRATIVA POR AGULHA FINA NO RIM DE UM FELINO COM PERITONITE INFECCIOSA FELINA

Raquel Teresinha França<sup>1\*</sup>  
Guilherme Lopes Dorneles<sup>2</sup>  
Marciélen Pagnoncelli<sup>3</sup>  
Renan Marcel Krüger<sup>4</sup>  
Danieli Brolo Martins<sup>5</sup>  
Juliana Sperotto Brum<sup>5</sup>  
Sonia Terezinha dos Anjos Lopes<sup>6</sup>

### RESUMO

A peritonite infecciosa felina (PIF) tem como agente etiológico o coronavírus felino, que acomete os felinos domésticos e selvagens. A maior incidência da PIF ocorre onde há alta incidência populacional felina. Animais com menos de um ano de idade parecem ser os mais susceptíveis. A PIF é caracterizada pelas formas efusiva, não efusiva ou ambas. A citologia renal é indicada quando há suspeita clínica e evidências laboratoriais da enfermidade. O objetivo deste relato é descrever as alterações citológicas observadas em um caso de PIF não efusiva nos rins.

**Palavras-chave:** punção aspirativa, rins, felino.

## CYTOLOGY AND FINE NEEDLE ASPIRATION IN THE KIDNEY OF A CAT WITH FELINE INFECTIOUS PERITONITIS

### ABSTRACT

The feline coronavirus is the etiologic agent of Feline Infectious Peritonitis (FIP), which affects domestic and wild cats. The highest incidence of FIP occurs where there is high feline population incidence. Animals less than one year of age appear to be more susceptible. The FIP is characterized by effusive forms, not effusive or both. Renal cytology is indicated when there is clinical suspicion and laboratory evidence of disease. The objective of this report is to describe the cytological changes observed in one case of not effusive FIP in the kidney.

**Key words:** aspiration puncture, kidneys, feline.

<sup>1</sup> Mestranda do Programa de pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.

\* Endereço para correspondência: Raquel Teresinha França. Av. Roraima nº 1000 - Cidade Universitária - Bairro Camobi- Prédio 97- Sala 103. Hospital Veterinário - Santa Maria - RS - CEP: 97105-900. (55) 3220-8814. [raquelifranca@yahoo.com.br](mailto:raquelifranca@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Aluno de Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.

<sup>3</sup> Residente Patologia Clínica, Hospital Veterinário Universidade Federal de Santa Maria.

<sup>4</sup> Mestrando do Programa de pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.

<sup>5</sup> Doutoranda do Programa de pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.

<sup>6</sup> Professora Adjunta do Departamento de Clínica de Pequenos Animais da Universidade Federal de Santa Maria.

## CITOLOGÍA POR ASPIRACIÓN CON AGUJA FINA EN EL RIÑÓN DE UN GATO CON PERITONITIS INFECCIOSA FELINA

### RESUMEN

El coronavirus felino es el agente etiológico de, la peritonitis infecciosa felina (PIF) que afecta a los gatos domésticos y salvajes. La mayor incidencia de PIF se produce cuando existe alta densidad poblacional felina. Los animales con menos de un año de edad parecen ser más susceptibles. La PIF tiene dos principales formas de presentación clínica: la forma efusiva y la no efusiva; aunque pueden presentarse ambas en el mismo individuo. La citología renal está indicada cuando existe sospecha clínica y evidencias de laboratorio de la enfermedad. El objetivo de este informe es describir los cambios citológicos observados en el riñón de un gato PIF positivo no efusivo.

**Palabras-claves:** punción aspiración, riñones, felino.

### INTRODUÇÃO

A peritonite infecciosa felina (PIF) é causada pelo coronavírus felino. Casos em felinos domésticos e selvagens têm sido relatados desde 1960 em todo o mundo (1-3). A maior incidência de PIF ocorre em propriedades domésticas ou em estabelecimentos criatórios (4). Animais com menos de um ano de idade parecem ser mais susceptíveis (5).

A doença é caracterizada pelas formas efusiva, não efusiva ou ambas. A forma efusiva da doença ocorre em gatos com resposta imune celular deficiente que clinicamente apresentam perda de fluido rico em proteína para a cavidade pleural, abdominal, espaço pericárdico e subcapsular dos rins. Já a forma não efusiva se desenvolve em gatos que possuem resposta imunecelular parcial, que desenvolvem lesões piogranulomatosas ou granulomatosas em diversos tecidos, particularmente nos olhos, encéfalo, rins, epíplon e fígado (4, 6).

A citologia renal é indicada quando há suspeita clínica e evidências laboratoriais da enfermidade. Em pequenos animais, a citologia renal é utilizada para diferenciação de linfoma, carcinoma, PIF, abscessos, cistos ou infecções fúngicas (7). O objetivo desse trabalho é descrever o padrão citológico em um felino portador de PIF não efusiva com alterações no parênquima renal. Ressaltando assim, a importância da avaliação citológica no diferencial entre neoplasias e processos inflamatórios.

### RELATO DE CASO

Um felino Himalaia, macho, de 10 meses de idade foi encaminhado ao Hospital Veterinário da Universidade Federal de Santa Maria (HVU-UFSM) por apresentar apatia, anorexia e emagrecimento. Na anamnese o proprietário relatou que há dois dias o animal parou de comer e beber água. No exame físico observou-se estado nutricional regular, mucosa rosa pálida e desidratação de 4%. Na palpação renal, observou-se aumento de volume no rim esquerdo. O ultrassom abdominal revelou massa tumoral comprometendo o rim esquerdo. Também foram realizados hemograma e perfil bioquímico.

No eritrograma foi observada anemia normocítica normocrômica, hiperproteinemia e no leucograma discreta leucopenia por linfopenia. O painel bioquímico não revelou alterações na função hepática e renal. Sete dias após a avaliação clínico-laboratorial, o animal retornou para realização de nefrectomia parcial sendo realizada, na ocasião nova avaliação hematológica, cujos parâmetros foram mantidos.



Durante o procedimento cirúrgico foi realizada citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) no rim esquerdo onde se observou processo inflamatório caracterizado por neutrófilos íntegros, em meio a células epiteliais reativas e fundo proteico (Figura 1A). Durante o transoperatório, foi observado que o rim direito também apresentava morfologia semelhante à observada no rim esquerdo (Figura 1B), não sendo o mesmo removido. Ao final do procedimento o animal apresentou dificuldade respiratória intensa e foi submetido à eutanásia.

Na análise histopatológica o rim esquerdo apresentava nefrite intersticial linfoplasmohistiocitária focalmente extensa crônica associada a perivascularite acentuada, extensa perda do parênquima renal com substituição por abundante quantidade de fibrina (Figura 2). No encéfalo foi observada meningoencefalite e ependimite linfoplasmocitária crônica difusa moderada. As lesões observadas foram compatíveis com a forma não efusiva da peritonite infecciosa felina.

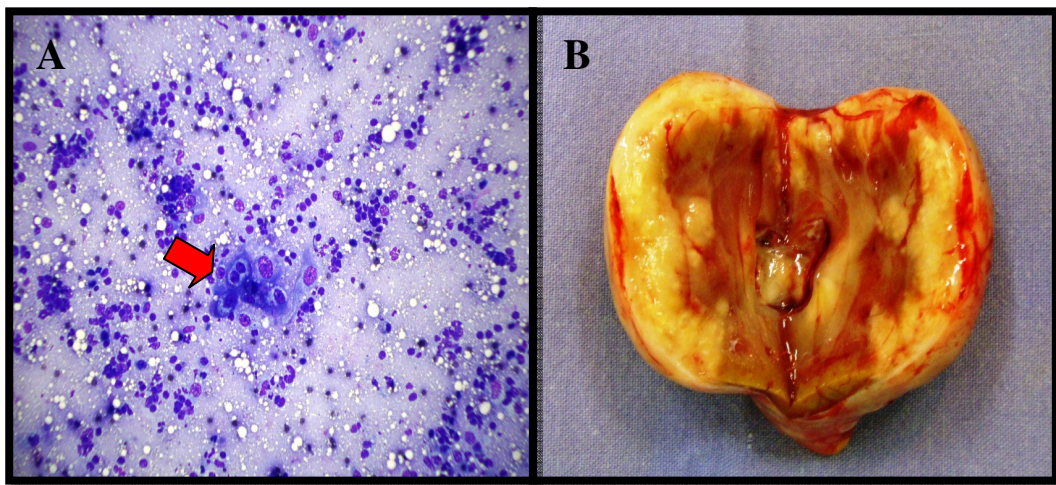


Figura 1. Felino, Himalaia, 10 meses de idade. A) Infiltrado inflamatório, células epiteliais reativas (seta vermelha) e fundo proteico presente na citologia renal. B) Aspecto macroscópico do rim esquerdo apresentando massa sólida amarela, com limites pouco distintos.

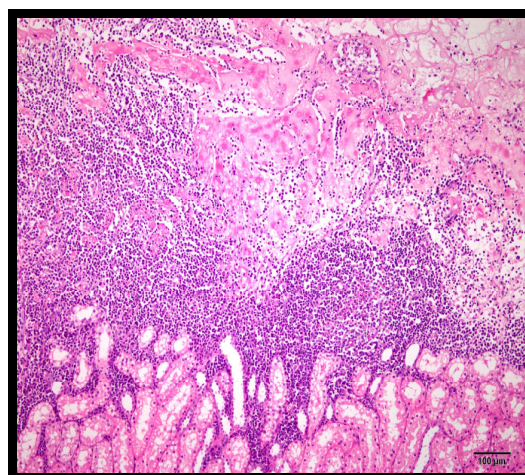


Figura 2. Felino, Himalaia, 10 meses, rim. Observam-se áreas focalmente extensas de perda do parênquima renal com substituição por abundante quantidade de fibrina e infiltrado inflamatório constituído de células mononucleares e macrófagos. (H&E 10x).

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A faixa etária dos animais acometidos pela PIF varia de 2 meses a 3 anos, que incluem o caso ora descrito (5, 8). Animais de todas as raças podem ser afetados (3). Entretanto, a maior incidência em raças puras deve-se provavelmente a origem desses animais de gatis com alta densidade populacional (5). Não existe medida terapêutica efetiva para PIF (4).

As alterações laboratoriais observadas neste caso foram anemia normocítica normocrômica provavelmente devido à doença inflamatória causada pela PIF (9), associado a leucopenia por linfopenia, embora, frequente no leucograma de felinos portadores da doença seja observada leucocitose neutrofílica e linfopenia (4). Hiperproteinemia ocorreu em todo curso clínico provavelmente em consequência da produção inicial de proteínas de fase aguda com aumento da fração da alfa-globulina, seguido de um aumento da fração gama-globulina, refletindo a produção de anticorpos contra o vírus (10, 11). A icterícia plasmática, observada é descrita, ocasionalmente em gatos acometidos por essa enfermidade (4, 8).

O exame ultrassonográfico pode ser usado para confirmar a presença de líquido abdominal em gatos com um volume mínimo de líquido, assim como para avaliar o pâncreas, fígado, linfonodos e rins (4). Neste caso o exame ultrassonográfico demonstrou a presença de massa comprometendo o parênquima renal.

As dificuldades encontradas para se elaborar um diagnóstico definitivo devem-se aos sinais clínicos inespecíficos, ausência de anormalidades patognomônicas, hematológicas, bioquímicas, aliada à baixa sensibilidade e especificidade dos testes usados na rotina (12). Neste caso, o diagnóstico morfológico foi possível por meio da identificação de lesões histopatológicas características de lesão piogranulomatosa renal.

A PIF é raramente diagnosticada por meio de citologia renal. Os achados observados em casos de PIF são caracterizados por inflamação piogranulomatosa, fundo proteico e neutrófilos não degenerados (7). Corroborando com os achados observados nesse caso, onde também foi possível observar células epiteliais reativas. Demonstrando com isso, a importância da avaliação citológica como auxílio no diferencial de diferentes patologias.

Assim, conclui-se que a citologia renal é útil na diferenciação entre PIF e outras patologias renais como infecções fúngicas, linfoma, carcinoma, abscessos e cistos.

## REFERÊNCIAS

1. Hoskins JD, Loar AS. Feline infectious diseases. *Vet Clin North Am.* 1993;23:2-11.
2. McReynolds C, Macy D. Feline infectious peritonitis. Part I. Etiology and diagnosis. *Compend Contin Educ Pract Vet.* 1997;19:1007-12.
3. Daiha MC. Peritonite infecciosa felina. In: Souza HJM. Coletânea em medicina e cirurgia felina. Rio de Janeiro: L.F. Livros; 2003. p.363-4.
4. Lappin MR. Doenças virais polissistêmicas. In: Nelson RW, Couto CG. Medicina interna de pequenos animais. 4ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2010. p.1336-50.
5. Oliveira FN, Raffi MB, Souza TM, Barros CSL. Peritonite infecciosa felina: 13 casos. *Cienc Rural.* 2003;33:905-11.
6. Pedersen NC. A review of feline infectious peritonitis virus infection: 1963-2008. *J Feline Med Surg.* 2009;11:225-58.

7. Borjesson DL. Renal cytology. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2003;33:119-34.
8. Raposo JB, Fernandes CG, Sallis ESV, Grecco FB. Peritonite infecciosa felina - relato de casos. *Rev FZVA Uruguaiana.* 1996;2/3:62-70.
9. Sykes J. Causas infecciosas de anemia em gatos. *Vet Focus.* 2009;19:31-40.
10. Stoddart ME, Whicher JT, Harbour DA. Cats inoculated with feline infectious peritonitis virus exhibit a biphasic acute phase plasma protein response. *Vet Rec.* 1988;123:621-4.
11. Lappin MR. Segredos em medicina feline. Artmed: Porto Alegre; 2004.
12. Hartmann K. Feline infectious peritonitis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2005;35:39-79.

**Recebido em: 23/08/11**

**Aceito em: 29/02/12**

## AVALIAÇÃO CLÍNICA DA DENERVAÇÃO ACETABULAR EM CÃES COM DISPLASIA COXOFEMORAL ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA FMVZ – BOTUCATU - SP

Bruno Watanabe Minto<sup>1</sup>  
Vivian Lima de Souza<sup>2</sup>  
Cláudia Valéria Seullner Brandão<sup>1</sup>  
Eduardo Shiguero Mori<sup>1</sup>  
Milton Mikio Morishin Filho<sup>1</sup>  
José Joaquim Tilton Ranzani<sup>1</sup>

### RESUMO

Displasia coxofemoral é o desenvolvimento anormal da articulação coxofemoral caracterizada por diferentes graus de sub-luxação e doença articular degenerativa associada. Apesar dos inúmeros tratamentos descritos, nenhum é considerado ideal. A denervação acetabular refere-se a um procedimento cirúrgico utilizado no tratamento de cães displásicos e apresentando osteoartrose associada. No presente estudo foram avaliados 15 cães e obteve-se resposta favorável em 93,4% dos casos, com redução da dor e melhora na locomoção e qualidade de vida. Conclui-se portanto, tratar-se de uma técnica eficiente no tratamento da displasia coxofemoral sintomática em cães.

**Palavras-chave:** cão; denervação acetabular; displasia coxofemoral

## CLINICAL EVALUATION OF ACETABULAR DENERVATION IN DOGS WITH HIP DYSPLASIA ATTENDED AT VETERINARY HOSPITAL OF FMVZ – BOTUCATU – SP

### ABSTRACT

Hip dysplasia is an abnormal development of the hip joint characterized by sub or complete luxation of the femoral head in young patients and degenerative joint disease in mature dogs. Despite of several treatments reported there is no one considered ideal. Acetabular denervation is a surgical procedure for treating dogs with hip dysplasia and degenerative joint disease. Pain reduction and improvement of range of motion and quality of life was observed in 93,4% of the dogs. Acetabular denervation could be effective in the treatment of symptomatic hip dysplasia.

**Key words:** dogs; acetabular denervation; hip dysplasia

<sup>1</sup> Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Unesp – Campus de Botucatu – SP, Brasil. Avenida Camilo Mazoni, 1064, Jardim Paraíso, Botucatu – SP, CEP 18610-285. [brunobtu@yahoo.com.br](mailto:brunobtu@yahoo.com.br). Autor para correspondência.

<sup>2</sup> Médica Veterinária Residente da FMVZ – Unesp – Campus de Botucatu – SP, Brasil.

## EVALUACIÓN CLÍNICA DE LA DENERVACIÓN ACETABULAR EN PERROS CON DISPLASIA COXIFEMORAL ATENDIDOS EN EL HOSPITAL VETERINARIO DE LA FMVZ – BOTUCATU - SP.

### RESUMEN

Displasia Coxifemoral es el desarrollo anormal de la articulación coxifemoral caracterizada por diferentes grados de subluxación y enfermedad articular degenerativa. Aunque existan varios tratamientos ya descritos, no se considera ideal a ningún de ellos. Se describe la denervación acetabular como un procedimiento quirúrgico terapéutico utilizado en el tratamiento de perros con displasia coxifemoral y de la osteoartrosis. En este estudio, obtuvimos un resultado favorable en 93,4% de los animales, con reducción del dolor y mejora en la locomoción y calidad de vida, siendo, por lo tanto, una técnica eficiente en el tratamiento de la displasia coxifemoral sintomático.

**Palabras-clave:** perros; denervación; displasia coxifemoral

### INTRODUÇÃO

A displasia coxofemoral é uma das alterações articulares mais importantes em cães; há mais relatos científicos sobre essa enfermidade do que qualquer outra ortopédica em pequenos animais. Atualmente, observa-se uma preocupação crescente dos clínicos e das associações de criadores sobre esta afecção, tanto pelos prejuízos que ela acarreta quanto pela potencial redução na qualidade de vida dos animais (1). É uma doença biomecânica representada pela disparidade entre a massa muscular primária e o rápido crescimento ósseo (2). Sob o aspecto esquelético, os animais com displasia coxofemoral apresentam má formação articular, sendo mais prevalente nas raças de médio a grande porte. Não há predileção sexual e, de uma forma geral, ocorre bilateralmente (3).

O diagnóstico clínico da displasia coxofemoral baseia-se no histórico do animal e sintomas clínicos (4), enquanto o definitivo é obtido pela realização do exame radiográfico. No entanto, a severidade das alterações radiográficas pode diferir da intensidade de apresentação dos sinais clínicos, não podendo, portanto, o tratamento clínico ser instituído somente baseado na imagem radiográfica (5).

O principal objetivo das terapias é minimizar a dor, prevenir a progressão da doença articular degenerativa e manter ou restaurar a função normal da articulação (6). Uma grande variedade de opções terapêuticas clínicas ou cirúrgicas é descrita, entretanto, nenhuma é considerada ideal (7), pois quaisquer delas não são capazes de transformar uma articulação displásica em uma fisiologicamente normal. A denervação acetabular, por sua vez, tem como principal objetivo eliminar os sintomas (dor) apresentados pelos cães clinicamente acometidos, melhorando a locomoção e, conseqüentemente, a qualidade de vida.

Denervação, em termos genéricos, é um procedimento cirúrgico que consiste na ressecção ou remoção dos nervos ou ramos nervosos, seja de um órgão, articulação ou de qualquer outra parte do organismo. A denervação seletiva de uma articulação foi proposta primeiramente na medicina humana (8), com a intenção de aliviar a dor dos pacientes e preservar a função do quadril (9).

A região craniolateral da cápsula articular canina é o local que recebe maior tensão e, portanto, possuidor do maior número de receptores da dor (10, 11), o que também foi observado em felinos (12). Portanto, a porção caudolateral e ventral contribuem muito pouco para sensação de dor em casos de displasia coxofemoral (10,11). Schmaedecke (13) quantificou as fibras nervosas do periósteo acetabular da articulação coxofemoral canina, e

verificou a presença de fibras nervosas em toda a extensão do periósteo acetabular, mesmo que em maior concentração na porção craniolateral. A cápsula articular canina é inervada na sua porção craniolateral por ramos do nervo glúteo cranial, na porção caudolateral por ramos do nervo ciático, na porção craniomedial por ramos do nervo femoral (14, 10, 11), e na porção caudomedial por ramos do nervo obturador (14, 11).

Animais submetidos à técnica de artroplastia da borda acetabular dorsal, apresentaram melhora da dor, logo nos primeiros 5 a 10 dias do pós-operatório (15). Sendo assim, os autores desenvolveram uma técnica de denervação capsular para alívio da dor em cães displásicos. Kinzel e Küpper (16) relataram a técnica de denervação da cápsula articular coxofemoral, que consiste na neurectomia seletiva de fibras sensitivas da região peri-capsular, pela curetagem do periósteo que se encontra no osso coxal, margeando craniodorsalmente o acetábulo, seccionando os ramos do nervo glúteo cranial e parte dos ramos do nervo ciático (16). Com isto, induz-se analgesia permanente, reativando a atividade dinâmica da articulação.

Tal técnica é baseada em outras já utilizadas na medicina humana, há muitos anos, para tratamento de doenças articulares crônicas das mãos (17), para o tratamento da dor na cavidade abdominal causada por tumores (denervação do plexo celíaco) (18) e, para tratamento da dor menstrual ou por endometriose por meio da neurectomia hipogástrica (19, 20).

Em estudo realizado por Kinzel et al. (10), foram avaliados 117 cães tratados pela técnica de denervação acetabular e foi observada melhora clínica em 90,6% dos casos, sendo que destes, 56% tiveram uma melhora significativa em cerca de três dias após o procedimento cirúrgico. Kinzel et al. (11) publicaram resultados de 10 anos de experiência com a técnica de denervação acetabular aplicada a 269 cães com idade entre 4,5 meses e 16 anos e peso variando entre 10 a 62 kg, obtendo 92% de sucesso na melhora da claudicação e remissão da dor, a despeito do grau de displasia ou de artrose da articulação coxofemoral. Neste mesmo estudo, 82% dos casos operados foram classificados como bons e 10% como satisfatório. Dois meses após o procedimento, 73,5% dos proprietários relataram que os animais sentiam-se mais confortáveis e movimentavam mais os membros. Braun et al. (21) relataram 93% de satisfação por parte dos proprietários de 49 animais submetidos ao procedimento de denervação capsular, sendo que os animais mais jovens tiveram melhores resultados em relação aos mais velhos. Selmi et al. (22) realizaram, a denervação capsular percutânea em 92 cães e avaliaram dor, grau de claudicação e perímetro muscular da coxa. Os autores introduziram, em campo fechado, um pino de Steinman com ponta trifacetada de 4,5mm de diâmetro, perpendicularmente à pele e à superfície do corpo do ílio e realizaram movimentos repetidos de raspagem do periósteo em sentido semicircular, nos sentidos cranial, craniodorsal e dorsal da borda acetabular.

Além do alívio da dor com consequente retorno da função articular e, abolindo o uso de analgésicos, a denervação favorece o condicionamento físico da musculatura periarticular, fortalecendo, indiretamente, a articulação incongruente (15, 10, 23). Foi observado que no segundo dia após a intervenção cirúrgica, os animais apresentavam diminuição significativa da dor e que após sete dias, os proprietários relatavam que seus cães apresentavam melhora na qualidade de vida (24). Os mesmos autores realizaram um estudo com 97 cães, e obtiveram 95% de sucesso na remissão da dor e claudicação com a denervação acetabular cranial e dorsal após 360 dias de avaliação. Essa mesma técnica pode ser realizada bilateralmente (25), sendo preservados os mesmos resultados descritos na intervenção unilateral.

Na medicina veterinária ainda há poucos relatos sobre a técnica de denervação acetabular, porém estudos iniciais mostram que esta é eficaz no tratamento de doenças crônicas da articulação coxofemoral (10, 24). É uma técnica simples, uma vez que não exige materiais específicos e sofisticados. Além disso, o tempo cirúrgico é relativamente curto, o

que torna a denervação uma técnica segura para todos os tipos de pacientes. O procedimento também pode ser associado a tratamentos cirúrgicos convencionais da displasia coxofemoral, o que pode tornar a recuperação do paciente ainda mais eficaz (16, 10).

O presente trabalho teve como objetivo aplicar a técnica de denervação acetabular utilizada no tratamento da displasia coxofemoral em cães, bem como avaliar clinicamente os resultados pós-operatórios e, conseqüentemente, a eficácia da técnica.

## MATERIAIS E MÉTODOS

A denervação acetabular seletiva foi realizada em 15 animais da espécie canina, de diferentes raças e sexos, pesando entre 4 e 60 kg, e com idade entre 1 a 11 anos, todos portadores de displasia coxofemoral sintomática e radiográfica. Após seleção criteriosa dos animais e anestesia geral inalatória, os animais foram posicionados em decúbito lateral e preparados para o procedimento asséptico. Todos os animais foram submetidos ao procedimento de denervação acetabular seletiva bilateralmente. Foi realizado acesso cirúrgico craniolateral à articulação coxofemoral com uma incisão cutânea iniciando na altura do trocanter maior do fêmur, em direção ao corpo do ílio; o tecido subcutâneo foi divulsionado, e a fáscia glútea incisada; os músculos glúteo médio e profundo foram rebatidos dorsalmente expondo a região cranial da borda acetabular. Com auxílio de uma cureta removeu-se o perióstio na margem acetabular cranial e dorsal do acetábulo até que fosse exposta a cortical óssea, retirando toda a inervação possível (23). Em seguida, os tecidos moles adjacentes foram suturados rotineiramente. Todos os animais receberam o mesmo protocolo medicamentoso no período pós-operatório, constituído de antiinflamatório, antimicrobiano e analgésico (Meloxicam – 0,1mg/kg a cada 24 horas por 5 dias, Cefalexina – 30mg/kg, a cada 8 horas durante 7 dias, e Dipirona – 25mg/kg, por 4 dias, respectivamente), ainda foi recomendado ao proprietário o uso do colar protetor do tipo elisabetano durante 10 dias.

Os parâmetros avaliados foram divididos em dois blocos. O primeiro bloco foi constituído por avaliação clínica, realizada sempre pelo mesmo examinador nos seguintes momentos do período pós-operatório: 7 dias (Momento – M1); 30 dias (M2); e 60 dias (M3). O segundo bloco envolveu a avaliação realizada pelo proprietário do cão submetido ao procedimento cirúrgico, nos mesmos momentos de avaliação citados acima, e resumiu-se à determinação da melhora ou não da qualidade de locomoção do animal, recebendo escores de 1 a 4; sendo que o escore 1 correspondente a ausência de locomoção (não caminha) e 4 andar normal (Quadro 1). Foram avaliados adicionalmente outros hábitos dos animais tais como brincar, correr, capacidade de se posicionar para micção e defecação, apetite, e cansaço fácil; sendo estes também classificados de 1 a 4, totalizando 12 a 48 pontos. Estas duas avaliações foram feitas baseando-se em um questionário (24).

Quadro 1: Escores utilizados para a classificação da função locomotora do membro pélvico.

DESCRIÇÃO DA LOCOMOÇÃO	ESCORE
Não caminha	1
Claudicação evidente, elevação do membro ao correr, apoio infrequente do membro, quando em estação	2
Claudicação moderada na locomoção; apoio quando em estação	3
Andar normal, ausência de claudicação	4

Para a avaliação clínica foram verificados, nos períodos pré e pós-operatórios, a presença de claudicação e atrofia muscular; a sensibilidade dolorosa à palpação e movimentação da articulação coxofemoral (extensão, flexão e abdução) foi classificada em quatro graus segundo escore (26); receberam escore 1 os animais que apresentaram vocalização com remoção intensa do membro na palpação, enquanto aqueles que não apresentaram dor à palpação receberam escore 4. A avaliação clínica foi realizada pelo mesmo avaliador e na presença do proprietário.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com as respostas do questionário aplicado aos proprietários, no período pré-operatório, os animais apresentaram escore variando entre 26 e 40 pontos, sugerindo qualidade de locomoção razoável, hábitos cotidianos como brincar, subir escadas, se posicionar para micção e defecação; resultados semelhantes foram encontrados por Ferrigno et al. (24), que consideraram estes achados como qualidade de vida insatisfatória e observaram que somente 9,27% dos animais apresentavam boa qualidade de vida (escore superior a 46). No presente estudo, após 7 dias do pós-operatório, o escore dos animais já apresentava valores entre 44 e 48 pontos, pontuação considerada boa a ótima.

Segundo a avaliação pré-operatória inicial dos proprietários, nenhum animal apresentou qualidade de locomoção razoável, os escores apontados variaram entre 1 (não caminha) e 2 (claudicação freqüente), sendo que 60% (9) dos animais apresentavam claudicação freqüente e evidente no pré-operatório, e 20% (3) dos animais não caminhavam. Após 7 dias, os animais que não caminhavam passaram a andar, embora apresentassem certo grau de claudicação (escore 3). Aos 30 dias, apenas 6,67% dos animais ainda apresentavam claudicação, segundo a avaliação do proprietário. E aos 60 dias, 100% dos animais apresentavam locomoção normal. Com relação à dor, de acordo com a avaliação dos proprietários, 40% (6) dos animais apresentavam dor sempre, enquanto 60% (9) apresentavam dor frequentemente. Após 7 dias do procedimento, observou-se melhora significativa, sendo que em apenas 6,67% (1) dos animais, o proprietário relatou episódios dolorosos. Após 30 e 60 dias, nenhum dos animais apresentou tais episódios. No estudo de Ferrigno et al. (23), a denervação proporcionou melhora da dor na primeira semana de pós-operatório em 91,4% dos pacientes, tornando-se mais evidente após o 15º dia pós-operatório. Enquanto Rocha (25) relatou resultados satisfatórios após denervação bilateral por abordagem dorsal em 10 cães, após 10 dias do procedimento.

Ainda, segundo a avaliação dos proprietários, 13,34% (2) dos animais apresentaram alterações de comportamento tornando-se muito agressivos, e 13,34% demonstravam tal alteração de comportamento de forma esporádica. Após a denervação, estes achados cessaram em todos os animais. Quanto aos hábitos de passear, brincar e correr, 20% (3) dos animais não tinha mais tais costumes, enquanto 53,4% (8) raramente os mantinham, 6,67% (1) dos animais mantiveram frequentemente esses costumes, e o restante dos animais, 20% (3), mantinham hábitos normais. Após 7 dias do procedimento, 80% (12) dos animais passaram a ter hábitos normais (passear, correr) frequentemente, e todos (15), aos 30 e 60 dias, apresentaram costumes normais.

Na avaliação clínica veterinária, observou-se que, após 60 dias, nenhum dos animais demonstrou sensibilidade dolorosa à palpação e nem à movimentação da articulação. Quanto à atrofia muscular, notou-se que, após 30 dias, somente 13,34% dos cães apresentavam atrofia significativa, sendo que aos 60 dias a atrofia tornou-se menos significativa. Somente o estudo de Rocha (25) menciona dados sobre volume da massa muscular e, embora o autor tenha descrito aumento da mesma após o procedimento cirúrgico, não levou em consideração já que 60% dos animais em seu estudo eram jovens com menos de um ano de idade e,



consequentemente, a melhora observada pode ter sido resultante do próprio ganho de massa muscular inerente ao crescimento de cada paciente. Selmi et al. (22) observaram em seu estudo que valores médios de perimetria da coxa apresentaram discreta diminuição aos 7 e aos 15 dias de pós operatório em relação ao pré-operatório, mas observaram, aos 30 dias um aumento significativo nestes valores de forma progressiva, concluindo, assim, que o ganho de massa muscular foi decorrente da diminuição do grau de dor e, conseqüentemente, da claudicação e do aumento do grau de amplitude de movimento articular. No pré-operatório, a crepitação da articulação coxofemoral foi evidente ao exame físico em 100% (15) dos animais, resultado semelhante encontrado no trabalho de Ferrigno et al. (24). Após 7 dias, observou-se que 53,4% (8) ainda apresentavam este sinal; este padrão manteve-se até o período final de avaliação, o que representa que a conformação articular não é alterada com a realização da denervação acetabular, que por sua vez somente remove a sensibilidade dolorosa articular associada à displasia coxofemoral.

Kinzel et al. (16) relataram bons resultados com a denervação e, em um estudo realizado pelos mesmos autores em 2002, observou-se 92% de sucesso no que diz respeito à melhora na claudicação e dor dos animais. Em outro estudo, obteve-se 95% de sucesso na remissão da dor e claudicação com a denervação acetabular cranial e dorsal após 360 dias de avaliação (24), sendo observados 42 pacientes neste período. No presente estudo, obteve-se 93,4% de resposta favorável pois, segundo todas as avaliações realizadas nos 15 cães, 14 apresentaram qualidade de locomoção e remissão da dor no período em que os animais foram avaliados. Não foram observadas quaisquer complicações no período pós-operatório.

## CONCLUSÃO

Conclui-se que a denervação acetabular seletiva é uma alternativa terapêutica eficaz no controle da dor ocasionada pela displasia coxofemoral canina, melhorando a qualidade de vida dos animais, além de ser um procedimento cirúrgico relativamente simples e rápido, que apresenta pouca ou nenhuma complicação trans e pós-operatória.

## ASPECTOS ÉTICOS

Os procedimentos utilizados foram aprovados pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Campus de Botucatu.

## REFERÊNCIAS

1. Tôrres RCS. Displasia coxofemoral em cães – etiopatogenia. Minas Gerais; 2006 [cited 2008 Mar 20]. Available from: <<http://www.vet.ufmg.br>>.
2. Alexandre JW. The pathogenesis of canine hip dysplasia. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1992;22:503-11.
3. Piermattei D, Flo G, DeCamp CE. The hip joint. In: Brinker WO, Piermattei DL, Flo WB. *Handbook of small animal orthopedics and fracture repair.* 3<sup>a</sup> ed. Philadelphia: Saunders; 2006. p.462-511.
4. Johnson AL, Hulse DA. Coxofemoral joint. In: Fossum T. *Small animal surgery.* 2<sup>a</sup> ed. St. Louis: Mosby; 2005. p.1093-109.

5. Mclaughlin Jr R, Tomlinson J. Alternative surgical treatments for canine hip dysplasia. *Vet Med.* 1996;91:137-43.
6. Cook JL, Tomlinson, JL, Contantinescu GM. Pathophysiology, diagnosis and treatment of canine hip dysplasia. *Compend Contin Educ Pract Vet.* 1996;18:853-67.
7. Dassler CL. Displasia do quadril canino: diagnóstico e tratamento não cirúrgico. In: Slatter D. *Manual de cirurgia de pequenos animais.* 3ª ed. São Paulo: Manole; 2007. p.2019-29.
8. Carmitz H. Die deformierende hiftgetenksathritis und spezienihre behandlung. *Acta Orthop Scand.* 1993;4:193-213.
9. Buck-Gramcko D. Denervation of the wrist joint. *J Hand Surg.* 1997;2:54-61.
10. Kinzel S, Von Scheven C, Buecker A, Stopinski T, Kupper W. Clinical evaluation of denervation the canine hip joint capsule: a retrospective study of 117 dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2002;15:51-6.
11. Kinzel S, Hein S, Von Scheven C, Küpper W. 10 years experience with denervation of the hip joint capsule in the treatment of canine hip joint dysplasia and arthrosis. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr.* 2002;115:53-6.
12. Peterson HA, Winkelmann RK, Coventry MB. Nerve endings the hip joint of the cat: Their morphology, distribution and density. *J Bone Joint Surg Am.* 1972;54:333-43.
13. Schmaedecke A. Estudo quantitativo das fibras nervosas do periósteo acetabular em cães [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2004.
14. Gasse H. Zur innervation der hüftgelenkkapsel beim hund. *Kleintierpraxis.* 1996;41:883-6.
15. Küpper W, Kinzel S. Denervation der Hüftgelenkkapsel. Tagungsberichte. In: *Therapie von Hüftkhankeiten, dvg-Tagung.* Weisloch: [publisher unknown]; 1994. p.19-21.
16. Kinzel S, Küpper W. Surgical technique and clinical experiences with hip joint denervation in the dog. *Prakt Tierarzt.* 1997;27:26-9.
17. Foucher G, Long Pretz P, Erhard L. Joint denervation, a simple response to complex problems in hand surgery. *Chirurgie.* 1998;123:183-8.
18. Burton AW, Kane B. Interventional management of cancer pain CME. Recife; 2004. [cited 2008 Ago 2]. Available from: <[http://www.medcaspe.com/viewprogram/2910\\_pnt](http://www.medcaspe.com/viewprogram/2910_pnt)> .
19. Tjaden B, Schlaff WD, Kimball A, Rock JA. The efficacy of presacral neurectomy for the relief midline dysmenorrhea. *Obstet Gynecol.* 1990;76:89-91.
20. Candiani GB, Fedele L, Vercellini P, Bianchi S, Di Nola G. Presacral neurectomy for the treatment of pelvic pain associated with endometriosis: a controlled study. *Am J Obstet Ginecol.* 1992;167:100-3.

21. Braun D, Lautersack O, Schiimke E. Dorsale denervation der hüftgelenkscapsel beim hund ergebnisse einer langzeitstudie. Kleintierpraxis. 2003;4:185-244.
22. Selmi AL, Penteado BM, Lins BT. Denervação capsular percutânea no tratamento da displasia coxofemoral canina. Cienc Rural. 2009;39:460-6.
23. Ferrigno CRA, D'Ávila RS, Yamamoto EY, Yazbek KVB, Ferraz VCM. Estudo da técnica de denervação da cápsula articular coxofemoral no tratamento da dor em cães com displasia coxofemoral: resultados preliminares. Braz J Vet Res Anim Sci. 2004;41:169-70.
24. Ferrigno CRA, Schamaedecke A, Oliveira LM, D'ávila RS, Yamamoto EY, Saut JPE. Denervação acetabular cranial e dorsal no tratamento da displasia coxofemoral em case: 360 dias de evolução de 97 casos. Pesqui Vet Bras. 2007;27:333-40.
25. Rocha LB. Denervação articular em cães com osteoartrose coxofemoral secundária a displasia [dissertação]. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco; 2005.
26. Cruz ML, Luna SPL, Silva Junior JR, Iamaguti P, Crocci A, Takahira RK. Efeitos do flunixin, ketoprofeno, carprofeno, buprenorfina e placebo para a analgesia pós-operatória em cães submetidos à osteossíntese de fêmur. Hora Vet. 2000;114:19-25.

**Recebido em: 05/05/11**

**Aceito em: 20/10/11**

## ATIVIDADES DE EDUCAÇÃO EM SAÚDE SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL PARA ESCOLARES

Isabel Cristina Contel Genari<sup>1</sup>  
Silvia Helena Venturoli Perri<sup>2</sup>  
Sonia Regina Pinheiro<sup>3</sup>  
Cáris Maroni Nunes<sup>2\*</sup>

### RESUMO

Este estudo objetivou avaliar a variação de conhecimento sobre leishmaniose visceral (LV) de escolares de 6º e 7º anos de escolas públicas de Birigui-SP após realização de um programa educativo. Um questionário foi aplicado antes (Etapa I) e após (Etapa II) a realização do projeto educativo que se constituiu de aula expositiva, palestra realizada por profissional de saúde, concurso de história em quadrinhos e de cruzadinha sobre o tema. Um total de 711 escolares foi entrevistado na Etapa I e 693 na Etapa II. Adotou-se critério de conhecimento de LV como “Bom”, “Regular” e “Ruim” quando, de 10 questões analisadas pela Teoria de Resposta ao Item, os escolares tiveram 10 a 8, 7 a 4, e 3 a 0 acertos. Verificou-se que houve aumento estatisticamente significativo do nível de conhecimento, com o número de escolares com conceito Bom variando de 35,7% (Etapa I) para 59,7% (Etapa II). As atividades educativas realizadas geraram ganhos de conhecimento entre os escolares, o que permite concluir que programas educativos de forma continuada podem trazer bons resultados para a saúde pública.

**Palavras-chave:** educação, *Leishmania*, saúde pública.

### HEALTH EDUCATIONAL ACTIVITIES ON VISCERAL LEISHMANIASIS FOR SCHOLARS

#### ABSTRACT

This study aimed at evaluating the knowledge on visceral leishmaniasis gained after the application of an educative project for the 6<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> grade students from three public schools of Birigui, SP, Brazil. A questionnaire before (Phase I) and after (Phase II) activities that comprehended one conference by a health agent, a comic contest and one crossword about VL was used to measure scholar's knowledge. We interviewed 711 students in Phase I and 693 in Phase II. A criterion of VL knowledge was adopted as “Good”, “Medium” and “Bad” when, out of 10 questions analyzed by Item Response Theory, 10 to 8, 7 to 4, and 3 to 0 were right, respectively. We observed a statistically significant increase in the students' knowledge level after the educational project, since the number of students with “Good” concept changed from 35.7% (Phase I) to 59.7% (Phase II). The educational activities carried out led to gains in knowledge among students suggesting that continuing education can bring good results to public health.

**Key words:** education, *Leishmania*, public health.

<sup>1</sup> Mestre, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, UNESP, campus Araçatuba, SP, Brasil.

<sup>2</sup> Docente do Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, Medicina Veterinária, UNESP, campus Araçatuba, SP, Brasil.

\* Correspondência: Cáris Maroni Nunes. Rua Clóvis Pestana, 793 – Araçatuba, SP, 16050-680, Brasil. E-mail: caris@fmva.unesp.br

<sup>3</sup> Docente do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, FMVZ, USP, Brasil

## ATIVIDADES DE EDUCAÇÃO EM SAÚDE SOBRE LEISHMANIASIS VISCERAL PARA ESCOLARES

### RESUMEN

Este estudio tuvo como propósito evaluar la variación de conocimiento acerca de la leishmaniasis visceral (LV) de escolares de 6 y 7 años de escuelas públicas de Birigui-SP después de la finalización de un programa educativo. Se aplicó un cuestionario antes (Etapa I) y después (Etapa II), y la ejecución del proyecto educativo consistió en conferencia dictada por un profesional de la salud, hacer crucigramas y concurso de cómicas sobre el tema. Un total de 711 estudiantes fueron entrevistados en la Etapa I y 693 en la Etapa II. Hemos adoptado un criterio de conocimiento de LV como "Bueno", "Regular" y "Malo", cuando 10 cuestiones examinadas por la Teoría de Respuesta al Ítem, los estudiantes fueron 10 a 8, 7 a 4, y 3 a 0 aciertos. Hubo un aumento estadísticamente significativo en el nivel de conocimiento, con el número de estudiantes con un buen concepto, del 35,7% (Etapa I) a 59,7% (Etapa II). Las actividades educativas llevadas a cabo condujeron a un mayor conocimiento entre los estudiantes, lo que nos permite concluir que los programas de educación continua pueden producir buenos resultados para la salud pública.

**Palabras-chave:** educación, *Leishmania*, la salud pública.

### INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença crônica grave causada por protozoários do gênero *Leishmania*, transmitida pela picada de fêmeas de flebotomíneos, representada no Brasil pela *Lutzomyia longipalpis* e que tem o cão como principal reservatório doméstico (1). De acordo com estimativas, cerca de 500.000 casos novos de LV surgem por ano e acredita-se que 12 milhões de pessoas vivam em áreas de risco para LV (2), sendo que 90% dos casos ocorrem na Índia, Bangladesh, Nepal, Sudão e Brasil, principalmente em populações mais pobres (3).

A LV pode ser fatal para o homem, principalmente quando associada ao quadro de má nutrição e infecções concomitantes. No Brasil a LV apresenta-se com alta incidência e ampla distribuição, acometendo pessoas de todas as idades, embora 80% dos casos registrados ocorram em crianças menores de 10 anos. A LV está em processo de expansão e urbanização com alto índice de cães positivos e de casos humanos (1).

No Estado de São Paulo a LV foi introduzida a partir de 1999, na região de Araçatuba (4) e no Município de Birigui, SP, de 1999 até abril de 2011, 126 casos humanos com 12 óbitos foram registrados (5).

O Ministério da Saúde do Brasil recomenda, como medidas de controle da leishmaniose visceral, o diagnóstico e tratamento precoces dos casos humanos, redução da população de flebotomíneos por meio do uso de inseticidas, identificação e eliminação do reservatório canino e atividades de educação em saúde (6).

A educação em saúde é fundamental no controle da LV, pois uma população informada sobre a gravidade da enfermidade pode contribuir para a prevenção e controle da mesma (7). Tal processo de conscientização pode ser iniciado nas escolas, com a vantagem dos estudantes levarem as informações para suas residências (8).

A metodologia empregada é fundamental quando do desenvolvimento de programas educativos, auxiliando o processo de ensino-aprendizagem. Podem ser abordados, por

exemplo, a avaliação prévia do público-alvo, questionários de avaliação em dois momentos, bem como a utilização de mais de um recurso pedagógico (9).

Objetivou-se assim desenvolver um projeto educativo sobre leishmaniose visceral e observar a variação do conhecimento de escolares de 6º e 7º anos do Ensino Fundamental de três escolas estaduais do município de Birigui-SP, após a realização de atividades de educação em saúde.

## MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no período de agosto a novembro de 2008, no Município de Birigui, localizado no Noroeste do Estado de São Paulo, 21°17'19" S e 50°20'24" W, com uma área de 530,651 km<sup>2</sup> e população humana estimada de 109.451 habitantes (10). O público alvo foi escolares de 6º e 7º anos do Ensino Fundamental, de três escolas estaduais do Município de Birigui, SP, escolhidas intencionalmente por localizarem-se em bairros com maior número de casos de leishmaniose visceral canina. A pesquisa não foi realizada por amostragem já que todos estes escolares foram convidados a participar da pesquisa, após consentimento esclarecido de seus responsáveis.

A primeira Etapa (I) da pesquisa ocorreu na fase do diagnóstico educativo para avaliar o conhecimento dos escolares. A segunda (Etapa II) ocorreu após a realização do projeto educativo, como forma de avaliação. O projeto educativo constituiu-se de uma aula expositiva ministrada pela pesquisadora, docente de Ciências, uma palestra ministrada por agente de saúde do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) da Prefeitura Municipal de Birigui, concurso de história em quadrinhos e confecção de cruzadinhas sobre a leishmaniose visceral, além da fixação de cartazes informativos.

Em ambas as etapas utilizou-se um questionário preenchido por adesão voluntária dos escolares. Uma primeira visita foi realizada para apresentação da pesquisa e aplicação do questionário composto de 23 perguntas fechadas, das quais 06 (seis) se referiam à identificação, ao número de cães e gatos que possuíam e ao estado vacinal destes; 07 (sete) perguntas abordavam o conhecimento sobre a situação atual da LV, bem como a utilização de tratamento e a opinião do aluno a respeito da eutanásia canina; 10 questões investigavam o conhecimento sobre a transmissão da LV (vetor, hospedeiro susceptível) e medidas de prevenção em relação ao ambiente e ao cão.

Os itens do questionário foram analisados pela Teoria de Resposta ao Item (TRI) por meio do modelo logístico unidimensional de três parâmetros (11). A análise dos dados foi realizada pelo software BILOG-MG for Windows<sup>®</sup>.

Um mês após a finalização da primeira etapa, uma aula expositiva sobre o tema foi ministrada nas escolas, com auxílio de cartaz, folheto informativo e panfleto doado pela Secretaria Municipal de Saúde de Birigui - SP, que continham informações sobre o inseto vetor, as lesões cutâneas no homem e em cães, bem como os mecanismos de transmissão e as formas de controle. O cartaz utilizado na aula foi afixado no pátio de cada uma das escolas até a finalização do projeto educativo. Após um mês, os escolares assistiram a uma palestra sobre a LV, realizada por um agente de saúde do CCZ, da Prefeitura Municipal de Birigui. Um mês após este evento os escolares participaram de um concurso que premiou as melhores histórias em quadrinhos que estivessem associadas à cruzadinha realizada com todas as respostas corretas. Passados trinta dias o questionário foi novamente aplicado aos escolares, para avaliação do conhecimento adquirido.

O Teste Qui-quadrado foi utilizado para verificar associação entre as variáveis, sendo considerada significativa quando  $p < 0,05$ . As análises foram efetuadas com auxílio do programa *Statistical Analysis System* (12).

Adotou-se um critério de conhecimento de leishmaniose visceral como “Bom”, “Regular” e “Ruim” quando, das 10 questões mantidas pela TRI e relacionadas à transmissão e prevenção para LV, os escolares tiveram 10 a 8, 7 a 4, e 3 a 0 acertos, respectivamente.

## RESULTADOS

A presente pesquisa contou com a participação de 711 escolares na Etapa I e 693 escolares na Etapa II, dos quais 50,2% (357/711) eram do sexo masculino e 49,6% (353/711) do sexo feminino, com idade média de 12 anos. Dezoito escolares não participaram da Etapa II por estarem ausentes na data da aplicação do questionário. Dos entrevistados, 50,6% cursava o 6º ano e 49,4% o 7º ano do Ensino Fundamental, não havendo diferença estatisticamente significativa da Etapa I para a Etapa II, para as variáveis estudadas.

Em referência à presença de cães no domicílio, o resultado do questionário demonstrou que 59,6% dos estudantes afirmaram ter um ou mais cães e 19,4%, um ou mais gatos. Quando questionados a respeito da vacinação dos cães e gatos, 57,7% dos entrevistados afirmaram que os animais haviam sido vacinados, refletindo algum cuidado com os animais, embora não tenha sido especificado o tipo de vacinação.

Quanto à percepção sobre a situação atual da doença, 95,9% dos escolares afirmaram já terem ouvido falar sobre leishmaniose e 34,0% dos entrevistados já tinham tido um cão eliminado por estar positivo para a referida doença. Quando questionados quanto ao número de casos de LV em humanos, 29,6%, 16,5% e 22,7% acreditavam estar aumentando, diminuindo ou estável, respectivamente, e 31,2% não souberam opinar. Em relação ao número de casos de LV em cães, 40,0% dos entrevistados afirmaram estar aumentando, 12,2% diminuindo, 22,7% estável e 25,1% não souberam responder.

Os entrevistados foram questionados a respeito da doença nos seus mais variados aspectos, incluindo a transmissão da LV. Observou-se diferença significativa ( $p < 0,0001$ ) para as respostas às três perguntas referidas, após a aplicação do projeto educativo (Tabela 1).

Tabela 1. Número (n) e percentual (%) de respostas corretas de escolares sobre leishmaniose visceral segundo a transmissão da doença, antes (Etapa I) e após (Etapa II) a aplicação do projeto educativo, em 711 e 693 escolares, respectivamente. Birigui, SP, 2010.

Questões abordadas	Etapa I		Etapa II		p
	n	%	n	%	
Hospedeiros susceptíveis (cão, gato e homem ou cão e homem)	544	76,5	617	89,0	<0,0001
É transmitida pela picada de um mosquito	491	69,1	575	83,0	<0,0001
O mosquito transmissor é o mosquito palha	530	74,5	619	89,3	<0,0001

Com relação à prevenção da doença, também se observou diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,005$ ) após a aplicação do projeto educativo (Tabela 2). Entretanto, entre os entrevistados, 74,4% (529/711) levariam ao veterinário o cão suspeito de estar com LV na Etapa I, diminuindo para 65,1% (451/693) na Etapa II ( $p = 0,0002$ ).

Os escolares também foram questionados quanto às medidas aplicadas aos cães sorologicamente positivos para LV. Na Etapa I, 65,5% (463/711) dos escolares responderam que os cães são sacrificados, 25,2% (178/711) afirmaram que são tratados e 9,3% (70/711) não souberam opinar. Na Etapa II verificou-se que as respostas para estas questões foram 85,5% (588/693), 9,4% (65/693) e 5,1% (40/693) dos escolares ( $p < 0,0001$ ), respectivamente.

Tabela 2. Número (n) e percentual (%) de respostas corretas de escolares sobre leishmaniose visceral segundo a prevenção da doença, antes (Etapa I) e após (Etapa II) a aplicação do projeto educativo, em 711 e 693 escolares, respectivamente. Birigui, SP, 2010.

Questões abordadas	Etapa I		Etapa II		p
	n	%	n	%	
<b>Medidas de prevenção em relação ao ambiente</b>					
Deve-se evitar a criação dos mosquitos	440	61,9	553	79,8	<0,0001
Conhece as principais medidas para evitar a criação dos mosquitos	401	56,4	568	82,0	<0,0001
<b>Medidas de prevenção em relação ao reservatório</b>					
Conhece os principais sintomas do cão com leishmaniose	574	80,7	623	89,9	<0,0001
Levaria ao veterinário o cão suspeito de estar com leishmaniose	529	74,4	451	65,1	0,0002

Sobre o tratamento da doença, 6,7% (47/711) responderam que existem apenas para o cão, 34,8% (246/711) para o cão e o homem, 21,9% (155/711) apenas para o homem, 15,4% (109/711) dos escolares responderam que não existe tratamento e 21,2% (154/711) não souberam opinar, antes do projeto educativo. Já na Etapa II, 57,2% (394/693) responderam que o tratamento deve ser feito somente para o homem, revelando diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,0001$ ) para esta resposta.

Verificou-se um aumento dos escolares que responderam que a eliminação de criadouro do mosquito e o sacrifício dos cães são importantes para diminuir os casos de LV, assim como o número de escolares que afirmaram concordar com o sacrifício dos cães como medida de controle para esta enfermidade, após o desenvolvimento do projeto educativo. No entanto, quanto à importância do sacrifício dos cães para se evitar a transmissão de doenças para o homem, não houve diferença estatisticamente significativa entre as Etapas (Tabela 3).

Tabela 3. Número (n) e percentual (%) de respostas corretas de escolares sobre leishmaniose visceral segundo as medidas de controle, antes (Etapa I) e após (Etapa II) a aplicação do projeto educativo, em 711 e 693 escolares, respectivamente. Birigui, SP, 2010.

Questões abordadas	Etapa I		Etapa II		p
	n	%	n	%	
<b>Atitudes para diminuir os casos de leishmaniose</b>					
Eliminar o criadouro do mosquito	325	45,7	465	67,1	<0,0001
Sacrificar os cães	272	38,3	318	45,9	0,0045
<b>Quanto ao sacrifício dos cães</b>					
Concorda como medida de controle	230	32,3	384	55,4	<0,0001
É importante para evitar a transmissão de doenças para o homem	462	65,0	458	66,1	0,7028

De modo geral, os resultados obtidos pela análise das 10 questões mantidas após a TRI revelaram que houve aumento estatisticamente significativo do nível de conhecimento dos escolares sobre LV após o projeto educativo ( $p < 0,0001$ ), com aumento de 35,7% (254/711) de escolares com conceito Bom na Etapa I para 59,7% (414/693) na Etapa II. Observou-se ainda



diminuição do conceito Regular de 54,3% (386/711) na Etapa I para 35,4% (245/693) na Etapa II, enquanto que para o conceito Ruim, a diminuição foi de 10,0% (71/711) na Etapa I para 4,9% (34/693) na Etapa II (Gráfico 1).

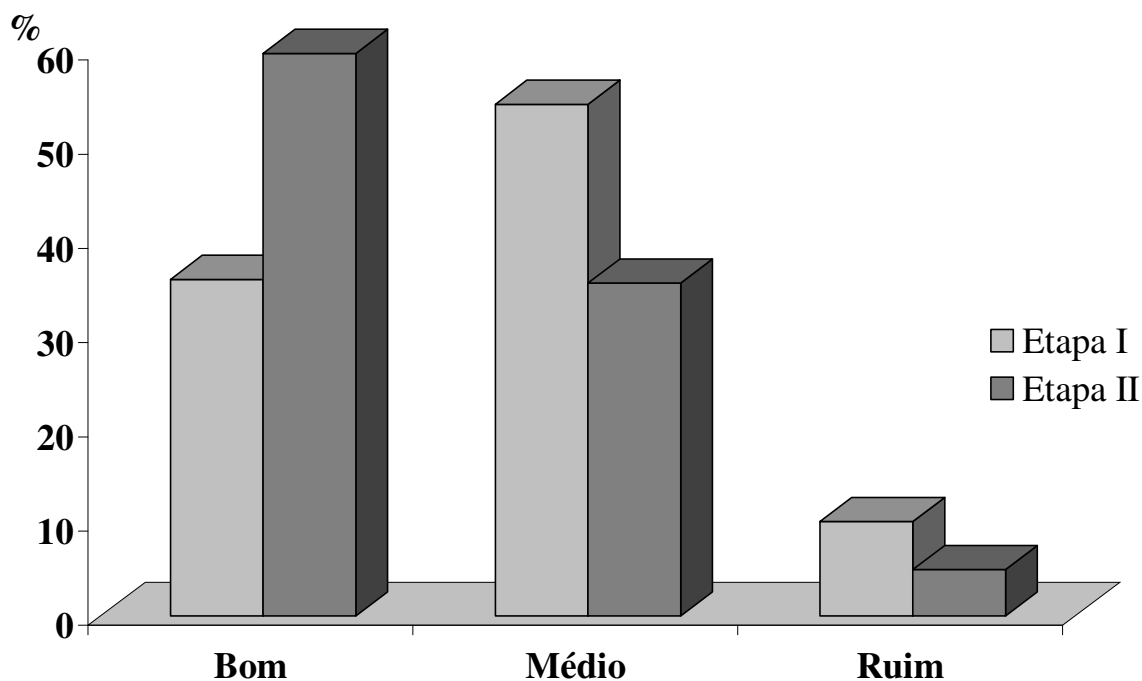


Gráfico 1. Porcentagem de escolares quanto ao nível de conhecimento sobre leishmaniose visceral antes (Etapa I) e após (Etapa II) o desenvolvimento de projeto educativo. Conhecimento Bom (8 a 10 acertos), Regular (4 a 7 acertos) e Ruim (0 a 3 acertos).

## DISCUSSÃO

A presença de cães no domicílio referida por 59,6% dos escolares confirmou o contato deste reservatório de LV com os residentes. Constatou-se ainda que, por residirem em área endêmica para a LV, a doença não era desconhecida pelos estudantes, visto que 95,9% destes já tinham ouvido falar da doença, 34,0% dos entrevistados já tinham tido um cão sacrificado por diagnóstico positivo para leishmaniose e que apenas 31,2% e 25,1% dos escolares não souberam opinar quando questionados sobre a situação da ocorrência de casos de leishmaniose humana ou canina, respectivamente. Gama et al. (13) observaram resultados semelhantes em estudo realizado em indivíduos de área endêmica do Maranhão acometidos pela doença. Entretanto, Borges et al. (7) constataram que somente 26,8% já tinham ouvido falar em LV antes de serem infectados, reforçando a importância da disseminação da informação para o controle desta zoonose.

A aplicação da TRI constituiu-se em um instrumento valioso para análise do questionário utilizado uma vez que, ao excluir sete questões inadequadas para avaliar as habilidades dos escolares sobre o tema, permitiu melhorar a análise da aquisição do conhecimento sobre LV pelos estudantes. Tal procedimento vem sendo amplamente aplicado nos processos quantitativos na área de avaliação educacional por outros autores (11).

A avaliação do conhecimento sobre LV dos escolares das três escolas do município de Birigui, SP demonstrou que além de já terem conhecimento das principais medidas preventivas, houve aumento estatisticamente significativo após a realização do projeto

educativo. No Maranhão, Gama et al. (13) observaram que a população estudada detinha certo conhecimento sobre transmissão, vetores, reservatórios e aspectos clínicos da doença, porém possuía pouco conhecimento sobre atitudes preventivas para LV, diferindo do presente estudo. Da mesma forma, ao avaliar o nível de conhecimento e algumas atitudes preventivas em relação à LV em Belo Horizonte, MG, Borges et al. (7) verificaram que a população possuía apenas informações superficiais e adotava atitudes inespecíficas.

Ao avaliar um modelo de disseminação da informação sobre a LV envolvendo escolares e seus familiares em Caeté, MG, por meio de uma aula expositiva, panfleto e aplicação de um questionário em dois momentos, Magalhães et al. (8) verificaram a aquisição de conhecimento dos familiares sobre esta enfermidade, demonstrando que os escolares podem disseminar as informações recebidas em atividades de educação e colaborar para a prevenção da LV. Entretanto, os familiares devem ser envolvidos para obtenção de melhores resultados, que não foi possível de ser realizado no presente estudo.

A realização do projeto educativo revelou mudança no perfil das respostas dos escolares, aumentando o percentual de conceito classificado como Bom e diminuindo o percentual de conceito Ruim, ao final da segunda etapa ( $p < 0,0001$ ). Chiaravalloti Neto et al. (14) ao avaliarem os resultados de um projeto educativo em duas fases, no Município de São José do Rio Preto, SP, verificaram que as atividades educativas geraram ganhos de conhecimento da população, assim como Uchôa et al. (15), ao avaliarem a aquisição de conhecimento por parte dos escolares do Ensino Fundamental no município de Maricá, MG, por meio de palestras, cartazes e cartilhas. Santos et al. (9), ao avaliarem o perfil das respostas de escolares da cidade de São Paulo submetidos a um programa educativo sobre *larva migrans* visceral, em duas etapas, também observaram mudança nas respostas dos entrevistados à semelhança dos resultados observados na presente pesquisa.

É importante ressaltar o fato de que, apesar do conhecimento dos entrevistados sobre a doença nos mais variados aspectos, esta doença é endêmica no município sugerindo que, mesmo estando informados sobre as ações preventivas para LV, há necessidade de mudanças de atitudes por parte da população, conforme apontado por Chiaravalloti Neto et al. (14) em um estudo realizado sobre dengue, quando verificaram que a existência de conhecimento não resultou em mudanças de práticas por parte da população.

## CONCLUSÕES

Atividades de educação em saúde realizadas por meio de diferentes recursos pedagógicos geraram ganho de conhecimento sobre a LV por parte dos escolares. Entretanto, apesar do nível de conhecimento dos escolares ser considerado bom ao final da pesquisa, sugere-se desenvolver programas educativos nas escolas de forma continuada, como forma de favorecer mudanças de práticas em relação ao controle da LV e trazer resultados importantes em termos de saúde pública.

## PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

Esta pesquisa teve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da UNESP, Araçatuba (Processo CEP 2008-01681).

## REFERÊNCIAS

1. Gontijo CMF, Melo MN. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. Rev Bras Epidemiol. 2004;7:338-49.

2. World Health Organization. Division of control of tropical disease. Zoonoses: leishmaniasis. WHO; 2009. [cited 2011 Set 29]. Available from: <<http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/>>.
3. Alvar J, Yactayo S, Bern C. Leishmaniasis and poverty. *Trends Parasitol*. 2006; 22:552-7.
4. Camargo-Neves VLF. A leishmaniose visceral Americana no Estado de São Paulo: situação atual. *Bol Epidemiol Paul*. 2004;1:1-4.
5. Centro de Vigilância Epidemiológica – CVE. Leishmaniose visceral americana humana. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. [cited 2011 Set 29]. Available from: <[http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/zoo/lvah\\_auto9904.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/zoo/lvah_auto9904.htm)>.
6. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília: Ministério da Saúde; 2006.
7. Borges BKA, Silva JA, Haddad JPA, Moreira EC, Magalhães DF, Ribeiro LML, et al. Avaliação do nível de conhecimento e de atitudes preventivas da população sobre a leishmaniose visceral em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. *Cad Saude Publica*. 2008;24:777-84.
8. Magalhães DF, Silva JA, Haddad JPA, Moreira EC, Fonseca MIM, Ornelas MLL, et al. Dissemination of information on visceral leishmaniasis from schoolchildren to their families: a sustainable model for controlling the disease. *Cad Saude Publica*. 2009; 25:1642-6.
9. Santos MB, Vasconcellos SA, Dias RA, Oliveira LR, Ragozo AMA, Nori MTM, et al. Educação em saúde aplicada à prevenção da larva migrans visceral: comparação da eficiência de cinco recursos pedagógicos. *Vet Zootec*. 2005;12:29-41.
10. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo demográfico 2000. [cited 2010 Set 21]. Available from: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>.
11. Andrade DF, Tavares HR, Valle RC. Teoria da resposta do item: conceitos e aplicações. São Paulo: Associação Brasileira de Estatística; 2000.
12. Statistical Analysis Software Institute. SAS/STAT user's guide, version 9.1 Cary, N.C.: SAS Institute Inc.; 2004.
13. Gama MEA, Barbosa JS, Pires B, Cunha AKB, Freitas AR, Ribeiro IR, et al. Avaliação do nível de conhecimento que populações residentes em áreas endêmicas têm sobre leishmaniose visceral, Estado do Maranhão, Brasil. *Cad Saude Publica*. 1998;14:381-90.
14. Chiaravalloti Neto F, Moraes MS, Fernandes MA. Avaliação dos resultados de atividades de incentivo à participação da comunidade no controle da dengue em um bairro periférico do Município de São José do Rio Preto, São Paulo, e da relação entre conhecimentos e práticas desta população. *Cad Saude Publica*. 1998;14 Supl 2:101-1.

15. Uchoa CMA, Serra CMB, Magalhães CM, Silva RMM, Figliuolo LP, Leal CA, et al. Educação em saúde: ensinando a leishmaniose tegumentar americana. Cad Saude Publica. 2004;20:935-41.

**Recebido em: 29/06/11**

**Aceito em: 07/11/11**

## CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE INSULINA DURANTE AS FASES DO CICLO ESTRAL E EM CADELAS COM PIOMETRA

Rodrigo Volpato<sup>1\*</sup>  
Eduardo Trevisol<sup>1</sup>  
Carlos Renato Freitas Guaitolini<sup>1</sup>  
Ana Augusta Pagnano Derussi<sup>1</sup>  
Priscilla Nascimento Guasti<sup>1</sup>  
Diego Gouvêa de Souza<sup>1</sup>  
Maria Denise Lopes<sup>2</sup>  
Eunice Oba<sup>2</sup>

### RESUMO

As diferentes fases do ciclo estral, assim como processos infecciosos e inflamatórios, interferem na concentração de insulina nas cadelas. A baixa ação da insulina predispõe as cadelas a desenvolver *Diabete mellitus*. A piometra é uma das condições patológicas mais comuns do trato reprodutivo das fêmeas e a *Diabete mellitus* uma das doenças endócrinas mais comuns na clínica de pequenos animais. O objetivo deste estudo foi verificar o impacto do ciclo estral e da piometra sobre os índices de sensibilidade a insulina. As cadelas foram divididas em 5 grupos (pró-estro, estro, diestro, piometra aberta e piometra fechada) e realizou-se a dosagem sérica de insulina e comparação entre as médias. Os resultados mostraram diferenças significativas entre as fases de proestro e diestro quando comparadas as cadelas com piometra. O desenvolvimento da *Diabete mellitus* parece ser multifatorial e fazem-se necessários novos estudos para esclarecer essa interação imuno-endócrina.

**Palavras-chave:** endocrinologia, diabetes mellitus, ciclo estral, piometra, cão

## SERUM INSULIN CONCENTRATION DURING PHASES OF THE ESTROUS CYCLE AND IN PYOMETRA BITCHES

### ABSTRACT

The different phases of the estrous cycle, as well as infectious and inflammatory processes, interfere with insulin concentration in dogs. The low action of insulin predisposes dogs to develop diabetes mellitus. The pyometra is one of the most common pathological conditions of the female reproductive tract and diabetes mellitus of the most common endocrine diseases in small animal clinic. The objective of this study was to determine the impact of the estrous cycle and pyometra in the rates of insulin sensitivity. The bitches were divided into five groups (pro-estrus, estrus, diestrus, piometra open and pyometra closed) and held on serum insulin and comparing the means. The results demonstrated significant differences between the proestrus and diestrus stages when compared to bitches with pyometra. The development

<sup>1</sup> Doutorando do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP/Campus Botucatu

\* Distrito de Rubião Junior s/n, Depto de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, CEP: 18618-000. Botucatu/SP. Fone/Fax: (014) 6802-6249 / 6802-6326. rodrigo.volpato@hotmail.com

<sup>2</sup> Profa. Titular do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP/Campus Botucatu

of diabetes mellitus appears to be multifactorial and it is necessary to do further studies to clarify this immune-endocrine interaction

**Key words:** endocrinology, diabetes mellitus, estrous cycle, pyometra, dog

## CONCENTRACION SÉRICA DE INSULINA DURANTE LAS FASES DEL CICLO ESTRAL Y EN PERRAS CON PIOMETRA

### RESUMEN

Las diferentes fases del ciclo estral, así como procesos infecciosos e inflamatorios, pueden interferir en la concentración de insulina en las perras. La baja acción de la insulina predispone a las perras para desarrollar Diabetes mellitus. La piometra es una de las patologías más frecuentes del tracto reproductivo de las hembras y la Diabetes mellitus de las enfermedades endocrinas más frecuentes en la clínica de pequeños animales. El objetivo de este estudio fue determinar el impacto del ciclo estral y piometra en las tasas de sensibilidad a la insulina. Las perras se dividieron en cinco grupos (proestro, estro, diestro, piometra abierta y piometra cerrada) y se analizó la concentración sérica de insulina y comparación de los promedios. Los resultados han demostrado diferencias significativas entre las etapas de proestro y diestro en comparación con las perras con piometra. El desarrollo de Diabetes mellitus parece ser multifactorial y son necesarios más estudios para aclarar esta interacción inmune endócrino.

**Palabras clave:** endocrinología, diabete mellitus, ciclo estral, piometra, perro

### INTRODUÇÃO

A ocorrência do estro e diestro em fêmeas caninas está associada a presença de resistência a concentração de insulina. Além disso, estados sépticos e inflamatórios, como observado frente a piometra, também interferem na resistência a ação insulínica (1). Recentemente, estudos demonstraram que a ocorrência do estro, diestro e da piometra em cães pode prejudicar a atividade tirosina quinase de membrana no tecido muscular, além de reduzir a afinidade da ligação entre a insulina e o seu receptor neste tecido (2).

A piometra é uma enfermidade da cadela adulta caracterizada pela inflamação do útero com acúmulo de exsudato, que ocorre na fase lútea do ciclo estral, de quatro semanas a quatro meses após o estro. No diestro ocorre uma hipertrofia/hiperplasia do endométrio, estimulado pela progesterona e, subsequentemente uma invasão bacteriana. Trata-se de uma das condições patológicas mais comumente encontrada no trato genital das fêmeas caninas (3,4).

A *Diabete mellitus* canina é uma das doenças endócrinas mais comuns na clínica de pequenos animais e nas últimas décadas observou-se aumento na prevalência hospitalar de casos deste transtorno. Esta doença afeta entre 0,0005% e 1,5% da população canina e o número dos casos tem aumentado progressivamente (5,6).

Cerca de 70% das fêmeas portadoras de *Diabetes mellitus* desenvolvem a doença durante a fase de diestro (7). A resistência a insulina durante o diestro pode estar associada as elevadas concentrações de progesterona e do hormônio de crescimento, estes são importantes fatores envolvidos na maior predisposição ao desenvolvimento da doença (8). No entanto o desenvolvimento da *Diabete mellitus* durante a fase de diestro parece ser multifatorial (9-11).

A imunoendocrinologia evidenciou uma série de correlações entre o processo inflamatório e os efeitos da insulina (12-14). A interleucina-1 (IL-1) reduz a liberação e a fusão de grânulos secretores de insulina em células  $\beta$  pancreáticas, com decréscimos

preferencial da primeira fase de exocitose, característica da fase pré-diabética no *Diabetes mellitus* tipo I (15). No sistema nervoso central a IL-1 reduz o ponto de ajuste da glicose, favorecendo a captação de glicose pelas células imunes durante a resposta inflamatória (13).

A sinalização da insulina é um processo muito complexo que envolve múltiplos caminhos e cascatas de eventos de fosforilação (16). O primeiro passo para a sinalização de insulina após a ligação do hormônio para a subunidade alfa do receptor de insulina é a indução de uma complexa cascata de fosforilação em tirosina na subunidade beta. Quando fosforilada nestes locais específicos, a subunidade beta inicia uma série de fosforilações em substratos intracelulares. A fosforilação de um substrato sintético como o Poly oligopeptídeos (Glu 4:Tyr 1) fornece uma boa maneira de avaliar a atividade do receptor de insulina em mamíferos (2).

O objetivo deste estudo foi verificar o impacto do ciclo estral e da piometra sobre a concentração sérica da insulina.

## MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo foram utilizadas 12 cadelas acompanhadas durante o ciclo estral, divididas em três grupos, proestro, estro e diestro, de acordo com o resultado da concentração sérica de progesterona e citologia vaginal, todas elas participaram nos três grupos. Foi realizada uma coleta de cada cadela no período da manhã para cada fase do ciclo estral, sendo colhido um total de 12 amostras para cada fase. A idade das cadelas variou de 2 a 11 anos, com idade média de 4,5 anos e pesando entre 4 e 32 Kg, com peso médio de 15,4 Kg. Por participarem de outro experimento, as cadelas foram castradas na fase de diestro. Durante a fase de anestrose, considerada de repouso reprodutivo, não há alterações hormonais. Outros dois grupos foram formados por cadelas com diagnóstico de piometra, sendo 24 com presença de secreção purulenta, mucopurulenta ou sanguinolenta e seis apresentando piometra de cérvix fechada. O diagnóstico de piometra foi realizado pelo histórico clínico, exames físico e complementares como hemograma e avaliação ultrassonográfica, neste caso as amostras eram coletadas antes do procedimento cirúrgico de ovariectomia, realizado como forma de tratamento. As cadelas apresentavam idades entre 3 e 17 anos, com média de 8,5 anos e pesando entre 3 e 42 Kg, com média de 18 Kg.

Os animais foram atendidos na área de Reprodução de Pequenos Animais do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP campus Botucatu

O sangue foi colhido por venopunção da veia jugular em frascos sem anticoagulante (Vacuplast® esteril - USA) e levado ao laboratório de Reprodução de Pequenos Animais e Silvestres onde foi centrifugado (Centrífuga LS-3 – Celm® - 1700x g) por 10 minutos para obtenção do soro e os tubos identificados com nome, número de registro dos animais e data, sendo armazenado a temperatura de -18°C até o momento da avaliação. As dosagens de insulina e progesterona foram realizadas utilizando kits comerciais em fase sólida (Coat A – Count Diagnostics Products Corporation - CDP, Los Angeles, Califórnia, USA), com leitura por sistema de radioimunoensaio (Packard Cobra II Auto Gamma- GMI Inc. – Minnesota - USA) seguindo-se as instruções do fabricante. As dosagens foram realizadas no Laboratório de Endocrinologia do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Campus de Botucatu. O coeficiente de variação intra-ensaio foi de 1,00 e 0,99 respectivamente.

Para fins de interpretação, as análises estatísticas foram realizadas comparando-se as diferenças entre os grupos (pro-estro, estro, diestro, piometra aberta e piometra fechada) por meio de análise de variância de uma via (ANOVA) posteriormente do teste não paramétrico

Kruskal-Wallis, utilizando o programa GraphPad InStat 3.1 para Windows Vista, considerando-se significativa uma diferença entre médias com  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta as médias e o erro padrão da concentração de insulina dos grupos estudados durante o ciclo estral e nas cadelas com piometra. Não houve diferença significativa entre o grupo piometra aberta e fechada. Nas diferentes fases do ciclo estral também não foram observadas diferenças significativas nos valores da insulina basal. No entanto, as cadelas com piometra apresentaram valores médios inferiores aos observados nas fases de pró-estro e diestro.

Tabela 1. Valores médios basais de insulina (ng/ml) e erro padrão dos grupos pró-estro, estro, diestro, piometra aberta (PA) e piometra fechada (PF).

Grupos	Médias $\pm$ Erro Padrão
Pró-estro	4,81 $\pm$ 1,148 <sup>a</sup>
Estro	4,24 $\pm$ 1,279
Diestro	3,54 $\pm$ 0,626 <sup>b</sup>
PA	1,80 $\pm$ 0,400
PF	1,01 $\pm$ 0,181

<sup>a</sup> representa a diferença ( $P < 0,01$ ) entre o grupo pró-estro comparado a PA e PF; <sup>b</sup> diferença ( $p < 0,05$ ) entre o grupo diestro comparado PA e PF.

## DISCUSSÃO

Cerca de 70% dos casos de *Diabete mellitus* em cães ocorreram em fêmeas, sendo que na maioria dos casos observou-se que o início da doença está associado ao período de diestro (7).

Estudos dos receptores de insulina no tecido muscular esquelético de fêmeas caninas evidenciaram que a ocorrência das fases do ciclo estral interfere nos mecanismos fisiológicos de sinalização da insulina. Menor atividade tirosina quinase, pode estar associada a menor ativação do receptor, no entanto, o tecido muscular responde a esta menor sensibilidade com aumento na capacidade total de ligação a insulina, motivo pelo qual não se observaram alterações marcantes na glicemia durante um desafio com glicose em um teste de tolerância intravenoso (2).

No presente estudo não observou-se diferenças significativas na dosagem de insulina em cadelas nas diferentes fases do ciclo estral, corroborando com outros trabalhos (1). Contudo, inúmeros trabalhos indicaram a resistência a concentração de insulina durante o diestro (7,10,17-20).

Classicamente, a resistência a insulina observada durante o diestro foi atribuída aos efeitos diretos da progesterona sobre a sensibilidade a insulina e liberação de hormônio de crescimento (GH) pela glândula mamária estimulada pela progesterona. Apesar disso, alguns autores consideram que o diestro não é suficiente para promover diabetes em cães, mas que a progesterona poderia induzir a diabetes especialmente se há outros fatores de risco associados (7,11,21). Em nosso estudo a fase de diestro apresentou uma dosagem sérica menor que os grupos de piometra, mas não se diferiu quando comparada as outras fases do ciclo estral.

Durante uma resposta inflamatória aguda, ocorreram alterações metabólicas de forma a permitir maior aporte de nutrientes para o sistema imunológico, neste quesito, a presença de



um estado de resistência a insulina moderada promove menor captação de glicose pelo tecido muscular e adiposo. Citocinas pró inflamatórias como a IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  são responsáveis pelo aumento nos lipídios, estimulando a gliconeogênese e a produção de hormônios diabetogênicos e reduzem a sensibilidade a insulina (12,22).

As cadelas com piometra, neste estudo, apresentaram dosagens de insulina menor do que as cadelas em pró-estro e diestro e não se diferiram significativamente das cadelas em estro. Esses resultados diferem de alguns estudos em que cadelas com piometra apresentando insulinemia superior as cadelas em diestro, indicando um estado de resistência a insulina. Não houve padronização na alimentação das cadelas com piometra. Esta patologia é de caráter emergencial e tem como conduta, na maioria das vezes, a intervenção cirúrgica. Este fato pode ter interferência na dosagem da insulina nestes grupos (1).

Durante o estro, diestro e na piometra existe baixa capacidade de ligação de insulina demonstrada na resistência a insulina no tecido muscular de cadelas. No entanto, as cadelas em estro e diestro são capazes de compensar esta situação aumentando a capacidade total de ligação a insulina, não sendo observado nos casos de piometra (2). A resistência a insulina promovida pela piometra é acompanhada de maior atividade das células beta pancreáticas, resultando em maior insulinemia (23). Os grupos piometras em nosso estudo apresentaram dosagens séricas de insulina menores quando comparados aos outros grupos formados pelas diferentes fases do ciclo estral.

## CONCLUSÃO

A importância de eventos relacionados ao receptor de insulina ou eventos pós-receptor no desenvolvimento da *Diabete mellitus* canina ainda são pouco conhecidos.

A piometra demonstrou ter as menores concentrações de insulina em relação as fases do ciclo estral. Um novo campo de investigação foi aberto sobre os mecanismos moleculares envolvidos no desenvolvimento do diabetes em cães e novos experimentos e análises permitirão esclarecer esta interação imuno-endócrina.

## REFERÊNCIAS

1. Poppl AG, Lasta C, Diaz Gonzalez FH, Kucharski LCR, Silva RSM. Índices de sensibilidade à insulina em fêmeas caninas: efeito do ciclo estral e da piometra. *Acta Sci Vet.* 2009;37:361-70.
2. Poppl AG, Valle SC, Beck CAC, Diaz Gonzalez FH, Kucharski LCR, Silva RSM. Effect of estrus cycle and pyometra on insulin receptor tyrosine quinase activity and insulin receptor binding in female dogs. *Clin Vet.* 2009;14:136-8.
3. Smith FO. Canine pyometra. *Theriogenology.* 2006;66:610-2.
4. Pretzer SD. Clinical presentation of canine piometra and mucometra: a review. *Theriogenology.* 2008;70:359-63.
5. Guptill L, Glickmam L, Glickman N. Time trends and risk factors for diabetes mellitus in dogs: analysis of veterinary medical data base records. *Vet J.* 2003;165:240-7.
6. Catchpole B, Ristic JM, Fleeman LM, Davison LJ. Canine diabetes mellitus: can old dogs teach us new tricks? *Diabetologia.* 2005;48:1948-56.

7. Poppl AG, Diaz Gonzalez FH. Aspectos epidemiológicos e clínico-laboratoriais da diabetes mellitus em cães. *Acta Sci Vet.* 2005;33:33-40.
8. Poppl AG, Souza FE, Neves KS, Beck CAC, Leal JS, Driemeier D, et al. Influência do complexo hiperplasia endometrial cística – piometra na sensibilidade periférica à insulina e predisposição à diabetes mellitus: resultados preliminares. *Acta Sci Vet.* 2007;35:465-7.
9. Rijnberk A, Kooitra HS, Mol JA. Endocrine diseases in dogs and cats: similarities and differences with endocrine diseases in humans. *Growth Horm IGF Res.* 2003;13:158-64.
10. Selman PJ, Mol JA, Rutteman GR, Rijnberk A. Progestin treatment in the dog. Effects on growth hormone, insulin-like growth factor and glucose homeostasis. *Eur J Endocrinol.* 1994;131:413-21.
11. Scaramal JD, Renauld A, Gomez NV, Garrido D, Wanke MM, Maequez AG. Natural estrous cycle in normal and diabetic bitches in relation to glucose and insulin tests. *Medicina (B Aires).* 1997;57:169-80.
12. Grimble RF. Inflammatory status and insulin resistance. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2002;5:551-9.
13. Del Rey A, Roggero E, Randolph A, Mahuad C, Mccann S, Rettori V, et al. IL-1 resets glucose homeostasis at central levels. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;3:16039-44.
14. He J, Usui I, Ishizuka K, Kanatani Y, Hiratani K, Iwata M, et al. Interleukin-1 $\beta$  inhibits insulin signaling with phosphorylating insulin receptor substrate-1 on serine residues in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Endocrinol.* 2006;20:114-24.
15. Ohara-Imaizumi M, Cardozo AK, Kikuta T, Eizirik DL, Nagamatsu S. The Cytokine Interleukin-1 $\alpha$  reduces the docking and fusion of insulin granules in pancreatic  $\beta$ -cells, preferentially decreasing the first phase of exocytosis. *J Biol Chem.* 2004;279:41271-4.
16. Hotamisligil GS. Inflammatory pathways and insulin action. *Int J Obesity.* 2003;27:53-5.
17. Poppl AG, Mottin TS, Dias CB, Breitsmater I, Beck CAC, Lasta C, et al. Estudo preliminar da ligação hormônio-receptor da insulina em membranas de músculo e da tolerância à glicose em fêmeas caninas durante o ciclo estral. *Acta Sci Vet.* 2007;35:462-4.
18. Eingenmann JE, Eingenmann RY, Rijnberk A, Gaag I, Zapf J, Froesch ER. Progesterona-controlled growth hormone overproduction and naturally occurring canine diabetes and acromegaly. *Acta Endocrinol.* 1983;104:167-76.
19. Batista M, Smith MS, Snead WL, Connolly CC, Lacy DB, Moore MC. Chronic estradiol and progesterone treatment in conscious dogs: effects on insulin sensitivity and response to hypoglycemia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005;289:1064-73.
20. Johnson CA. Glucose homeostasis during canine pregnancy: insulin resistance, ketosis, and hypoglycemia. *Theriogenology.* 2008;70:1418-23.
21. Hoenig M. Comparative aspects of diabetes mellitus in dogs and cats. *Mol Cell Endocrinol.* 2002;197:221-9.

22. Das UN. Insulin in sepsis and septic shock. J Assoc Phys India. 2003;51:695-700.
23. Matthews D, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting glucose and insulina concentrations in man. Diabetologia. 1985;28:412-9.

**Recebido em: 04/10/11**

**Aceito em: 01/02/12**

## ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS E CITOLÓGICOS DO LEITE NA MASTITE CAPRINA SUBCLÍNICA

Helio Langoni<sup>1\*</sup>  
Juliana Cristina Cardoso Citadella<sup>2</sup>  
Gustavo Puglia Machado<sup>3</sup>  
Patrícia Yoshida Faccioli<sup>3</sup>  
Simone Baldini Lucheis<sup>4</sup>  
Aristeu Vieira da Silva<sup>5</sup>

### RESUMO

O leite caprino é um produto importante na alimentação humana, pois além de elevado teor nutritivo é indicado para crianças, idosos e pessoas debilitadas, e aceito por indivíduos que têm intolerância ao leite bovino. Foram examinadas 720 amostras de leite de 378 cabras leiteiras das raças Saanen e Anglo-Nubiana procedentes de dez propriedades rurais localizadas no estado de São Paulo e Minas Gerais, pelo California Mastitis Test (CMT), cultivando as amostras a partir da reação +. Foram isolados *Staphylococcus aureus* (34,6%), *Staphylococcus epidermidis* (26%), *Staphylococcus caprae* (25%), *Streptococcus dysgalactiae* (6,7%), *Corynebacterium bovis* (2,9%), *Streptococcus uberis* (1,9%), *Escherichia coli* (1,9%) e *Micrococcus* spp (1%). A média de Contagem de Células Somáticas (CCS) variou entre 119,8 a 899,5 CCS/mL de leite nas propriedades estudadas. Apesar de não ter-se encontrado correlação significativa entre CMT e CCS/mL de leite, deve-se considerar o aumento significativo da CCS nas amostras de leite com reação +++ ao CMT. Pode-se considerar que a ocorrência de mastite subclínica na espécie caprina é elevada e que a microbiota é ampla e o *S. aureus* foi o de maior ocorrência.

**Palavras-chave:** caprino, leite, microbiologia, citologia

## CYTOLOGICAL AND MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF MILK ON GOAT'S SUBCLINICAL MASTITIS

### ABSTRACT

Goat's milk is an important product in human alimentation, since it presents an elevated nutritional content indicated for children, the elderly and the disabled. It is accepted by persons who are intolerant to bovine milk. 720 samples of goat's milk were collected from 378 dairy goat's of Saanen and Anglo-Nubian race coming from ten rural properties within the Brazilian state of São Paulo (n=8) and Minas Gerais (n=2), by California Mastitis Test (CMT), cultivating samples from the reaction +. Were isolated *Staphylococcus aureus* (34.6%), *Staphylococcus epidermidis* (26%), *Staphylococcus caprae* (25%), *Streptococcus dysgalactiae* (6.7%), *Corynebacterium bovis* (2.9%), *Streptococcus uberis* (1.9%),

<sup>1</sup> Professor Titular - FMVZ - UNESP - Botucatu-SP. Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 1A.

\* Autor para correspondência: Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Distrito de Rubião Junior s/n, CEP 18.618-970, Botucatu-SP. hlangoni@fmvz.unesp.br

<sup>2</sup> Bolsista de Iniciação Científica - FAPESP - Processo: 2006/07123

<sup>3</sup> Doutorandos da FMVZ - UNESP - Botucatu-SP.

<sup>4</sup> Pesquisadora da Agência Paulista Tecnológica dos Agronegócios - APTA/SAA - Pólo Centro-Oeste - Unidade de Pesquisa de Bauru.

<sup>5</sup> Prof. Adjunto, UEFS, Feira de Santana, Bahia.

*Escherichia coli* (1,9%), and *Micrococcus spp* (1%). The average of Somatic Cells Counts (SCC) range from 119.8 to 899.5 SCC/mL of milk. Despite not having found a significant correlation between CMT and SCC/mL of milk, the significant SCC increase of milk samples with reaction +++ to CMT must be considered. Consider that there is occurrence of subclinical mastitis in goats is high, the microbiota is wide and *S. aureus* was the most frequent.

**Key-words:** goat, milk, microbiology, cytology

## ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS Y CITOLÓGICOS DE LA LECHE EN MASTITIS CAPRINA SUBCLÍNICA

### RESUMEN

La leche de cabra es un producto importante para la alimentación humana, y debido a su alto contenido nutricional es adecuado para niños, ancianos, personas físicamente debilitadas e individuos intolerantes a la leche de bovino. Por medio del California Mastitis Test (CMT), fueron analizadas 720 muestras de leche de 378 cabras lactantes de las razas Saanen y Anglo-Nubiana provenientes de diez propiedades rurales del estado de São Paulo (n=8) y Minas Gerais (n=2). El cultivo de las muestras fue realizado a partir de la reacción + a CMT. Fueron aislados *Staphylococcus aureus* (34,6%), *Staphylococcus epidermidis* (26%), *Staphylococcus caprae* (25%), *Streptococcus dysgalactiae* (6,7%), *Corynebacterium bovis* (2,9%), *Streptococcus uberis* (1,9%), *Escherichia coli* (1,9%) y *Micrococcus spp* (1%). El promedio del conteo de células somáticas (CCS) varió de 119,8 a 899,5 CCS/mL de leche en las propiedades estudiadas. A pesar de no haber sido encontrada una correlación significativa entre la CMT y el CCS/mL, se debe considerar el aumento significativo de CCS en las muestras de leche con reacción +++ al CMT. La ocurrencia de mastitis subclínica en la especie caprina es alta, la microbiota es amplia y *S. aureus* fue el microorganismo más frecuente.

**Palabras-clave:** cabra, leche, microbiología, citología

### INTRODUÇÃO

A qualidade do leite está diretamente associada a saúde, alimentação e manejo dos animais, bem como à qualidade da mão-de-obra, manejo adequado dos equipamentos e utensílios utilizados durante a ordenha e transporte até a indústria. O leite caprino é importante para a alimentação humana e considerado um substituto nos casos de intolerância ao leite bovino. Apesar de sua importância como alimento, pode veicular uma série de microorganismos patogênicos para o homem.

Os agentes etiológicos identificados na mastite caprina, são semelhantes aos encontrados na mastite bovina, como estafilococos coagulase positivos (ECP), estafilococos coagulase negativos (ECN), *Streptococcus spp.*, *Escherichia coli* entre outros (1). Na forma subclínica, são isolados com maior frequência os ECN (2-4). As infecções relacionadas aos *S. aureus* são na maioria das vezes atribuídas à higiene inadequada durante a ordenha, pela sucção excessiva do cabrito ou pelo contato com pastagens contaminadas, podendo levar a quadros de mastites gangrenosas, devido às toxinas específicas responsáveis por lesões graves na mama, como a  $\alpha$ -toxina que produz a necrose dos alvéolos (5).

Langoni et al. (6) encontraram *Staphylococcus epidermidis* (50%), *Streptococcus agalactiae* (13,6%), *Staphylococcus aureus* (11,4%), *Corynebacterium bovis* (8,6%) e

*Candida albicans* (5%), em amostras de leite de cabras com mastite subclínica, das raças Saanen, Parda Alpina e Toggenburg. Trabalhando com 1295 amostras de leite a partir de metades mamárias, Mendonça et al. (7) obtiveram 41,2% de animais não infectados, 17,7% infectados com patógenos menores e 41,1% com patógenos maiores. Consideraram que do total de amostras examinadas, 58,89% tratavam-se provavelmente de casos subclínicos de mastites.

As células somáticas constituem diferentes elementos celulares presentes no leite, compreendendo células de defesa do organismo e células epiteliais de descamação. A CCS é utilizada como um indicador de mastites subclínicas, sendo que altas contagens podem estar associadas com diminuição na produção e prejuízo na qualidade do leite (8). Entre outros fatores que podem provocar aumento na CCS, estão as mastites, sobretudo as bacterianas (9). A pesquisa de células somáticas no leite é uma ferramenta importante de acompanhamento do estado sanitário do úbere e qualidade do leite, já que nas mastites a CCS está aumentada (8).

Os pequenos ruminantes, principalmente os caprinos, podem fisiologicamente apresentar maior quantidade de células no leite não relacionado, necessariamente ao processo inflamatório, embora haja correlação negativa entre a produção de leite e a celularidade do leite de caprinos. O CMT e a CCS são os métodos mais utilizados em caprinos e há uma relação direta entre eles (10). A precisão do CMT na espécie caprina é discutível, pela presença de células epiteliais que reagem com os leucócitos (11). Devem ser consideradas como positivas as reações com grau máximo de gelificação, pois o leite caprino apresenta CCS fisiologicamente elevada e, apesar de ainda não haver limite estabelecido, não é rara a ocorrência de cabras com contagens superiores a 1.000.000 cel/mL (12), fato que se acentua no final da lactação, mesmo na ausência de infecções intramamárias (9).

Considerando-se a importância do conhecimento da microbiota nos casos de mastites para adoção de medidas de controle, o presente trabalho teve como objetivo estudar os patógenos presentes em amostras de leite caprino, de acordo com os resultados obtidos no CMT (1+ a 3+), e pela contagem eletrônica de células somáticas (mL/leite).

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 378 cabras das raças Saanen e Anglo-Nubiana, de dez propriedades rurais, localizadas nos estados de São Paulo (n=8) e Minas Gerais (n=2). Antes da colheita das amostras de leite, as metades mamárias foram examinadas, avaliando-se a textura do parênquima, a presença ou não de nódulos, áreas de fibrose e abscessos. Após o exame físico, realizou-se a lavagem com água corrente e antissepsia das metades mamárias com solução pré-dipping de tintura de iodo a 0,5%, e secagem com papel toalha descartável. Foram examinados os primeiros jatos de leite em caneca de fundo escuro de 720 tetos, pois 36 apresentavam-se fibrosados ou perdidos.

Foi realizado o teste do CMT como triagem, segundo Schalm e Noorlander (13), em 720 tetos considerando-se positivas as reações 1+, objetivando avaliar a relação CMT/CCS, de acordo com o grau de reação ao CMT. Após serem desprezados os três primeiros jatos de leite e realizada a antissepsia, foram colhidos 5 mL de leite, em tubos estéreis, das amostras consideradas positivas para realização dos exames microbiológicos e transportadas ao laboratório em caixas isotérmicas, sob temperatura de refrigeração.

A pesquisa dos micro-organismos nas amostras positivas foi realizada semeando-se 0,1 mL de leite de cada amostra em meio de ágar sangue com 5% de sangue ovino e em ágar MacConkey. As placas foram incubadas a 37°C e o desenvolvimento microbiano foi observado às 24, 48 e 72 horas. Estudou-se a morfologia das colônias, anotando-se características de tamanho, forma, produção ou não de pigmento e hemólise, tendo-se considerado como cultura positiva quando houve o isolamento de pelo menos três colônias de

um mesmo micro-organismo, exceto para *S. aureus*, que foi considerada como positiva a partir de uma colônia. Quando houve o isolamento de três ou mais micro-organismos, considerou-se como contaminadas (14).

De cada micro-organismo isolado, repicou-se de 1 a 3 colônias para o meio de caldo cérebro-coração (BHI), para caracterização bioquímica de acordo com Quinn et al. (15). Independente do resultado do CMT, obteve-se amostra de 50 mL de leite de cada metade mamária para realização da CCS eletrônica em aparelho SOMACOUNT-300® (Bentley).

Os resultados obtidos foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis e coeficiente de Spearmann no programa estatístico *Statistical Analysis System* (SAS) (16), comparando as frequências de isolamento dos diferentes micro-organismos nas dez propriedades e os resultados obtidos na CCS/mL de leite, bem como das médias e medianas de cada propriedade avaliada.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes ao CMT, de acordo com o grau de reação nas dez propriedades estão apresentados na tabela 1. Foram encontrados 66,8% de amostras negativas e 13,9%, 6,8% e 12,5% com reações +, ++ e +++, respectivamente. Analisando-se o resultado especificamente para as reações 3+, verifica-se 12,5% de mastite subclínica, que está de acordo com Perrin et al. (17). Na interpretação dos resultados do CMT deve-se considerar como infecção intramamária as reações com gelificação intensa (11), característica das reações +++. No presente estudo considerou-se como positivas as reações a partir do escore 1+, procurando-se correlacionar os resultados do CMT com a CCS de cada amostra de leite, como mostra a tabela 3.

Tabela 1. Resultados em percentual (%) dos exames do CMT em leite caprino, de acordo com o grau de positividade nas propriedades dos estados de São Paulo e Minas Gerais, 2011.

Propriedades	n° de tetos	California Mastitis Test							
		-		+		++		+++	
		n	%	n	%	n	%	n	%
1	104	55	52,9	21	20,2	8	7,7	20	19,2
2	10	2	20	3	30	-	-	5	50
3	20	6	30	10	50	1	5	3	15
4	180	129	71,7	28	15,6	8	4,4	15	8,3
5	71	59	83,1	7	9,9	2	2,8	3	4,2
6	40	24	60	3	7,5	4	10	9	22,5
7	42	25	59,5	8	19	1	2,4	8	19
8	56	44	78,6	5	8,9	3	5,4	4	7,1
9	122	98	80,3	9	7,4	3	2,5	12	9,8
10	75	39	52	6	8	19	25,3	11	14,7
Total	720	481	66,8	100	13,9	49	6,8	90	12,5

Os resultados das médias e medianas da CCS/mL de leite das amostras de leite individuais, em cada propriedade estão apresentados na tabela 2. Ao avaliar individualmente cada propriedade observa-se grande variação entre elas, mas de acordo com o limite estabelecido como normalidade nos Estados Unidos que é de  $10^6$  CCS/mL de leite (18), os resultados são favoráveis. Esta variação nos resultados deve estar relacionada com as características dos sistemas de produção de cada propriedade, com o manejo sanitário adotado e com as diferenças entre o número mínimo de animais em lactação de cada propriedade, pois foram examinadas todas as cabras em lactação de cada uma delas, pois o objetivo principal era avaliar a ocorrência de mastite em cada propriedade.

Tabela 2. Médias e medianas da CCS/mL de leite nas amostras de leite caprino individual, em propriedades dos estados de São Paulo e Minas Gerais, 2011.

Propriedades	nº de tetos	CCS/mL de leite (x 1000 cél/mL)	
		Média	Mediana
1	104	364,6	43
2	10	899,5	767
3	20	346,5	12
4	180	131,9	43
5	71	412,9	280
6	40	267,1	67,5
7	42	119,8	81
8	56	243,5	114
9	122	388,9	207,5
10	75	764,3	700

A análise da tabela 3, mostra que à medida que aumenta o grau de reação do CMT, há uma tendência ao aumento na CCS/ml de leite, o que é esperado nas mastites subclínicas, mostrando a importância de se estabelecer ao CMT positividade a partir da reação 3+, reforçando a necessidade de estudos não somente com a CCS/mL de leite eletrônica, mas também microscópica para melhor interpretação dos resultados quanto à infecção, o que permite ainda avaliar a resposta celular de polimorfonucleares nas amostras de leite.

Quanto à microbiota encontrada, *S. aureus* foi o patógeno de maior ocorrência (34,6%), seguido pelo *S. epidermidis* (26%), *Staphylococcus caprae* (25%), *Streptococcus dysgalactiae* (6,7%), *Corynebacterium bovis* (2,9%), *Streptococcus uberis* (1,9%), *Escherichia coli* (1,9%) e *Micrococcus* spp. (1%). Além da múltipla etiologia encontrada, característica das mastites, ocorreram diferenças quanto ao percentual de patógenos isolados entre as propriedades, aspecto relevante na epidemiologia desta afecção independentemente das espécies, fato também reportado por Meirelles et al. (2) para a espécie caprina.

Trabalho realizado no Reino Unido (4) com 159 cabras demonstrou que 53 apresentavam mastite subclínica, sendo que ECN foram os micro-organismos mais frequentes (47%), seguido pelo *Corynebacterium bovis* (31%) e *Staphylococcus aureus* (13%). O isolamento de ECN no presente trabalho corrobora com muitos autores que relatam a participação destes micro-organismos nas infecções intramamárias em cabras leiteiras (2,7). Estudo realizado com 70 cabras no Brasil por Da Silva et al. (3) revelou ECN em 60% das



amostras, sendo *S. warneri* encontrado com maior frequência, seguido por *S. aureus* (37%), valor muito próximo ao encontrado no presente estudo (34,6%).

Tabela 3. Estatística descritiva dos valores de CCS segundo o grau de reação ao CMT, de amostras de leite caprino, com mastite subclínica em propriedades dos estados de São Paulo e Minas Gerais, 2011.

Estatística	Valores de CMT		
	+	++	+++
N	96	42	86
Mínimo	0	2	5
Máximo	3537	1448	6104
Mediana	46 <sup>a</sup>	146 <sup>b</sup>	402,5 <sup>c</sup>
P25	17	88,8	126,8
P75	142,3	283,5	879,5
Média	183,8	273,3	725,3
Média geométrica	56,3	133,2	335,9

Valores de mediana seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas entre os escores de CMT, pelo teste de Kruskal-Wallis,  $p < 0,0001$ .

O estudo de Mota et al. (19) avaliou a etiologia e sensibilidade a antimicrobianos in vitro de bactérias isoladas de leite de cabras com mastites, procedentes da região metropolitana do Recife - PE, e revelou como principais patógenos, linhagens de *Staphylococcus* spp.

Ainda que alguns autores considerem os ECN menos importantes na etiologia das mastites caprinas, Sheldrake et al. (20) demonstraram que a CCS de caprinos infectados com ECN foi mais alta do que a de animais não infectados e Dulin et al. (21), também consideram os ECN como patógenos de importância nas infecções intramamárias de caprinos.

A relevância dos ECN como patógenos na glândula mamária é bastante discutida, mas tem-se demonstrado em diferentes pesquisas que estes micro-organismos vem assumindo grande importância nas mastites, frequentemente como agentes causadores de mastites subclínicas (3,4,6).

## CONCLUSÃO

Pode-se concluir que nas propriedades estudadas, a prevalência de mastites subclínicas é elevada, havendo uma microbiota variável, sendo *S. aureus* o principal patógeno. Não foi possível estabelecer uma correlação significativa entre o CMT e a CCS/mL de leite, entretanto deve-se considerar o aumento significativo da CCS nas amostras de leite positivas com reação +++ ao CMT.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pelo suporte financeiro da bolsa de Iniciação Científica Processo 2006/07123 e aos bolsistas de Iniciação Científica: Daniel da Silva Penachio e Felipe Laurino, pelo auxílio nas coletas das amostras de leite.

**REFERÊNCIAS**

1. Langoni H, Da Silva AV, Cabral KG, Domingues PF. Aspectos etiológicos na mastite bovina: flora bacteriana aeróbica. *Rev Bras Med Vet.* 1998;20:204-9.
2. Meirelles LR, Gottschalk S, Da Silva AV, Cabral KG, Langoni H. Monitoramento microbiológico e avaliação de provas diagnósticas na mastite caprina. *Napgama.* 1999;6:17-9.
3. Da Silva ER, Siqueira AP, Martins JCD, Ferreira WPB, Da Silva N. Identification and in vitro susceptibility of *Staphylococcus* species isolated from goat mastitis in the Northeast of Brazil. *Small Rumin Res.* 2004;55:45-9.
4. Hall SM, Rycroft AN. Causative organisms and somatic cell counts in subclinical intramammary infections in milking goats in the UK. *Vet Rec.* 2007; 160:19-22.
5. Anderson DE, Hull BL, Pugh DG. *Enfermidades da glândula mamária.* In: Pugh DG. *Clínica de ovinos e caprinos.* São Paulo: Roca; 2005.
6. Langoni H, Domingues PF, Baldini S. Mastite caprina: seus agentes e sensibilidade frente a antimicrobianos. *Rev Bras Cienc Vet.* 2006;31:51-4.
7. Mendonça A, Valentim R, Maurício R, Cardoso M, Correia T, Coelho A. Mastites subclínicas em cabras serranas. Resultados preliminares. *Rev Port Cienc Vet.* 2007;6:17-9.
8. Harmon RJ. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J Dairy Res.* 1994;77:2103-12.
9. Andrade PVP, Souza MR, Borges I, Penna CFAM. Contagem de células somáticas em leite de cabra. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2001;53:169-75.
10. Schuppel H, Schwoppe M. Diagnosis of mastitis in goats using the California Mastitis Test and measurement of electric conductivity. *Arch Lebensmittelhyg.* 1998;49:61-4.
11. Barcellos TFS, Silva N, Marque Júnior AP. Mastite caprina em rebanhos próximos a Belo Horizonte - Minas Gerais. I - Etiologia e sensibilidade a antibiótico. II - Métodos de diagnóstico. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 1987;39: 307-15.
12. Zeng SS, Escobar EN. Comparisons of goat milk standards with cow milk standards for analyses of somatic cell count, fat and protein in goat milk. *Small Rumin Res.* 1996;21:30-4.
13. Schalm GN, Noorlander DD. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *J Am Med Assoc.* 1957;130:199-204.
14. National Mastitis Council. *Laboratory handbook on bovine mastitis.* Arlington: The National Mastitis Council - NCM; 1999.
15. Quinn PJ, Carter ME, Markey B. *Mastitis. Clinical veterinary microbiology.* London: Mosby-Year Book Europe Limited; 1994.

16. Statistical Analysis System. SAS User's Guide: statistics. Cary: SAS Institute Inc.; 2001.
17. Perrin GG, Mallereau MP, Lenfant D, Baudry C. Relationship between California Mastitis Test (CMT) and somatic cell counts in dairy goats. *Small Rumin Res.* 1997;26:167-70.
18. Paape MJ. Situation regarding the legal limit for somatic cell counts for goats in the United States, 2000. In: *Proceedings of the 7th International Conference on Goats, France; 2000, Tours. Tours; 2000. p.755-6.*
19. Mota RA, De Castro FJC, Da Silva LBG, Oliveira AAF. Etiologia e sensibilidade a antimicrobianos in vitro das bactérias isoladas do leite de cabras com mastite procedentes da Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. *Hora Vet.* 2000;19(114):26-9.
20. Sheldrake RF, Hoare RJT, Woodhouse VE. Relationship of somatic cell count and cell volume analysis of goat's milk to intramammary infection with coagulase-negative staphylococci. *J Dairy Res.* 1981;48:393-403.
21. Dulin AM, Paape MJ, Schultze WD, Weinland BT. Effect of parity, stage of lactation and intramammary infection on concentration of somatic cells and cytoplasmic particles in goat milk. *J Dairy Sci.* 1983;66:2426-33.

**Recebido em: 26/04/11**

**Aceito em: 28/02/12**

## Comitê de Avaliadores

Adelina Maria da Silva	Edson Ramos de Siqueira	José Luiz Catão Dias
Adjair Antônio do Nascimento	Eduardo Arruda T. Lanna	José Luiz Laus
Adriana Evangelista-Rodrigues	Eduardo Bagagli	José Maurício Sforcin
Adriano Sakai Okamoto	Eduardo Francisquine Delgado	José Paes de A. N. Pinto
Ailton Vitor Pereira	Eduardo Furtado Flores	José Paes de Oliveira Filho
Alan Maia Borges	Eduardo Harry Birgel Júnior	José Rafael Modolo
Alessandro F. T. Amarante	Eduardo Paulino da Costa	José Roberto Kfoury Júnior
Alexander Welker Biondo	Edviges Maristela Pituco	José Roberto Sartori
Alexandre Lima de Andrade	Eliana Curvelo	José Vasconcelos Lima Oliveira
Alexandre Oba	Eliana Roxo	Joselito Nunes Costa
Alexandre Secorun Borges	Elizabeth Oliveira da Costa	Jovanir I. Müller Fernandes
Alexandre Vaz Pires	Élvio Carlos Moreira	Julieta Rodini Engrácia de Moraes
Alice Maria Melville P. Della Libera	Enrico Lippi Ortolani	Júlio César de Freitas
Alicio Martins Júnior	Evelise Oliveira Telles	Júlio Lopes Siqueira
Altivo José de Castro	Fabiano Montiani Ferreira	Kátia Denise Saraiva Bresciani
Alvimar José da Costa	Fernanda da Cruz L. e Alvarenga	Kleber Tomás de Resende
Amauri Alcindo Alfieri	Fernando Antônio de Avila	Laerte Ferreiro
Américo G. da Silva Sobrinho	Fernando Ferreira	Lara Borges Keid
Ana Carolina B. C. Fonseca Pinto	Fernando Pandolfo Bortolozzo	Leucio Câmara Alves
Ana Liz Garcia Alves	Flávia de Rezende Eugênio	Lílian Gregory
Ana Paula Frederico R. L. Bracarense	Flavio Ruas de Moraes	Lisiane de A. Martins
Ana Sílvia A. M. T. Moura	Francisco Carlos Faria Lobato	Lissandro Gonçalves Conceição
Ana Terezinha Tavechio	Francisco José Teixeira Neto	Luciana Del Rio Pinoti Ciarlini
Andrey Pereira Lage	Francisco Leydson Formiga Feitosa	Luciana Morganti Ferreira Maselli
Ângelo João Stopiglia	Francisco Stefano Wechsler	Luciano José da Costa Figueiredo
Annelise de Souza Traldi	Frederico Ozanam Papa	Luís Carlos Vulcano
Antônio Carlos Alessi	Geder Paulo Herrmann	Luís Gustavo Corbellini
Antonio Carlos Cunha Lacrete Júnior	Germano Francisco Biondi	Luiz Alberto do Lago
Antônio Carlos Paes	Gervásio Henrique Bechara	Luiz Antônio Mathias
Antônio José de Araújo Aguiar	Gilson Helio Toniollo	Luiz Augusto do Amaral
Antonio Nader Filho	Guilherme Jordão Magalhães Rosa	Luiz Carlos de Souza
Antônio Sérgio Ferraudó	Gustavo Ferrer Carneiro	Luiz Fernando de O. S. Carvalho
Aparecido Antônio Camacho	Helenice de Lima González	Luiz Francisco Prata
Aramis Augusto Pinto	Helenice de Souza Spinosa	Luiz Francisco Zafalon
Áureo Evangelista Santana	Helio José Montassier	Luiz Henrique de Araújo Machado
Bernardete Miranda dos Santos	Henrique Nunes de Oliveira	Luzia Helena Queiroz
Bruna P. A. da Fonseca	Humberto Tonhati	Magda Alves de Medeiros
Bruno Watanabe Minto	Idércio Luiz Sinhorini	Marcelo Bahia Labruna
Caris Maroni Nunes	Iolanda Aparecida Nunes	Marcelo George Mungai Chacur
Carla Forte Maiolino Molento	Ivanete Kotait	Marcelo Meller Alievi
Carla Lopes de Mendonça	Ivanete Susin	Marcelo Resende de Souza
Carlos Alberto de M. Lopes	Iveraldo dos Santos Dutra	Marcelo Vasconcelos Meireles
Carlos Alberto Hussni	Ivo Wentz	Márcia C. da Sena Oliveira
Carlos Antônio de Miranda Bomfim	Izidoro Francisco Sartor	Márcia Marinho
Carlos Augusto A. Valadão	Jackson Victor de Araújo	Márcia Marques Jericó
Carlos Roberto Daleck	Jane Megid	Márcia Valéria Rizzo S. Szabó
Carlos Roberto Teixeira	Jean Carlos Ramos da Silva	Marcílio Dias S. da Mota
Carolina Madeira Lucci	Jean Guilherme F. Joaquim	Márcio Machado Ladeira
Cassiano Victória	Jener Alexandre S. Zuanon	Marco A. F. Lopes
Cecílio Soares Filho	João Carlos Pinheiro Ferreira	Marco Antonio Alvarenga
Célia Regina Orlandelli Carrer	João Guilherme P. Filho	Marco Antonio Gioso
Celso A. Rodrigues	João Pessoa Araújo Júnior	Marco Antonio Lemos de Oliveira
Cezinande de Meira	José Antônio Marques	Marconi Rodrigues de Farias
Ciniro Costa	José Antônio Viana	Marcos Amaku
Cláudia Valéria S. Brandão	José Antônio Visintin	Marcos Chalhoub Coelho Lima
Cláudio Dias Timm	José Augusto B. Afonso	Marcos Jun Watanabe
Claudio Scapinello	José Carlos de Andrade Moura	Marcos Veiga dos Santos
Daisy Pontes Netto	José Carlos de Andrade Moura	Margareth Elide Genovez
Daniel Augusto Barroso Lessa	José Cezar Panetta	Maria Angélica Miglino
Dante Pazzanese Duarte Lanna	José Dantas Ribeiro Filho	Maria Cecília Rui Luvizotto
Delphim da Graça Macoris	José Domingos Guimarães	Maria da Glória Buzinaro
Denise Botelho de O. Braga	José Fernando Machado Menten	Maria de Lourdes R. S. da Cunha
Dilermando Miranda da Fonseca	José Joaquim Titton Ranzani	Maria Denise Lopes
Dirlei Antônio Berto	José Juradir Fagliari	Maria Gisela Laranjeira
Domingos da Silva Leite	José Laerte Nörnberg	Maria Jaqueline Manprim

Maria Lucia Gomes Lorenço  
Maria Lúcia Zaidan Dagli  
Maria Luiza Delavechia  
Maria Madalena Pessoa Guerra  
Maria Terezinha S. Peraçoli  
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, key words, e palabras-clave que identifiquem o conteúdo do texto.

## 3. A estrutura do artigo deverá conter:

**Introdução:** Deve ser clara, objetiva e relacionada ao problema investigado e à literatura pertinente, bem como aos objetivos da pesquisa. A introdução estabelece os objetivos do trabalho.

**Material e Métodos:** Deve oferecer informações de reprodutibilidade da pesquisa, de forma clara e concisa, como variáveis, população, amostra, equipamentos e métodos utilizados, inclusive os estatísticos.

**Resultados:** Apresentação dos resultados obtidos, que devem ser descritos sem interpretações e comparações. Poderá ser sob a **forma de tabelas**, em folha à parte, no máximo de cinco, ordenadas em algarismos arábicos e encabeçadas pelo título, de acordo com as normas de apresentação tabular da ABNT/WBR 6023/2000 da Associação Brasileira de Normas Técnicas, identificadas no texto como Tabela; sob a **forma de figuras**, nos casos de gráficos, fotografias, desenhos, mapas, etc., ordenadas em algarismos arábicos, até no máximo de seis, e citadas no texto como Figura. Devem ser identificadas em folha à parte, onde deve constar o título do artigo. **Fotografias** podem ser em preto e branco ou coloridas, identificadas com o(s) nome(s) do(s) autor(es) no verso. No caso de **desenhos originais**, a impressão deve ser em papel adequado, de qualidade.

**Discussão:** Deve ser entendida como a interpretação dos resultados, confrontando com a literatura pertinente, apresentada na introdução. Se julgar conveniente, os resultados e a discussão poderão ser apresentados conjuntamente.

**Conclusões:** É a síntese final, fundamentada nos resultados e na discussão.

**Referências:** Devem ser apresentadas de acordo com as normas Vancouver (<http://www.icmje.org/>).

**Deverão** ser editorados em Microsoft Word for Windows, para edição de textos, Excel (qualquer versão) para gráficos, formato JPEG ou GIF (imagem) para fotografias, desenhos e mapas, formato A4 (21,0 x 29,7 cm), em espaço duplo, mantendo margens de 2,5 cm, nas laterais, no topo e pé de cada página, fonte Times New Roman, tamanho 12 e numeração consecutiva das páginas em algarismos arábicos, a partir da folha de identificação. Deverão também apresentar **numeração nas linhas, reiniciando a contagem a cada nova página**. Não serão fornecidas separatas. Os artigos estarão disponíveis no formato PDF no endereço eletrônico da revista. Para as demais seções da revista são válidas as normas anteriores. Não devem exceder a 15 páginas. Abreviaturas não usuais devem ser empregadas após escritas por extenso na primeira utilização.

## ARTIGOS DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os artigos de revisão bibliográfica serão publicados nas línguas portuguesa, inglesa e espanhola, quando o autor apresentar contribuição científica, relevante na área específica do assunto abordado, a convite dos editores.

Deverão conter: Título (português, inglês e espanhol), resumo com palavras-chave, abstract com key words 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 key words, 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", key words, 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 researchers to reproduce the results.

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

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

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

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

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

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

## REVIEW ARTICLES

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

## CASE REPORTS

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

## SHORT COMMUNICATIONS

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

## REFERENCES AND CITATIONS

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

**Examples:***Citations*

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

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

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

Herbsman et al. (7) realizaram osteoclasia manual no fêmur e não imobilizaram.

O rato apresenta níveis mais elevados de heparina que o homem (35,42,51).

O mesmo autor obteve resultados semelhantes, mesmo com metodologias diferentes (22-26).

*References*

List the first six authors followed by et al.

**1 Journal article**

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

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

**2 Organization as author**

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

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

**3 Book**

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

**4 Chapter in a book**

Corrêa MC, Corrêa CNM. Estafilococias em geral. In: Corrêa MC, Corrêa CNM. Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos. 2<sup>a</sup> 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<sup>o</sup> 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 Eletronic material on Internet

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

## REVISTA “VETERINARIA Y ZOOTECCIA”

### NORMAS PARA PRESENTACIÓN DE TRABAJOS

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

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

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

**Prof. Helio Langoni**

**Revista “Veterinaria y Zootecnia”**

**Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP - Botucatu**

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

### INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

#### ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

Deben ser estructurados de acuerdo con los siguientes puntos:

##### 1. Página principal, con:

- Título del trabajo en portugués, inglés y en español, tipo de letra Times New Roman, número 12, con espacio entre líneas sencillo, en negrilla y centrado, en letra mayúscula. Cuando sea necesario, indicar la entidad que financia la investigación, como primer pié de página;
- Nombres completos de los autores, en los cuales solamente la primera letra de cada nombre debe ser mayúscula, en lado derecho de la página. Digitalarlos separados un por línea, con **notas de pié** de página numeradas y en sobrescrito, **que indicarán** el cargo y la dirección profesional de los autores, seguidos de la institución donde el trabajo fue realizado o en las cuales están vinculados;
  - Nombre, dirección, teléfono, fax y correo electrónico para correspondencia.
  - En el caso de involucrar seres humanos o animales de experimentación, enviar el concepto de la Comisión de Ética o equivalente, destacando en el trabajo antes de las referencias y fecha de aprobación, así como el envío de la copia del concepto.

## 2. Página con resumen en Portugués, Inglés y Español.

- Tanto el “resumo”, como el “abstract”, así como el resumen, deben estar seguidos del título del trabajo, en el idioma respectivo y contener, como máximo 400 palabras cada uno, con informaciones referentes a la introducción, metodología, resultados y conclusiones. El texto debe estar ajustado (justificado) y digitado en un solo párrafo y a espacio de 1,5 iniciando por el “RESUMO”. El “Abstract”, y el Resumen, deben ser fiel traducción del “Resumo”. Independiente de la lengua que el artículo fue presentado deberá contener el resumen en portugués, inglés y español.

- Deben contener como máximo, cinco “palavras-chave” “key words”, 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. Deverán 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), resumo con palavras-chave, abstract con key words 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, resumo 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>>.