

Veterinária e Zootecnia

Vet e Zootec.

2017 setembro; 24(3): 410-631

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

ISSN Impresso 0102-5716

ISSN Eletrônico 2178-3764

Botucatu - SP – Brasil

Veterinária e Zootecnia

ISSN Impresso 0102-5716
ISSN Eletrônico 2178-3764

VETERINÁRIA E ZOOTECCIA
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
UNESP – Campus de Botucatu
18618-681 – Dist. Rubião Jr. – Botucatu – SP – Brasil
Portal: <http://www.fmvz.unesp.br/rvz>
E-mail: vetzootecnia@fmvz.unesp.br
Tel. +55 14 3880 2094

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

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

Trimestral

Texto em português/inglês/espanhol

Descrição baseada em: Vol. 24, n.1, mar. (2017)

ISSN Impresso 0102-5716

ISSN Eletrônico 2178-3764

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

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

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Administração Geral da UNESP

Reitor

Prof. Dr. Sandro Roberto Valentini

Vice-Reitor

Prof. Dr. Sergio Roberto Nobre

Pró-Reitor de Pesquisa

Prof. Dr. Carlos Frederico de Oliveira Graeff

Pró-Reitor de Pós-Graduação

Prof. Dr. João Lima Sant'Anna Neto

Pró-Reitor de Graduação

Prof^ª. Dr^ª. Gladis Massini-Cagliari

Pró-Reitor de Extensão Universitária

Prof^ª. Dr^ª. Cleopatra da Silva Planeta

Pró-Reitor de Planejamento Estratégico e Gestão

Prof. Dr. Leonardo Theodoro Büll

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Administração da FMVZ

Diretor

Prof. Dr. Celso Antonio Rodrigues

Vice-Diretor

Prof. Dr. Cezinande de Meira

Botucatu
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
FMVZ
2017

EXPEDIENTE**Comissão Editorial**

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

Assessoria Técnica

Editoração Eletrônica: José Luis Barbosa de Souza, Wellington Ricardo Guerra

Normalização Bibliográfica: Rinaldo José Ortiz

Revisor – Espanhol: Selene Daniela Babboni (FMVZ – UNESP/Botucatu)

Secretaria: Apoio: Wellington Ricardo Guerra

A Revista **Veterinária e Zootecnia**, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-UNESP, Campus de Botucatu, publica artigos científicos originais, artigos de revisão bibliográfica, relatos de casos e comunicações curtas, referentes às áreas de Medicina Veterinária e de Zootecnia, com periodicidade trimestral, em português, espanhol, ou inglês, sendo os conceitos e opiniões emitidas, de responsabilidade exclusiva dos autores. Poderá editar e disponibilizar em sua página na internet, suplementos de eventos científicos.

A publicação está condicionada à avaliação preliminar do presidente da Comissão Editorial, que analisa o mérito e os aspectos formais do trabalho, de acordo com a categoria do artigo submetido e normas editoriais estabelecidas. Se adequado, adotando-se o mérito da avaliação por pares, é encaminhado para dois assessores (relatores), de acordo com a área. Os pareceres são mantidos sob sigilo absoluto, não havendo possibilidade de identificação entre autores e pareceristas. Os artigos não publicados são devolvidos.

Os trabalhos devem ser encaminhados pela página da internet:
<http://www.fmvz.unesp.br/rvz>.

Prof. Dr. Helio Langoni

Revista “Veterinária e Zootecnia”

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Botucatu

18618-681 - Dist. Rubião Junior, s/n – SP – Brasil

Corpo Editorial

- Aristeu Vieira da Silva (UEFS/Feira de Santana)
Antônio Felipe P. F. Wouk (UFPR – Escola de Agronomia e Veterinária)
Benedito Correa (ICB – USP)
Carlos Robles (Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária – Argentina)
Geraldo Heleno Silveira Alves (UFMG – Escola de Veterinária)
Guilherme J. M. Rosa (School of Veterinary Medicine/Madison – Wisconsin – USA)
Hélio Autran de Moraes (Oregon State University - College of Veterinary Medicine - USA)
Italmar Teodorico Navarro (UEL/Londrina)
José Eduardo P. Santos (University of Florida – USA)
Juan A. M. Hirose (Centro Nacional de Servicios de Diagnóstico en Salud Animal - México)
Julio César Cambraia Veado (UFMG – Escola de Veterinária)
Leonardo José Richtzenhain (FMVZ – USP)
Luiz Cláudio Lopes Correia da Silva (FMVZ – USP)
Luciano dos Santos Bersot (UFPR/Palotina)
Maria Inácia Corrêa de Sá (Laboratório Nacional de Investigação Veterinária – Portugal)
Maria Julia B. F. Flaminio (Cornell University – Cornell – USA)
Maurício Costa Alves da Silva (UFBA/Salvador)
Ney Luiz Pippi (UFMS/Santa Maria)
Pamela Ruegg (School of Veterinary Medicine/Madison – Wisconsin – USA)
Paulo de Camargo Duarte (Colorado State University – USA)
Paulo Roberto Leme (USP – FZEA – Pirassununga)
Rinaldo Aparecido Mota (UFRPE/Recife)
Roberto Mauricio Carvalho Guedes (UFMG – Escola de Veterinária)
Rogério de Paula Lana (UFV/Viçosa)
Rômulo Cerqueira Leite (UFMG – Escola de Veterinária)
Solange Maria Gennari (FMVZ – USP)
Walter Motta Ferreira (UFMG – Escola de Veterinária)

SUMÁRIO/CONTENTS/SUMARIO

EDITORIAL	417
ARTIGOS DE REVISÃO/REVIEW ARTICLES/ARTÍCULOS DE REVISIÓN	
MECANISMOS DE AÇÃO DOS PRINCIPAIS ANTIOXIDANTES UTILIZADOS NA CRIOPRESERVAÇÃO ESPERMÁTICA DE GARANHÕES / KEY OF MECHANISMS OF ACTION ANTIOXIDANTS USED IN CRYOPRESERVATION SPERM STALLIONS / MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES QUE SE UTILIZAN EN CRIOPRESERVACIÓN ESPERMÁTICA DE CABALLOS. Luis Fernando Mercês Chaves Silva, Endrigo Adonis Braga de Araujo, Sidnei Nunes de Oliveira, Felipe Morales Dalanezi, Luiz Roberto Pena de Andrade Júnior, Fabiana Ferreira de Souza, André Maciel Crespilho, José Antonio Dell'Aqua Junior, Frederico Ozanam Papa	418
COLHEITA FRACIONADA E SEUS PRINCIPAIS BENEFÍCIOS NA CRIOPRESERVAÇÃO DO SÊMEN DE GARANHÕES / FRACTIONATED COLLECTION AND THEIR MAIN BENEFITS IN THE STALLION SPERM CRYOPRESERVATION / COSECHA FRACCIONADA Y SUS PRINCIPALES BENEFICIOS EN LA CRIOPRESERVACIÓN DE SEMEN DE CABALLOS. Sidnei Nunes de Oliveira, Endrigo Adonis Braga de Araujo, Luis Fernando Mercês Chaves Silva, Felipe Morales Dalanezi, Patrícia de Mello Papa, Bertiny Moreira Pinto, Luiz Roberto Pena de Andrade Junior, Frederico Ozanam Papa	435
ACESSÓRIOS DE IMOBILIZAÇÃO E PROTEÇÃO UTILIZADOS NA RADIOTERAPIA DE PEQUENOS ANIMAIS / ACCESSORIES FOR DETENTION AND PROTECTION USED IN SMALL ANIMALS RADIATION THERAPY / ACCESORIOS INMOVILIZACIÓN Y PROTECCIÓN UTILIZADOS EN RADIOTERAPIA DE PEQUEÑOS ANIMALES. Michel Campos Vettorato, Marco Antonio Rodrigues Fernandes, Luiz Carlos Vulcano.....	444
PRINCIPAIS PATÓGENOS ENTÉRICOS DE ORIGEM BACTERIANA E PARASITÁRIA, DE POTENCIAL ZONÓTICO, EM GATOS DOMÉSTICOS / THE MAIN BACTERIAL AND PARASITIC ENTERIC PATHOGENS WITH ZONOTIC POTENTIAL IN DOMESTIC CATS / PRINCIPALES PATÓGENOS ENTÉRICOS DE ORIGEN BACTERIANO Y PARASITARIO, CON POTENCIAL ZONÓTICO, EN GATOS DOMÉSTICOS. Carolina Lechinski de Paula, Carmen Alicia Daza Bolaños, Simony Trevizan Guerra, Márcio Garcia Ribeiro	453
CAPACIDADE DE LIGAÇÃO DOS ESPERMATOZOIDES DO EPIDÍDIMO DE EQUINOS ÀS CÉLULAS DA TUBA UTERINA CULTIVADAS IN VITRO – REVISÃO DE LITERATURA / CAPACITY OF BINDING FROM EQUINE EPIDIDYMIS SPERMATOOZOA TO THE OVIDUCT CELLS CULTURED IN VITRO - REVIEW OF THE LITERATURE / CAPACIDAD DE LIGACIÓN DE LOS ESPERMATOZOIDES DEL EPIDÍDIMO DE EQUINOS A CÉLULAS DEL OVIDUCTO UTERINO CULTIVADOS IN VITRO – REVISIÓN DE LITERATURA. João Alexandre Matos Carneiro, Raíssa Karolliny Salgueiro Cruz, Fabiana Ferreira de Souza, José Antonio Dell'Aqua-Júnior.....	468
PRINCIPAIS MICOTOXICOSES EM SUÍNOS / MAJOR MYCOTOXICOSES IN SWINE / PRINCIPALES MYCOTOXICOSIS EN CERDOS. Pollyana Cristina Maggio de Castro Souto, Laurinda Augusto, Mayra Carraro Di Gregorio, Carlos Augusto Fernandes de Oliveira	480
RELATOS DE CASO/CASE REPORTS/ESTUDIOS DE CASO	
TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL METASTÁTICO EM CANINO – RELATO DE CASO / TRANSMISSIBLE VENEREAL TUMOR METASTATIC CANINE - CASE REPORT / TUMOR VENÉREO TRANSMISIBLE METASTÁSICO EN CANINO - INFORME DE CASO. Lylian Karlla Gomes de Medeiros, Fabrício Kleber Lucena Carvalho, Aline Sousa Alves, Meire Maria Silva Macedo, Rodrigo Souza Mendes, Almir Pereira de Souza	495

SEPSIS IN A DOG WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE SUBMITTED TO PERITONEAL DIALYSIS / SEPSE EM UM CÃO COM DOENÇA RENAL CRONICA SUBMETIDO À DIALISE PERITONEAL / SEPSIS EN UN PERRO CON ENFERMIDAD RENAL CRÓNICA SOMETIDO A DIÁLISIS PERITONEAL. Silvano Salgueiro Gerales, José Francisco Antunes Ribeiro, André Nanny LeSueur Vieira, Laura Pereira Porto, Alessandra Melchert, Pasqual Barretti, Carlos Roberto Padovani, Priscylla Tatiana Chalfun Guimarães-Okamoto.....	499
CORREÇÃO DE ESTENOSE URETRAL APÓS URETROSTOMIA EM GATO – RELATO DE CASO / STENOSIS URETHRAL CORRECTION AFTER URETHROSTOMY SURGERY IN A CAT – CASE REPORT / CORRÉCCION DE ESTENOSE URETRAL DESPUÉS DE URETROSTOMIA EN GATO – RELATO DE CASO. Elisângela Barboza Silva, Ana Manuella Souza Babo, Janaína Maria Xavier Corrêa, Mário Sérgio Lima Lavor	504
EXUGUNLATION FOLLOWED BY FRACTURE AND AVULSION OF THE DISTAL PHALANX IN MARE / EXUNGULAÇÃO SEGUIDA DE FRATURA E AVULSÃO DA FALANGE DISTAL EM UMA ÉGUA / EXUNGULACIÓN SEGUIDA DE FRACTURA Y AVULSIÓN DE LA FALANGE DISTAL EN UNA YEGUA. Joandes Henrique Fontequê, Anderson Fernando de Souza, Jackson Schade, Thiago Rinaldi Muller, Martiello Ivan Gehrcke	509
ARTIGOS/ARTICLES/ARTÍCULOS	
CARACTERIZAÇÃO DO SISTEMA DE PRODUÇÃO CAPRINO E OVINO NA REGIÃO SUL DO ESTADO DO MARANHÃO, BRASIL / CHARACTERIZATION OF THE GOAT AND SHEEP PRODUCTION SYSTEM IN THE SOUTH REGION OF THE STATE OF MARANHÃO, BRAZIL / CARACTERIZACIÓN DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE GANADO CAPRINO Y OVINO EN LA REGIÓN SUR DEL ESTADO MARANHÃO, BRASIL. Aldivan Rodrigues Alves, Marcio da Silva Vilela, Maria Verônica Meira de Andrade, Liduina da Silva Pinto, Djonata Brito de Lima, Lailson Lucas Lopes Lima	515
UTILIZAÇÃO DA ULTRASSONOGRAFIA TRANSABDOMINAL PARA AUXÍLIO PROPEDEÚTICO EM EQUINOS COM SÍNDROME CÓLICA: RELATO DE CASOS / USING TRANSABDOMINAL ULTRASOUND AS SUPPORT DIAGNOSIS IN EQUINE WITH COLIC SYNDROME: CASES REPORTS / USO DEL ULTRASONIDO TRANSABDOMINAL COMO APOYO DIAGNÓSTICO EN EQUINOS CON SÍNDROME CÓLICO: SÉRIE DE 16 CASOS. Carlos Henrique do Amaral, Daniel Capucho de Oliveira, Peterson Triches Dornbush, Ivan Deconto, Tilde Rodrigues Froes	525
LASERTERAPIA PARA TRATAMENTO DE TENDINOPATIA INDUZIDA EM RATOS WISTAR: ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO / LASER THERAPY FOR TREATMENT OF TENDINOPATHY INDUCED IN WISTAR RATS: AN HISTOMORFOMETRIC STUDY / TERAPIA CON LÁSER PARA TRATAMIENTO DE TENDINOPATIA INDUCIDA EN RATAS WISTAR: ESTUDIO HISTOMORFOMÉTRICO. Maria Verônica de Souza, Júlio Crepaldi, Thayne de Oliveira Silva, Mariana Brettas Silva, Gabriel Barbosa de Melo Neto, José do Carmo Lopes Moreira	538
ANÁLISE COMPARATIVA DAS LEIS VIGENTES PARA A PRODUÇÃO ARTESANAL DE LEITE DE CABRA NO ESTADO DE SÃO PAULO / COMPARATIVE ANALYSIS OF LAWS FOR THE PRODUCTION ARTESANAL GOAT'S MILK IN SÃO PAULO STATE / ANALISIS COMPARATIVO DE LEYES PARA LA PRODUCCIÓN ARTESANAL DE LECHE DE CABRA EN SAO PAULO ESTADO. Elisângela Cristina Barroso Basilio, Mayara Gambellini Gonçalves, Vando Edesio Soares	554
INFLUÊNCIA DA MARCHA SOBRE O ERITROGRAMA EM EQUINOS DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR / INFLUENCE OF MARCHA GAIT ON THE ERYTHROGRAM OF MANGALARGA MARCHADOR HORSES / INFLUENCIA DE LA MARCHA EN EL ERITROGRAMA DE CABALLOS MANGALARA MARCHADOR. Clarisse S Coelho, Vinicius Vaneli Fardin, Gabriella Agra de Omena Silva, Renan Silva Carvalho, Evandro Pereira Neto.....	563

- PHMETRIA ESOFÁGICA EM CÃES / ESOPHAGEAL PH-METRY IN DOGS / PH-METRÍA ESOFÁGICA EN PERROS.** Jorge Luiz Costa Castro, Vinicius Gonzalez Peres Albernaz, Flávio Augusto Vieira Freitas, Ubirajara Iobe Tasqueti, Sérgio Santalucia Ramos da Silva, Alceu Gaspar Raiser571
- CIPIONATO DE ESTRADIOL E BENZOATO DE ESTRADIOL EM PROTOCOLOS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM NOVILHAS MESTIÇAS / ESTRADIOL CYPIONATE AND ESTRADIOL BENZOATE IN ARTIFICIAL INSEMINATION PROTOCOLS IN FIXED TIME IN HEIFERS CROSSBRED / CIPIONATO DE ESTRADIOL Y BENZOATO DE ESTRADIOL EN LOS PROTOCOLOS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN TIEMPO FIJO EN VAQUILLAS MESTIZAS.** Roberto Ramos Sobreira, Italo Câmara de Almeida, Fabricio Albani Oliveira, Jeanne Broch Siqueira, Graziela Barioni, Diogo Vivacqua de Lima, Larissa Ataide Siqueira581
- DESENVOLVENDO COMPETÊNCIAS NA APRENDIZAGEM DE ESTUDANTES DE MEDICINA VETERINÁRIA / DEVELOPING SKILLS IN LEARNING OF VETERINARY MEDICINE STUDENTS / DESARROLLO DE COMPETENCIAS EN APRENDIZAJE DE LOS ESTUDIANTES EN MEDICINA VETERINARIA.** Cláudia Turra Pimpão, Dariane Cristina Catapan, Rita Maria Venâncio Mangrich Rocha, Kung Darh Chi, Valeria Natasha Teixeira, Humberto Maciel França Madeira, Ana Lúcia Michelotto, Mirian Célia Castellain Guebert, Javier Burchard592
- PREVALÊNCIA DE ALTERAÇÕES HEPÁTICAS EM BOVINOS ABATIDOS EM MATADOURO-FRIGORÍFICO DO MUNICÍPIO DE PRESIDENTE PRUDENTE, ESTADO DE SÃO PAULO / PREVALENCE OF HEPATIC ALTERATIONS IN CATTLE SLAUGHTERED IN THE CITY OF PRESIDENTE PRUDENTE, SÃO PAULO STATE / PREVALENCIA DE LAS ALTERACIONES HEPÁTICAS EN LOS GANADOS SACRIFICADOS EN MATADERO DE LA CIUDAD DE PRESIDENTE PRUDENTE, ESTADO DE SÃO PAULO.** Raimundo Alberto Tostes, Jorge Minor Fernandes Inagaki, Thiago Chiara Taveira, Hemir Martins Quirilos Assis604
- MONITORAMENTO DO VÍRUS DA RAIVA EM DIFERENTES ESPÉCIES DE MORCEGOS EM MARINGÁ, SUL DO BRASIL / RABIES VIRUS MONITORING IN DIFFERENT SPECIES OF BATS IN MARINGÁ, SOUTHERN BRAZIL / VIGILANCIA DE VIRUS DE LA RABIA EN ESPECIES DIFERENTES DE MURCIÉLAGOS EN MARINGÁ, SUR DE BRASIL.** Alexandre Luiz Polizel, Helena Beatriz de Carvalho Ruthner Batista, Henrique Ortêncio Filho613

EDITORIAL

NOVAS CONQUISTAS PARA A FMVZ

Esse número da Revista Veterinária e Zootecnia está sendo editado em um momento que recebemos o resultado da avaliação da CAPES referente ao quadriênio 2013-2016, dos Programas de Pós Graduação do Brasil. Aproveitamos, portanto, para agradecer a todos os envolvidos com o Programa de Medicina Veterinária nível de Mestrado e Doutorado pela obtenção do conceito 6. Os docentes do Programa, os seus alunos e equipe técnica-administrativa, que tanto contribuíram para esse resultado.

Resultado como esse mostra o potencial da FMVZ que tem outros Programas em Pós-Graduação todos muito bem conceituados. Dessa forma, quem ganha é a nossa Faculdade que acumula índices importantes para o ranking de avaliação das Universidades brasileiras e a nível mundial. Como editor da Revista e coordenador do referido Programa, tenho muito a agradecer e também dizer que nossas responsabilidades aumentam e que temos que trabalhar com novas métricas de acordo com as exigências da CAPES. Obrigado.

O presente número da Revista Veterinária e Zootecnia traz artigos interessantes inéditos, contribuindo com o desenvolvimento científico em diferentes áreas do conhecimento. Como artigos de revisão: Mecanismos de ação dos principais antioxidantes utilizados na criopreservação espermática de ganhões; Colheita fracionada e seus principais benefícios na criopreservação do sêmen de ganhões; Acessórios de imobilização e proteção utilizados na radioterapia de pequenos animais; Principais patógenos entéricos de origem bacteriana e parasitária, de potencial zoonótico, em gatos domésticos; Capacidade de ligação dos espermatozoides do epidídimo de equinos às células da tuba uterina cultivadas in vitro – Revisão de Literatura; Principais micotoxicoses em suínos. Os relatos de caso: Tumor venéreo transmissível metastático em canino – Relato de Caso; Sepsis in a dog with chronic kidney disease submitted to peritoneal dialysis; Correção de estenose uretral após uretostomia em gato – Relato de Caso; Exugunlation followed by fracture and avulsion of the distal phalanx in mare. Os artigos originais: Caracterização do sistema de produção caprino e ovino na região Sul do Estado do Maranhão, Brasil; Utilização da ultrassonografia transabdominal para auxílio propedêutico em equinos com síndrome cólica: Relato de Casos; Laserterapia para tratamento de tendinopatia induzida em ratos Wistar: estudo histomorfométrico; Análise comparativa das leis vigentes para a produção artesanal de leite de cabra no Estado de São Paulo; Influência da marcha sobre o eritrograma em equinos da raça Mangalarga Marchador; pHmetria esofágica em cães; Cipionato de estradiol e benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em novilhas mestiças; Desenvolvendo competências na aprendizagem de estudantes de medicina veterinária; Prevalência de alterações hepáticas em bovinos abatidos em matadouro-frigorífico do município de Presidente Prudente, Estado de São Paulo; Monitoramento do vírus da raiva em diferentes espécies de morcegos em Maringá, Sul do Brasil.

Prof. Helio Langoni
Editor-Chefe

MECANISMOS DE AÇÃO DOS PRINCIPAIS ANTIOXIDANTES UTILIZADOS NA CRIOPRESERVAÇÃO ESPERMÁTICA DE GARANHÕES

Luis Fernando Merces Chaves Silva¹
Endrigo Adonis Braga de Araujo¹
Sidnei Nunes de Oliveira¹
Felipe Morales Dalanezi¹
Luiz Roberto Pena de Andrade Júnior¹
Fabiana Ferreira de Souza¹
André Maciel Crespilho²
José Antonio Dell'Aqua Junior¹
Frederico Ozanam Papa³

RESUMO

O emprego da criopreservação espermática na reprodução equina representou um grande avanço para o desenvolvimento da espécie. Entretanto a utilização de biotecnologias como a refrigeração e congelamento espermática imprime sobre as células danos físicos e químicos que resultam em elevação nos níveis de espécies reativas do oxigênio (EROs), estresse oxidativo e injúrias irreversíveis aos espermatozoides. Visando amenizar as consequências do estresse oxidativo, diversas substâncias com propriedades antioxidantes são adicionadas aos meios diluidores durante a criopreservação, apesar disto, na maioria das vezes o mecanismo de ação desencadeado por estes antioxidantes não é bem esclarecido. Diante disto, objetivou-se com o presente estudo referenciar os principais agentes antioxidantes utilizados na criopreservação de garanhões e seus mecanismos de ação.

Palavras-chave: radicais livres, antioxidantes, sêmen, equino.

KEY OF MECHANISMS OF ACTION ANTIOXIDANTS USED IN CRYOPRESERVATION SPERM STALLIONS

ABSTRACT

The use of sperm cryopreservation in equine reproduction represented a major breakthrough for the development of the species. However the use of biotechnologies such as refrigeration and freezing sperm prints on the physical and chemical damage cells that result in increased levels of reactive oxygen species (ROS), oxidative stress and irreversible injury to sperm. Aiming to mitigate the consequences of oxidative stress, different substances with antioxidant properties are added to extenders for cryopreservation, despite this, most of the time the mechanism of action triggered by these antioxidants is not well understood. In view of this, the aim with this study reference the main antioxidants used in cryopreservation stallions and their mechanisms of action.

Keywords: free radicals, antioxidants, semen, equine.

¹ Mestrando em Biotecnologia Animal. Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" - FMVZ-UNESP-Botucatu. Contato principal para correspondência.

² Universidade de Santo Amaro - UNISA - SP.

³ Prof. Titular do Departamento de Reprodução Animal. FMVZ-UNESP-Botucatu.

MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES QUE SE UTILIZAN EN CRIOPRESERVACIÓN ESPERMÁTICA DE CABALLOS

RESUMEN

El uso de la criopreservación de espermatozoides en reproducción equina representa un avance importante para el desarrollo de la especie. Sin embargo, el uso de las biotecnologías, como la refrigeración y congelación de espermatozoides, sobre las células de daños físicos y químicos que resultan en un aumento de los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS), estrés oxidativo y el daño irreversible a los espermatozoides. Con el objetivo de mitigar las consecuencias del estrés oxidativo, se añaden diferentes sustancias con propiedades antioxidantes de diluyentes para la criopreservación, a pesar de esto, la mayoría de las veces el mecanismo de acción provocada por estos antioxidantes no se entiende bien. En vista de esto, el objetivo de este estudio de referencia los principales antioxidantes utilizados en los sementales de criopreservación y sus mecanismos de acción.

Palabras clave: los radicales libres, los antioxidantes, el semen, caballo.

INTRODUÇÃO

A utilização do sêmen criopreservado é uma prática amplamente utilizada na maioria das raças dentro da espécie equina, realizando-se técnicas como refrigeração e congelamento de sêmen, que permitem a manutenção da viabilidade celular por tempo prolongado pela preservação pelo frio (1).

Diferente de outras espécies, os equinos geralmente não são selecionados de acordo com sua capacidade reprodutiva, levando-se em consideração, na maioria das vezes, exclusivamente a sua performance atlética ou características fenotípicas, em detrimento de sua qualidade seminal, acarretando em um grande número de ganhos com sêmen sensível à criopreservação (2).

Um dos fatores relacionados à queda na viabilidade dos espermatozoides equinos durante os processos de refrigeração e congelamento é a alta predisposição destas células a sofrerem danos oxidativos resultantes da elevação nos níveis de espécies reativas do oxigênio (EROs) (3,4). Em pequenas quantidades, as EROs desencadeiam eventos de sinalização celular e regulação da maturação, capacitação, hiperativação espermática, reação acrossomal e a união entre espermatozoide e ócito (5-7).

Entretanto, quando em elevadas concentrações são prejudiciais, levando ao estresse oxidativo, induzindo peroxidação lipídica, fragmentação do ácido desoxirribonucleico (DNA) e apoptose precoce das células (8). Neste contexto, a adição de agentes antioxidantes aos meios diluidores visa balancear a concentração de EROs objetivando reduzir os danos promovidos nos espermatozoides.

Diversos antioxidantes existentes têm sido utilizados como suplementos em meios diluidores de sêmen equino, dentre eles a superóxido dismutase (9), glutatona peroxidase (10), catalase (11,12), α -tocoferol (13-15), ácido ascórbico (11,14), butil-hidroxitolueno (BHT) (2,12) e quercetina (16,17). Esta revisão bibliográfica visa atualizar os conhecimentos sobre a aplicação e os mecanismos de ação de alguns antioxidantes utilizados na criopreservação de espermatozoides equinos.

METABOLISMO ESPERMÁTICO E FORMAÇÃO DAS ERO

Os espermatozoides são células altamente especializadas com a função de fertilizar e transferir o material genético masculino ao gameta feminino (18). Para se locomover e

desempenhar sua função, as células espermáticas dos equinos têm como principal fonte de energia as moléculas de adenosina trifosfato (ATP), resultantes do metabolismo da glicose (19).

Durante o metabolismo espermático, a molécula de glicose e seus substratos passarão por etapas importantes, como a glicólise, passando pelo complexo piruvato-desidrogenase e ciclo do ácido cítrico (20). Ao longo destas etapas são formadas coenzimas reduzidas como as nicotinamida-adenina-dinucleotídeo reduzida (NADH) e flavina-adenina-dinucleotídeo reduzida (FADH₂), e cada uma têm a função de carrear um par de elétrons, liberados durante as reações de desidrogenação ocorridas no metabolismo da glicose, direcionando-os à cadeia de transporte de elétrons (20,21).

A cadeia de transporte de elétrons é uma etapa regida por reações que ocorrem nos diversos complexos enzimáticos incluídos na membrana interna da mitocôndria. Ao todo são quatro complexos (I, II, III e IV) compostos por proteínas que têm a função de permitir e auxiliar no transporte de elétrons dentro da cadeia, resultando na transferência de energia para fosforilação oxidativa e síntese de ATP (22).

Os NADH atuando no complexo I e os FADH₂ no complexo II, vão transferir seu par de elétrons para outra coenzima a ubiquinona (Q) se convertendo em ubiquinol (QH₂), que por sua vez tem a função de carrear os elétrons em direção a moléculas de citocromos C (Cit C) no complexo III, ao chegar no complexo IV os Cit C passam seus elétrons ao oxigênio (O₂), receptor final dos elétrons na cadeia, formando moléculas de água (H₂O) (21).

Durante a transferência do par de elétrons dos NADH e FADH₂ às Q, bem como pela transferência dos elétrons dos QH₂ aos Cit C, ocorre a formação do radical intermediário, o ânion semiquinona (Q⁻) que ocasionalmente é capaz de transferir este elétron desemparelhado a uma molécula de O₂ circulante, promovendo a formação da ERO radical superóxido (O₂⁻) (23) (Figura 1).

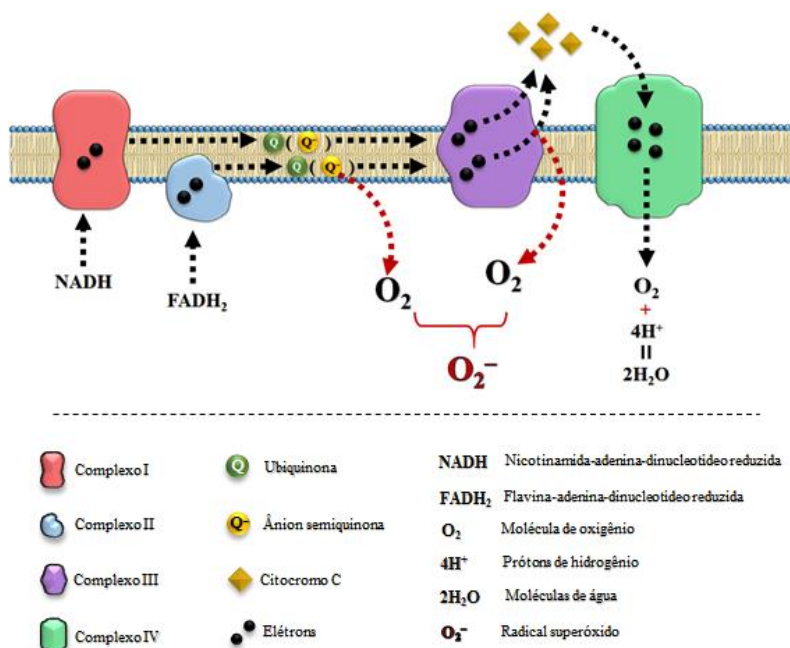


Figura 1. Formação do radical superóxido (O₂⁻) durante a cadeia de transporte de elétrons.

Este aparentemente é o principal mecanismo responsável pela produção das EROs e sua ocorrência é mais comum nos complexos I e III, atribuindo-se uma probabilidade de efusão de elétrons, duas vezes maior ao complexo III quando comparado ao complexo I (24).

PRINCIPAIS EROS

As principais EROS conhecidas resultantes do metabolismo espermático são o O_2^- , o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxil (OH^\bullet) (21,25,26).

RADICAL SUPERÓXIDO (O_2^-)

O O_2^- é um radical livre formado a partir da reação entre um elétron livre e uma molécula de O_2 , este é gerado principalmente durante a cadeia respiratória mitocondrial, e é o precursor da maioria das EROS (21,23) (Figura 2).

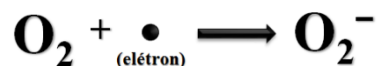


Figura 2. Reação entre uma molécula de oxigênio (O_2) e elétron livre promovendo a formação do radical superóxido (O_2^-).

A maior parte do O_2^- é produzido dentro da matriz mitocondrial, este radical livre é incapaz de atravessar as membranas lipídicas e tem vida curta sendo rapidamente convertido, por ação enzimática, à H_2O_2 (26-28).

PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (H_2O_2)

O H_2O_2 é formado quando duas moléculas de O_2^- reagem com dois H^+ . Esta reação pode ocorrer espontaneamente ou catalisada por ação da enzima superóxido dismutase (SOD), comumente encontrada nas células dos mamíferos (21,23,29) (Figura 3).



Figura 3. Formação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a partir da reação entre dois íons superóxido (O_2^-) e dois prótons de hidrogênio (H^+).

O H_2O_2 formado por dismutação do O_2^- , por possuir estabilidade em sua estrutura, não é considerado propriamente um radical livre, entretanto é precursor na formação de uma potente ERO, o OH^\bullet , além disto, o H_2O_2 possui meia-vida longa e capacidade de se difundir pelas membranas biológicas (7,23,30,31).

RADICAL HIDROXIL (OH^\bullet)

O OH^\bullet é considerado um dos mais potentes agentes oxidantes, sendo capaz de atravessar membranas e reagir com moléculas tais como lipídeos insaturados das membranas e DNA. Este é formado a partir do H_2O_2 e sua estrutura é composta por um átomo de hidrogênio ligado a um átomo de oxigênio, onde um dos elétrons do O_2 encontra-se desemparelhado (23).

Este radical é formado quando uma molécula de H_2O_2 recebe um elétron livre, decorrendo de reações envolvendo o íon férrico (Fe^{2+}) ou íon cobre (Cu^+), denominada reação de Fenton (7,21) (Figura 4), ou quando um H_2O_2 recepta um elétron proveniente do O_2^- , denominada reação de Haber-Weiss (7,30) (Figura 5).

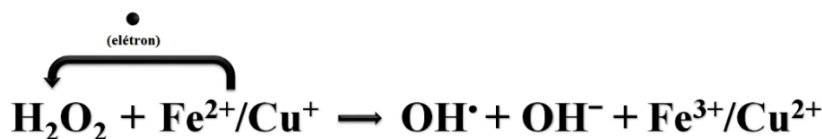


Figura 4. Reação de Fenton.

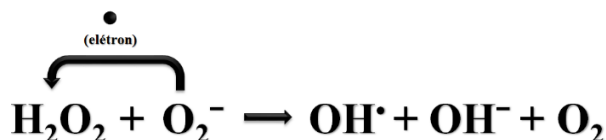


Figura 5. Reação de Haber-Weiss.

PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

As células espermáticas dos mamíferos contêm em sua membrana uma concentração elevada de ácidos graxos polinsaturados, embora a presença de elevadas concentrações destes ácidos graxos garanta maior fluidez e flexibilidade à membrana do espermatozoide, também a torna mais susceptível à ação deletéria das EROs, que são capazes de desencadear uma sequência de reações resultando, por vezes, em lesão irreversível à membrana (6,30,32).

O processo de peroxidação lipídica decorre principalmente da ação do OH^\bullet , que ao sequestrar um H^+ de um ácido graxo polinsaturado pertencente à bicamada fosfolipídica das membranas celulares, promove a desestabilização deste formando uma região de instabilidade, o radical alquil (R^\bullet), possuindo um elétron desapareado. Este por sua vez, reage com uma molécula de O_2 podendo formar outros dois radicais, alcoxil (RO^\bullet) ou peroxil (ROO^\bullet), que tendem a se estabilizar retirando uma molécula de H^+ e um elétron pertencentes aos fosfolídeos adjacentes, formando hidroperóxido lipídico (ROOH) e levando a formação de um novo R^\bullet , promovendo uma reação em cadeia (30,33) (Figura 6).

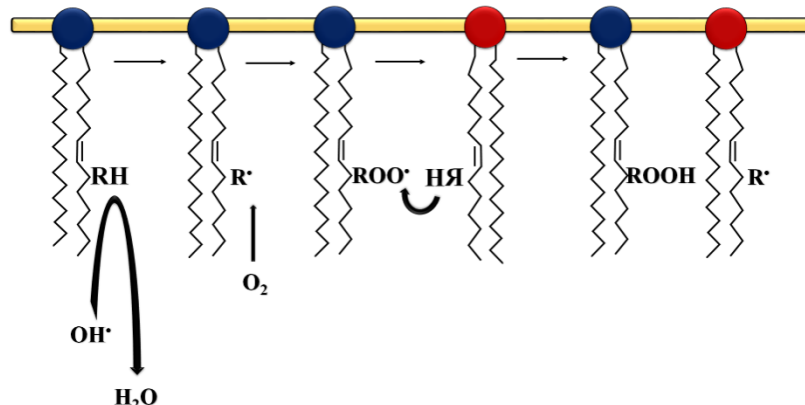


Figura 6. Esquemática da reação em cadeia ocorrida durante a peroxidação lipídica.

Caso esta sequência de reações não seja interrompida, pode resultar na comunicação entre duas regiões de instabilidade ($\text{R}^\bullet\text{--R}^\bullet$, $\text{R}^\bullet\text{--ROO}^\bullet$ ou $\text{ROO}^\bullet\text{--ROO}^\bullet$) e esta reação é incompatível com a manutenção da estrutura da membrana afetando sua fluidez, elasticidade e permeabilidade, resultando em perda de viabilidade celular (34).

Os íons metálicos de ferro e cobre, também são capazes de desencadear a peroxidação lipídica, podendo doar ou sequestrar elétrons dos ROOH promovendo desestabilização do ácido graxo reiniciando a reação em cadeia (33) (Figura 7).

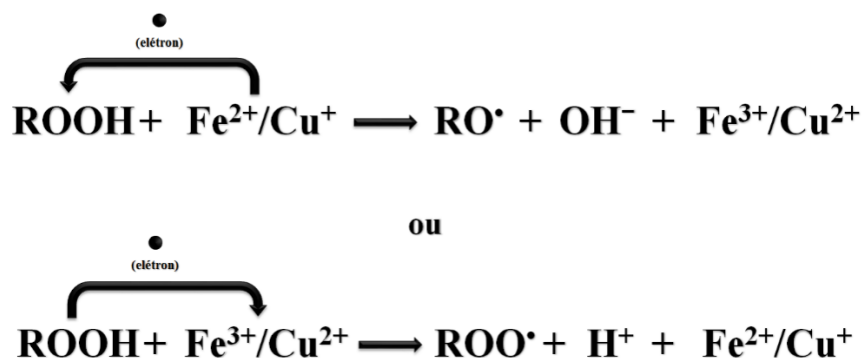


Figura 7. Participação dos íons metálicos ($\text{Fe}^{2+}/\text{Cu}^+$ ou $\text{Fe}^{3+}/\text{Cu}^{2+}$) da desestabilização do hidroperóxido lipídico (ROOH) e desencadeamento da peroxidação lipídica.

CRIOINJÚRIAS

Durante o processo de criopreservação os espermatozoides são submetidos a injúrias decorrente do estresse térmico, o que promove alterações funcionais e estruturais às células, podendo resultar em queda na motilidade e comprometimento da capacidade de fertilizar (26).

Sugere-se que durante a preservação pelo frio as mitocôndrias podem sofrer danos, levando ao comprometimento do metabolismo energético dos espermatozoides e aumento na produção de EROs, sendo relacionado com redução na cinética espermática e maior fragmentação de DNA (35).

Além disto, a maior ocorrência de peroxidação lipídica, resultante da elevação nos níveis de EROs, é considerada um dos principais danos causados pela criopreservação por promover desestruturação e aumento da permeabilidade da membrana, sendo indicado como um importante causador de danos subletais às células espermáticas nos equinos (3,36). Observou-se que quando há o aumento da produção de peróxidos lipídicos ($\text{R}\bullet$ ou $\text{ROO}\bullet$) ocorre uma queda na motilidade espermática, reduzindo a capacidade da fertilização (25).

Portanto a incorporação de agentes antioxidantes aos meios diluidores durante a refrigeração e congelamento espermática é indicado como uma importante ferramenta para reduzir os danos decorrentes da elevação nos níveis de EROs resultantes do processo de criopreservação.

PRINCIPAIS ANTIOXIDANTES E SUAS FUNÇÕES

Durante o metabolismo oxidativo que ocorre nas mitocôndrias, cerca de 0,1 a 4% do O_2 utilizado na respiração promovem a formação de O_2^- , quantidade mais que suficiente para induzir efeitos deletérios às células, necessitando que estes radicais sejam rapidamente neutralizados por agentes antioxidantes (20).

Para tal, as células espermáticas possuem compostos com função de combater o excesso de EROs e manter a homeostase celular, além disto são amplamente adicionadas aos meios diluidores de sêmen, substâncias naturais e sintéticas com funções antioxidantes (25).

Os antioxidantes nas células espermáticas agem basicamente de duas maneiras, eles podem impedir a produção das EROs ou interromper a reação em cadeia que ocorre durante peroxidação lipídica (37), podendo ser definidos como enzimáticos, quando sua função antioxidante é desempenhada por enzimas, e não enzimáticos (38).

ANTIOXIDANTES ENZIMÁTICOS

Os antioxidantes enzimáticos compõem o primeiro sistema de defesa a agir nas células, neutralizando o excesso de EROs e prevenindo danos à estrutura celular. Fazem parte deste grupo, principalmente, a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutaciona peroxidase (GPx) que em ação conjunta convertem O_2^- em H_2O (27,39).

SUPERÓXIDO DISMUTASE

A SOD é um antioxidante enzimático encontrado na matriz mitocondrial, no citosol e no plasma seminal, tem a função de converter duas moléculas de O_2^- em H_2O_2 e O_2 , por meio de reação de dismutação (29) (Figura 8).



Figura 8. Reação de formação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) catalisada pela enzima superóxido dismutase (SOD).

Segundo Kankofer et al. (40), foi encontrada significativa atividade antioxidante no plasma seminal resultante da presença da enzima SOD. Foi observado também que a administração exógena de SOD ao ejaculado equino promoveu resultados significativo dos parâmetros de motilidade progressiva e integridade de membrana (9).

GLUTATIONA PEROXIDASE

Outra enzima amplamente encontrada nas células é a GPx, presente na matriz mitocondrial, espaço intermembranas e citosol. Sua função antioxidante é executada ao retirar H^+ e elétrons de duas moléculas de glutaciona reduzida (GSH) doando-os ao H_2O_2 , resultando em duas moléculas de H_2O e uma de glutaciona oxidada (GSSG) (21,23) (Figura 9).



Figura 9. Ação da glutaciona-peroxidase (GPx) na remoção do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), convertendo glutaciona reduzida (GSH) em glutaciona oxidada (GSSG).

A ação da GPx nos espermatozoides dos mamíferos é responsável por reduzir a ocorrência de peroxidação lipídica em virtude de sua capacidade em reduzir os níveis de H_2O_2 circulantes (41).

Oliveira et al. (10) em estudo com a espécie equina, observaram que a adição de 2,5 mM de glutaciona peroxidase ao meio diluidor para congelamento foi capaz de preservar motilidade total, motilidade progressiva, viabilidade e integridade da membrana plasmática, entretanto, concentrações superiores a 2,5mM deste antioxidante promoveram efeito deletério sobre os espermatozoides.

CATALASE

A CAT também é responsável por decompor as moléculas de H₂O₂, convertendo-as a H₂O e O₂. Normalmente localiza-se nos peroxissomos, que são organelas presentes no citosol das células dos organismos eucariontes (38) (Figura 10).



Figura 10. Conversão de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) à água (H₂O) e oxigênio (O₂) por ação da catalase (CAT).

Apesar da comprovada função antioxidante representada pela CAT, Arich et al. (11), observaram que a inclusão de 1.8 unidades/L deste antioxidante ao meio diluidor para refrigeração de sêmen de equinos implicou em menores parâmetros de cinética espermática e integridade de membrana após 24 horas de refrigeração a 5°C.

Já em estudo semelhante, Ball et al. (12) ao avaliarem a ação da CAT sobre o sêmen equino refrigerado a 5°C durante 72 horas, apesar de não terem observado melhores índices de motilidade espermática, evidenciaram maior manutenção da integridade acrossomal para as amostras acondicionadas na ausência do plasma seminal e tratadas com o antioxidante.

Em alguns casos, a linha primária de defesa contra as EROs, representada pelos antioxidantes enzimáticos, é insuficiente para promover redução satisfatória dos agentes oxidantes e homeostase celular aos espermatozoides, sendo necessário lançar mão da inclusão de antioxidantes não enzimáticos naturais ou sintéticos aos meios diluentes de sêmen (40).

ANTIOXIDANTES NÃO ENZIMÁTICOS

Os antioxidantes não enzimáticos são substâncias de baixo peso molecular que atuam como removedores dos agentes causadores dos danos oxidativos ou como reparadores da lesão já iniciada. Estes podem ser de origem natural, geralmente provenientes de vegetais, ou de origem sintética (42).

Dentre os antioxidantes não enzimáticos envolvidos na reprodução, destacam-se o ácido ascórbico (vitamina C), o α -tocoferol (vitamina E), butil-hidroxitolueno (BHT) e a quercetina (6,12,16,42).

VITAMINA E (α -TOCOFEROL)

A vitamina E ou α -tocoferol (C₂₉H₅₀O₂) (Figura 11), é um poderoso antioxidante, lipossolúvel, presente na membrana interna das mitocôndrias, com a função de doar elétrons e H⁺ ao ROO[•], interrompendo a reação em cadeia durante a peroxidação lipídica (31) (Figura 12).

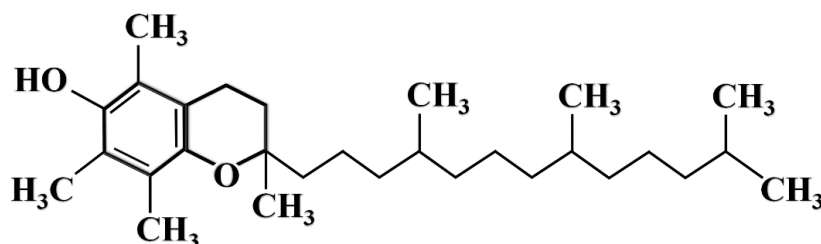


Figura 11. Estrutura molecular do α -tocoferol.

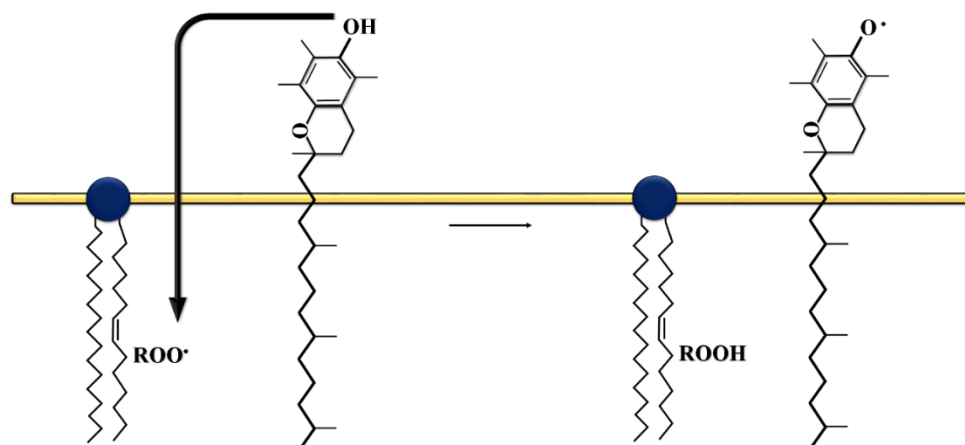


Figura 12. Mecanismo de ação do α -tocoferol estabilizando o radical peróxido interrompendo a peroxidação lipídica.

Em estudo de Yousefian et al. (15), não foi notado efeito positivo da inclusão da vitamina E sobre a cinética espermática, integridade de membranas ou lipoperoxidação durante a refrigeração do sêmen equino.

Já Almeida e Ball (13), observaram que a inclusão do α -tocoferol no sêmen fresco de garanhões resultou em maior número de espermatozoides com motilidade progressiva sem que houvesse redução da peroxidação lipídica, entretanto quando as amostras foram submetidas à refrigeração a 5°C por 48 horas, a inclusão do antioxidante resultou em menores índices de peroxidação lipídica.

Resultados semelhantes foram encontrados por Franco et al. (14) em estudo com sêmen equino congelado, evidenciando que a incorporação de α -tocoferol ao meio diluidor promoveu menores índices de peroxidação lipídica e maior viabilidade celular.

VITAMINA C (ÁCIDO ASCÓRBICO)

Outro importante antioxidante não enzimático é a vitamina C ou ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$) (Figura 13). Esta funciona como agente redutor doando elétrons e H^+ às EROs, convertendo-as em espécies inofensivas e devido ao seu caráter hidrossolúvel, é incapaz de debelar diretamente a peroxidação lipídica, agindo em associação com a vitamina E para executar tal função (43) (Figura 14).

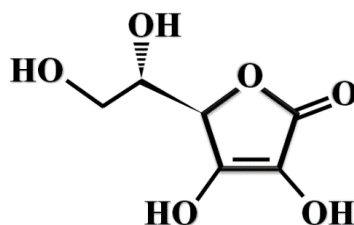


Figura 13. Estrutura molecular do ácido ascórbico.

BUTIL-HIDROXITOLUENO (BHT)

O BHT ($C_{15}H_{24}O$) (Figura 16) é um antioxidante sintético do grupo dos fenóis, análogo da vitamina E, que está envolvido principalmente na reação de conversão dos radicais peróxil em hidroperóxidos lipídicos, doando H^+ e elétrons e interrompendo a reação em cadeia durante a peroxidação lipídica, sendo considerado desta maneira um eficiente protetor de membrana (45) (Figura 17).

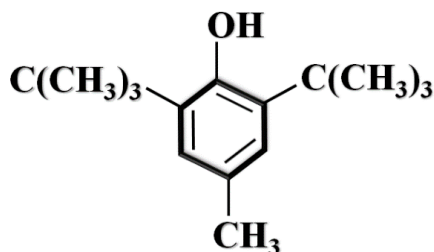


Figura 16. Estrutura molecular do butil-hidroxitolueno (BHT).

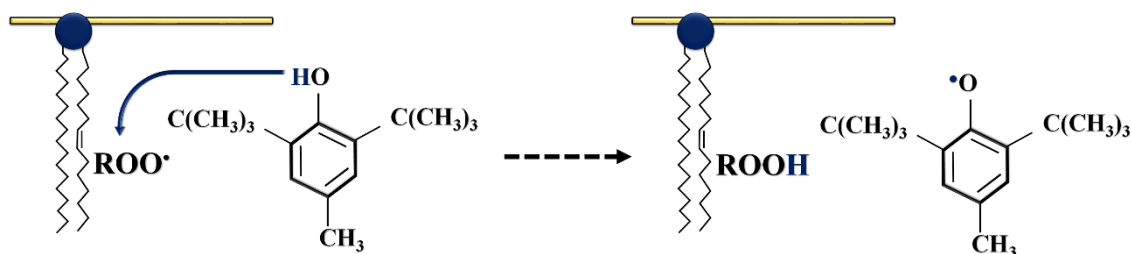


Figura 17. Mecanismo de ação do butil-hidroxitolueno (BHT) interrompendo a reação em cadeia ocorrida durante a peroxidação lipídica.

O BHT foi testado em sêmen de búfalos (46), touros (47), cães (48) e suínos (49) demonstrando aumento na motilidade, integridade de membrana plasmática e viabilidade espermática. Desta forma o BHT mostra-se uma opção promissora para reduzir os danos causados pelas EROs e promover maior longevidade aos espermatozoides, no entanto, há poucos estudos avaliando-se a influência do BHT no sêmen de equino. Ball et al. (12) não obtiveram resultados favoráveis com a inclusão de BHT em meio diluidor para refrigeração de sêmen equino. Morillo-Rodríguez et al. (2), em estudo com sêmen congelado de garanhões, também não encontraram efeito significativo da inclusão de 1 mM de BHT no meio, não interferindo nos parâmetros de cinéticas espermática ou integridade das membranas.

QUERCETINA

A quercetina (3,3',4',5,7-pentahidroxi-flavona) é um antioxidante natural não enzimático, do grupo dos flavonoides, amplamente encontrado nas frutas, legumes, sementes, nozes e vinho tinto (28). Seu arranjo molecular é caracterizado como um polifenol flavonoide, possuindo cinco grupamentos OH em sua estrutura (50) (Figura 18).

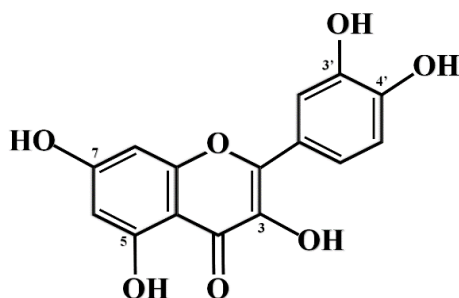


Figura 18. Estrutura molecular da quercetina.

O potencial antioxidante dos compostos flavonóides está diretamente ligado à quantidade de OH presentes em sua estrutura. Quanto mais grupamentos OH um flavonoide possui maior sua capacidade de doar elétrons e H^+ (31,50). Os flavonoides monoidroxilados possuem baixa capacidade antioxidante, já os flavonoides com múltiplas OH, como é o caso da quercetina, são considerados eficientes inativadores de EROs (31).

Em virtude da grande quantidade de OH encontradas em sua estrutura, a quercetina possui eficiente capacidade antioxidante, possibilitando a doação de até cinco elétrons e H^+ às EROs, estabilizando-as (37).

A quercetina pode promover sua ação antioxidante de três maneiras, reagindo com os radicais O_2^- e OH^\bullet , agindo como quelante de íons metálicos ou interrompendo a continuidade da peroxidação lipídica (51).

De acordo com Chen et al. (52), este flavonoide é capaz de reduzir consideravelmente as concentrações de O_2^- , além de possuir a capacidade de reagir diretamente com o OH^\bullet , doando elétrons e H^+ para este radical resultando na formação de H_2O (43,52) (Figura 19).

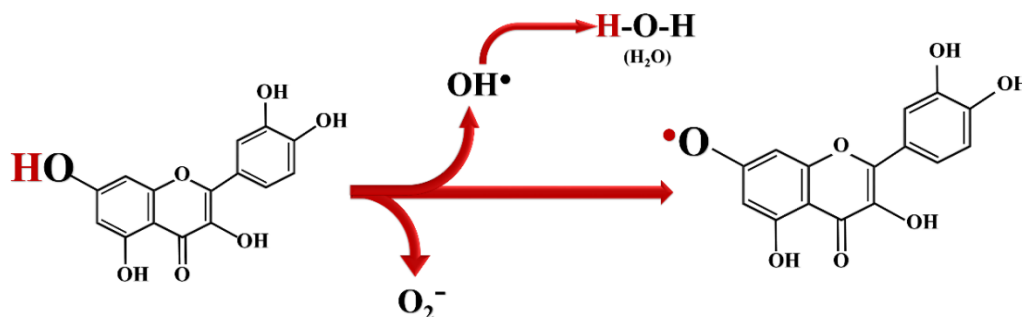


Figura 19. Ação da quercetina estabilizando os radicais superóxido (O_2^-) ou radical hidroxil (OH^\bullet).

Este antioxidante também tem a capacidade de atuar como quelante de íons metálicos, reagindo e impedindo que o íon Fe^{2+} doe elétrons para o H_2O_2 interrompendo a reação de Fenton e formação do OH^\bullet (53). Além de minimizar também a participação deste íon metálico no desencadeamento direto da peroxidação lipídica (33) (Figura 20).

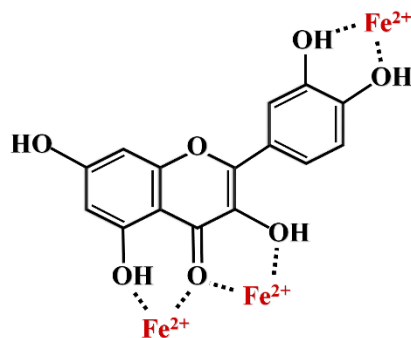


Figura 20. Esquematização da função da quercetina como quelante do íon férrico (Fe^{2+}).

Outra possibilidade de ação antioxidante realizada pela quercetina durante a peroxidação lipídica ocorre em decorrência deste flavonoide possuir caráter lipofílico, sendo capaz de interagir com a bicamada lipídica e permitindo a doação direta de H^+ e elétrons a radicais como o ROO^\bullet , estabilizando e convertendo-os a ROOH , impedindo assim a continuidade da reação em cadeia (31,51) (Figura 21).

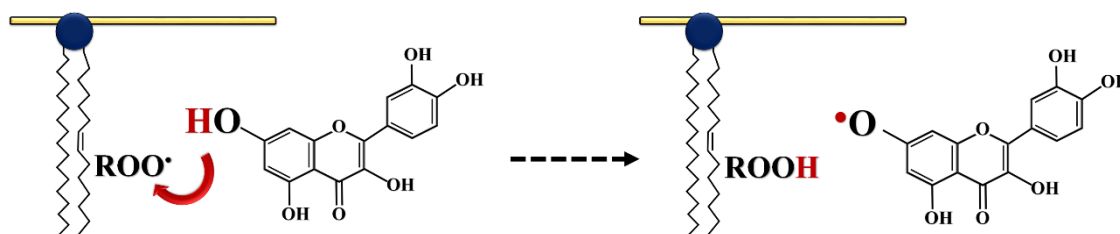


Figura 21. Bloqueio à reação em cadeia durante a peroxidação lipídica por ação da quercetina, ao doar um elétron e um próton (H^+) ao radical peróxil (ROO^\bullet) formando hidroperóxido lipídico (ROOH).

A adição de 0,1 mM de quercetina ao meio de refrigeração para sêmen de equinos mantido à 5°C por até 144 horas resultou em maior preservação da motilidade espermática total, maior integridade de membrana, maiores níveis intracelulares de ATP e menor peroxidação lipídica (16).

Gibb et al. (17), em estudo com utilização da quercetina no sêmen congelado de equinos observaram que a inclusão do antioxidante promoveu redução nos níveis de fragmentação de DNA e aumento da motilidade total dos espermatozoides.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora o avanço na utilização do sêmen criopreservado de garanhões promova cada vez mais a necessidade de inclusão de antioxidantes nos meios diluidores, ainda há resultados controversos com relação à eficácia de determinados agentes antioxidantes dentro da espécie, necessitando-se de aprofundamento sobre as interações das substâncias com as células espermáticas e suas possíveis consequências.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão do auxílio à pesquisa (Processo nº 2014/01681-4).

REFERÊNCIAS

1. Nouri H, Towhidi A, Zhandi M, Sadeghi R. The effects of centrifuged egg yolk used with INRA plus soybean lecithin extender on semen quality to freeze miniature caspian horse semen. *J Equine Vet Sci.* 2013;33:1050-3.
2. Morillo-Rodríguez A, Macías-García B, Tapia JA, Ortega-Ferrusola C, Peña FJ. Consequences of butylated hydroxytoluene in the freezing extender on post-thaw characteristics of stallion spermatozoa in vitro. *Andrologia.* 2012;44:688-95.
3. Ortega-Ferrusola C, Gonzalez FL, Morrell JM, Salazar SC, Macías-García B, Rodriguez-Martinez H, et al. Lipid peroxidation, assessed with BODIPY-C11, increases after cryopreservation of stallion spermatozoa, is stallion-dependent and is related to apoptotic-like changes. *Reproduction.* 2009;138:55-63.
4. García BM, Fernández LG, Ferrusola CO, Rodríguez AM, Bolaños JMG, Martínez HR, et al. Fatty acids and plasmalogens of the phospholipids of the sperm membranes and their relation with the post-thaw quality of stallion spermatozoa. *Theriogenology.* 2011;75:811-18.
5. Aitken RJ, Harkiss D, Knox W, Paterson M, Irvine DS. A novel signal transduction cascade in capacitating human spermatozoa characterised by a redox-regulated, cAMP-mediated induction of tyrosine phosphorylation. *J Cell Sci.* 1998;111:645-56.
6. Lenzi A, Gandini L, Lombardo F, Picardo M, Maresca V, Panfili E, et al. Polyunsaturated fatty acids of germ cell membranes, glutathione and blutathione-dependent enzyme-PHGPx: from basic to clinic. *Contraception.* 2002;65:301-4.
7. Ford WCL. Regulation of sperm function by reactive oxygen species. *Hum Reprod Update.* 2004;10:387-99.
8. Kothari S, Thompson A, Agarwal A, Du Plessis SS. Free radicals: their beneficial and detrimental effects on sperm function. *Indian J Exp Biol.* 2010;48:425-35.
9. Cocchia N, Pasolini MP, Mancini R, Petrazzuolo O, Cristofaro I, Rosapane I, et al. Effect of sod (superoxide dismutase) protein supplementation in semen extenders on motility, viability, acrosome status and ERK (extracellular signal-regulated kinase) protein phosphorylation of chilled stallion spermatozoa. *Theriogenology.* 2011;75:1201-10.
10. Oliveira RA, Wolf CA, Oliveira MA, Gambarini ML. Addition of glutathione to na extender for frozen equine sêmen. *J Equine Vet Sci.* 2013;33:1148-52.
11. Aurich JE, Schönherr U, Hoppe H, Aurich C. Effects of antioxidants on motility and membrane integrity of chilled-stored stallion semen. [Theriogenology.](#) 1997;48:185-92.
12. Ball BA, Medina V, Gravance CG, Baumber J. Effect of antioxidants on preservation of motility, viability and acrosomal integrity of equine spermatozoa during storage at 5°C. [Theriogenology.](#) 2001;56:577-89.
13. Almeida J, Ball BA. Effect of α -tocopherol and tocopherol succinate on lipid peroxidation in equine spermatozoa. *Anim Reprod Sci.* 2005;87:321-37.

14. Franco JSV, Chaveiro A, Góis A, Silva FMS. Effects of α -tocopherol and ascorbic acid on equine semen quality after cryopreservation. *J Equine Vet Sci.* 2013;33:787-93.
15. Yousefian I, Zare-Shahneh A, Zhandi M. The effect of coenzyme q10 and α -tocopherol in skim milk-based extender for preservation of caspian stallion semen in cool condition. *J Equine Vet Sci.* 2014;34:949-54.
16. McNiven MA, Richardson GF. Chilled storage of stallion semen using perfluorochemicals and antioxidants. *Cell Preserv Technol.* 2003;1:165-74.
17. Gibb Z, Butler TJ, Morris LH, Maxwell WM, Grupen CG. Quercetin improves the postthaw characteristics of cryopreserved sex-sorted and nonsorted stallion sperm. *Theriogenology.* 2013;79:1001-9.
18. Varner DDD, Gibb Z, Aitken RJ. Stallion fertility: a focus on the spermatozoon. *Equine Vet J.* 2015;47:16-24.
19. Varner D, Johnson L. From a sperm's view – revisiting our perception of this intriguing cell. *AEEP Proceedings.* 2007;53:104-77.
20. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger princípios da bioquímica.* 6a ed. Porto Alegre: Artmed; 2014.
21. Venditti P, Di Stefano L, Di Meo S. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Mitochondrion.* 2013;13:71-82.
22. Lenaz G, Fato R, Formiggini G, Genova ML. The role of coenzyme Q in mitochondrial electron transport. *Mitochondrion.* 2007;7:S8-33.
23. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol.* 2003;552:335-44.
24. Kussmaul L, Hirst J. The mechanism of superoxide production by NADH: ubiquinone oxidoreductase (complex I) from bovine heart mitochondria. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:7607-12.
25. Lenzi A, Gandini L, Picardo M, Tramer F, Sandri G, Panfili E. Lipoperoxidation damage of spermatozoa polyunsaturated fatty acids (PUFA): scavenger mechanisms and possible scavenger therapies. *Front Biosci.* 2000;5:1-15.
26. Maia MS, Bicudo SD. Radicais livres, antioxidantes e função espermática em mamíferos: uma revisão. *Rev Bras Reprod Anim.* 2009;33:183-93.
27. Lenaz G. The mitochondrial production of reactive oxygen species: mechanisms and implications in human pathology. *IUBMB Life.* 2001;52:159-64.
28. Nogueira BG, Bitencourt JL, Sampaio BFB, Bender ESC, Costa e Silva EV, Zúccari CESN. Peroxidação lipídica e agentes antioxidantes no sêmen de mamíferos. *Rev Eletronica Vet.* 2013;15:1-15.

29. Lambert AJ, Brand MD. Superoxide production by NADH: ubiquinone oxidoreductase (complex I) depends on the pH gradient across the mitochondrial inner membrane. *Biochem J.* 2004;382:511-7.
30. Griveau JF, Le Lannou D. Reactive oxygen species and human spermatozoa: physiology and pathology. *Int J Androl.* 1997;20:61-9.
31. Barreiros ALBS, David JM, David JP. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim Nova.* 2006;29:113-23.
32. Salmani H, Nabi MM, Vaseghi-Dodaran H, Rahman MB, Mohammadi-Sangcheshmeh A, Shakeri M, et al. Effect of glutathione in soybean lecithin-based semen extender on goat semen quality after freeze-thawing. *Small Rumin Res.* 2013;112:123-7.
33. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration. Where are we now? *J Neurochem.* 2006;97:1634-58.
34. Catala A. An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. *Int J Biochem Cell Biol.* 2006;38:1482-95.
35. Schober D, Aurich C, Nohl H, Gille L. Influence of cryopreservation on mitochondrial functions in equine spermatozoa. *Theriogenology.* 2007;68:745-54.
36. Alvarez JG, Storey BT. Evidence for increased lipid peroxidative damage and loss of superoxide dismutase activity as a mode of sublethal cryodamage to human sperm during cryopreservation. *J Androl.* 1992;13:232-41.
37. Silva ECB, Guerra MMP. Terapias antioxidantes na criopreservação espermática. *Rev Port Cienc Vet.* 2012;107:143-9.
38. Andreyev AY, Kushnareva YE, Starkov AA. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry.* 2005;70:200-14.
39. Nogueira BG, Bitencourt JL, Sampaio BFB, Bender ESC, Costa e Silva EV, Zúccari CESN. Peroxidação lipídica e agentes antioxidantes no sêmen de mamíferos. *Rev Eletronica Vet.* 2013;15:1-15.
40. Kankofer M, Kolm G, Aurich J, Aurich C. Activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase and lipid peroxidation intensity in stallion semen during storage at 5°C. *Theriogenology.* 2005;63:1354-65.
41. Alvarez G, Storey BT. Role of glutathione peroxidase in protecting mammalian spermatozoa from loss of motility caused by spontaneous lipid peroxidation. *Gamete Res.* 1989;23:77-90.
42. Andrade ER, Melo-Sterza FA, Seneda MM, Alfieri AA. Consequências da produção das espécies reativas de oxigênio na reprodução e principais mecanismos antioxidantes. *Rev Bras Reprod Anim.* 2010;34:79-85.

43. Wright JS, Johnson ER, Dilabio GA. Predicting the activity of phenolic antioxidants: theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants. *J Am Chem Soc.* 2001;123:1173-83.
44. Stojanovic S, Sprinz H, Brede O. Efficiency and mechanism of the antioxidant action of trans-resveratrol and its analogues in the radical liposome oxidation. *Arch Biochem Biophys.* 2001;391:79-89.
45. Aitken RJ, Clarkson JS. Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. *J Reprod Fertil.* 1988;81:459-69.
46. Ijaz A, Hussain A, Aleem M, Yousaf MS, Rehman H. Butylated hydroxytoluene inclusion in semen extender improves the post-thawed semen quality of Nili-Ravi buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology.* 2009;71:1326-9.
47. Ansari MS, Rakha BR, Akhter S. Effect of butylated hydroxytoluene supplementation in extender on motility, plasmalemma and viability of sahiwal bull spermatozoa. *Pak J Zool.* 2011;43:311-4.
48. Neagu VR, García BM, Sandoval CS, Rodríguez AM, Ferrusola CO, Fernández LG, et al. Freezing dog semen in presence of the antioxidant butylated hydroxytoluene improves postthaw sperm membrane integrity. *Theriogenology.* 2010;73:645-50.
49. Trzcińska M, Bryła M, Gajda B, Gogol P. Fertility of boar semen cryopreserved in extender supplemented with butylated hydroxytoluene. *Theriogenology.* 2015;83:307-13.
50. Alrawaiq NS, Abdullah A. A review of flavonoid quercetin: metabolism, bioactivity and antioxidant properties. *Int J PharmTech Res.* 2014;6:933-41.
51. Afanas'ev IB, Dorozhko AI, Brodskii AV, Kostyuk VA, Potapovitch AI. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. *Biochem Pharmacol.* 1989;38:1763-9.
52. Chen Y, Zheng R, Jia Z, Ju Y. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radic Biol Med.* 1990;9:19-21.
53. Gülçin I. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch Toxicol.* 2012;86:345-91.

Recebido em: 30/08/2016

Aceito em: 31/05/2017

COLHEITA FRACIONADA E SEUS PRINCIPAIS BENEFÍCIOS NA CRIOPRESERVAÇÃO DO SÊMEN DE GARANHÕES

Sidnei Nunes de Oliveira¹
Endrigo Adonis Braga de Araujo²
Luis Fernando Mercês Chaves Silva²
Felipe Morales Dalanezi²
Patrícia de Mello Papa¹
Bertiny Moreira Pinto³
Luiz Roberto Pena de Andrade Junior²
Frederico Ozanam Papa⁴

RESUMO

As colheitas de sêmen em equinos são realizadas de forma convencional, com vagina artificial fechada, em que todas as frações se misturam. No entanto, a colheita de sêmen de forma fracionada, separa as diferentes frações do ejaculado, cada uma dessas frações possuem uma maior ou menor quantidade de plasma seminal, sendo as glândulas sexuais acessórias responsáveis por sua produção. Cada garanhão possui características individuais com relação à manutenção das células espermáticas durante a criopreservação, essas características podem estar relacionadas à produção do plasma seminal, assim como dos vários componentes. Sabe-se que existe um efeito deletério desempenhado pelos componentes do plasma seminal produzido principalmente pelas vesículas seminais, aos espermatozoides durante o processo de criopreservação, porém, esses fatores ainda são desconhecidos. Várias hipóteses são sugeridas, tais como, a redução na produção de lipídeos e os tipos de proteínas e íons presentes em cada uma das frações do ejaculado. Sabendo disso, a colheita fracionada pode trazer benefícios aos espermatozoides, de forma que as primeiras frações não tenham contato com o plasma seminal produzido pelas vesículas seminais, possibilitando uma melhor manutenção espermática durante a criopreservação.

Palavras-chave: equino, colheita fracionada, sêmen.

FRACTIONATED COLLECTION AND THEIR MAIN BENEFITS IN THE STALLION SPERM CRYOPRESERVATION

ABSTRACT

Equine semen is collected by conventional way, with a closed artificial vagina, where all the fractions are mixed. However, semen collection discontinuously, separating the different fractions of the ejaculate, each of these fractions have a greater or lesser amount of seminal plasma, being the sex accessory glands responsible for their production. Each stud has individual characteristics with respect to the maintenance of sperm cells during the cryopreservation, these characteristics may be related to production of seminal plasma as well as the various components making up. It is known that there is a deleterious effect played by components of seminal plasma mainly produced by the seminal vesicles, the sperm cells during the cryopreservation process, however, these factors are still unknown. Several hypotheses are

¹ Doutorando no Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária. FMVZ-UNESP-Botucatu. Contato principal para correspondência.

² Mestrado no Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária. FMVZ-UNESP-Botucatu.

³ Residente no Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária. FMVZ-UNESP-Botucatu.

⁴ Prof. Titular do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária. FMVZ-UNESP-Botucatu.

suggested such as reducing the production of lipids and proteins and the types of ions present in each fraction of the ejaculate. Knowing this, the fractional harvest can be beneficial to sperm, so that the first fraction have no contact with seminal plasma produced by the seminal vesicles, allowing for better maintenance sperm during cryopreservation.

Keywords: equine, fractionated collection, semen.

COSECHA FRACCIONADA Y SUS PRINCIPALES BENEFICIOS EN LA CRIOPRESERVACIÓN DE SEMEN DE CABALLOS

RESUMEN

Las cosechas convencionales de semen equino, son realizadas con vagina artificial cerrada, donde todas las fracciones seminales quedan mezcladas. No obstante, la colecta de semen de forma dividida o fraccionada, separa las diferentes “fracciones” del eyaculado. Fracciones que contiene una mayor o menor cantidad de plasma seminal, siendo las glándulas sexuales accesorias responsables por su producción. Cada reproductor posee características individuales con relación al mantenimiento de las células espermáticas durante la criopreservación, características que pueden estar relacionadas a la producción del plasma seminal, o a alguno de sus componentes. Es conocido la existencia de un efecto deletéreo desempeñado por los componentes del plasma seminal, producido principalmente por las vesículas seminales a los espermatozoides durante el proceso de criopreservación. Sin embargo, esos factores se desconocen. Varias hipótesis son sugeridas, tales como, reducción en la producción de lípidos y los tipos de proteínas e iones presentes en cada una de las fracciones del eyaculado. Sabiendo esto, la cosecha fraccionada puede traer beneficios a los espermatozoides, de forma que las primeras fracciones no tengan contacto con el plasma seminal producido por las vesículas seminales, posibilitando una mejor manutención espermática durante la criopreservación.

Palabras claves: equino, cosecha fraccionada, semen.

INTRODUÇÃO

A inseminação artificial vem se tornando um pilar de sustentação e evolução na criação de equinos, tendo em vista que seu uso traz grandes benefícios na difusão do material genético de animais classificados como superiores, dentre eles, campeões em diversas modalidades de competição equestre.

Apesar do avanço no uso das biotécnicas reprodutivas, ainda há grandes desafios para melhorar os índices reprodutivos na equinocultura, principalmente quando estão relacionadas à criopreservação das células espermáticas em ganhos.

Estudos realizados indicam que o plasma seminal (PS) acarreta danos aos espermatozoides, culminando em prejuízos na qualidade espermática durante a refrigeração e a congelamento (1), podendo diminuir os índices de fertilidade. Embora o plasma seminal possua um efeito negativo durante a criopreservação, existem também evidências do seu papel protetor às células espermáticas (2), dentre elas a prevenção da capacitação prematura que pode ser induzida durante o processo de congelamento e descongelamento (3), afirmando que, a presença de pequenas quantidades de PS parece ser necessária. Segundo Alghamdi et al. (4), a motilidade espermática é maior quando a proporção de PS é $\leq 5\%$ antes da refrigeração e congelamento, quando comparada a amostras com proporções entre 10-30% no volume do ejaculado. Por outro lado, Jasko et al. (5) demonstram que a proporção ideal de PS no ejaculado seja em torno de 5 a 20%, sem que haja um efeito prejudicial durante a criopreservação. Portanto, a centrifugação

para retirada do PS faz-se necessária, principalmente para aqueles garanhões cujos ejaculados possuem baixa tolerância à criopreservação (1).

Assim, pressupõe-se que exista uma variação individual do efeito do PS entre garanhões (6) e da sua produção, existindo variações na composição do PS nas diferentes frações do ejaculado (7). Contudo, em estudos realizados, demonstrou-se que a fração rica em espermatozoides do ejaculado possui uma tolerância maior a criopreservação quando comparada às demais frações (2,8).

Durante a colheita de sêmen de forma convencional, utilizando-se as vaginas artificiais modelo Missouri, Nishikawa, Hannover, Colorado ou Botucatu, todas as frações do ejaculado se misturam e não há possibilidade de separação destas. Diante disto, Varner et al. (9) sugerem que a colheita fracionada poderá reduzir o efeito deletério do PS ao colher apenas a fração rica em espermatozoides do ejaculado, correspondente a 75% do total de espermatozoides.

Desta forma, uma alternativa para minimizar as injúrias provocadas pelo PS em garanhões que produzem sêmen com tolerância limitada à criopreservação, seria a colheita de sêmen fracionada, possibilitando, com isso, identificar as diferentes frações e separar a fração espermática com maior percentual de espermatozoides em menor contato com o PS. O presente trabalho tem por objetivo revisar a colheita fracionada de sêmen em garanhões, assim como, seus benefícios para as células espermáticas que serão submetidas à criopreservação.

REVISÃO DE LITERATURA

Principais Métodos de Colheita do Sêmen Equino

Estimulação Manual

O processo de colheita de sêmen em garanhões se iniciou por volta de 1965, em que utilizava-se a estimulação manual do pênis com um saco plástico descartável sobre a extremidade do pênis para pegar o ejaculado (10-12). Em dias atuais, esse tipo de colheita pode ser utilizada em casos específicos, como por exemplo, em garanhões com paralisia de pênis ou com déficit de ereção (13). A partir disso, essa técnica foi aperfeiçoada e criou-se um modelo de vagina artificial caseiro, estilo Mississippi, composta por um tudo de borracha e látex, uma extremidade com duas camadas de espuma e um acolchoamento de borracha (10,14).

Colheita Convencional com Vagina Artificial

Desde então, as colheitas de sêmen em equinos são realizadas por meio de uma vagina artificial, para a realização das colheitas o garanhão monta em manequim ou em uma égua em estro devidamente contida (10,15).

Diversos modelos de vagina artificial (VA) foram criados, tais como: Hannover, Missouri, Nishikawa, Colorado, Botucatu, dentre outros modelos, e são empregadas usualmente na colheita convencional de ejaculados de garanhões em programas de reprodução assistida em todo o mundo. Basicamente, esses modelos de vaginas possuem um tubo rígido, uma mucosa interna de látex, que armazena o líquido para manutenção da temperatura interna, em torno de 44 e 50°C, e um recipiente para armazenamento do sêmen (16,17). A partir do trabalho realizado por Lopes et al. (18), a maioria das colheitas de sêmen usualmente colocam uma mucosa sanitária interna de plástico, evitando o contato das células espermáticas com a mucosa de látex, que pode ser prejudicial aos espermatozoides, além de evitar a transmissão de doenças venéreas de um garanhão para outro durante as colheitas.

Apesar das vaginas artificiais convencionais serem as mais utilizadas na rotina dos haras a nível mundial, por serem de fácil utilização e praticidade, não representam uma situação

fisiológica da monta natural, assim, no volume total da ejaculação, todos os fluidos se misturam em um recipiente único (19,20).

Um ponto crítico da utilização da colheita de forma convencional está relacionada à contaminação bacteriana, de forma que, neste modelo de colheita, o líquido pré-seminal, assim como todos os jatos de sêmen, se misturam, entrando em contato direto com o pênis, que poderá levar a contaminação do ejaculado, o que justifica a frequência de isolamento bacteriano sem evidência de infecção no ejaculado total (21,22).

Alternativas de Colheita de Sêmen em Equinos

Outras formas de colheita de sêmen mencionadas na literatura são: a colheita de sêmen com o animal em estação, indicada para aqueles com problemas do sistema músculo esquelético ou com lesões neurológicas, impossibilitado-os de realizar a monta, principalmente quando ocorre em animais idosos (10,13,15); por indução farmacológica, utilizado para aqueles garanhões com distúrbios ejaculatórios, fraturas ósseas com imobilização de algum membro, disfunção erétil, paralisia de pênis, em que opta-se pela utilização de fármacos alfa-adrenérgicos (13,23), além de detomidina, prostaglandina e ocitocina, que também têm sido estudados (12,23); e a colheita de sêmen da cauda do epidídimo, para garanhões com morte inesperada, causada por cólicas, acidentes traumáticos ou em problemas relacionados à manutenção dos testículos, como na hérnia escrotal, ou outras situações que comprometam a utilização futura do material genético (24-27).

COLHEITA FRACIONADA DO SÊMEN EQUINO

Inicialmente, a colheita fracionada do sêmen equino, com o uso de vagina artificial aberta, foi descrita por Mann et al. (28), em que foram determinadas as primeiras divisões do ejaculado nas frações pré-espermática, rica em espermatozoides, pobre em espermatozoides e gelatinosa. Esse modelo de vagina artificial permite a separação das diferentes frações do ejaculado de acordo com os jatos de sêmen, podendo ser usado como um método diagnóstico de patologias das glândulas sexuais acessórias e/ou do pênis, além de permitir uma colheita de sêmen com uma menor contaminação bacteriana.

Em 1974, Tischner et al. (19), objetivando obter mais informações sobre o padrão copulatório e ejaculatório dos garanhões, realizaram colheitas com o uso de vagina artificial aberta, a qual denominaram de modelo Kraków-72. A partir deste trabalho, pode-se compreender melhor o processo ejaculatório dos equinos.

Varner et al. (9) utilizando uma adaptação do modelo proposto por Tischner et al. (19) e utilizaram uma vagina artificial modelo Missouri desprovida do copo coletor que fica acoplado no final da vagina, com isso, o ejaculado foi dividido em duas frações, a primeira composta pelos três primeiros jatos de sêmen e a segunda, o restante do ejaculado, sendo colhidas em recipientes diferentes.

Em 1993, um modelo de manequim com simulador de colheita fracionada computadorizado foi desenvolvido na Finlândia, com o objetivo de separar as frações seminais e minimizar a contaminação da fração rica em espermatozoides, denominado de Equidame® (29). É composto internamente por uma vagina artificial e acoplada a ela há um funil metálico, logo abaixo, existe uma bandeja coletora de sêmen que possui cinco compartimentos onde são encaixados os recipientes de colheita conectados a um computador e, à medida que vão sendo preenchidos com o peso programado correspondente a cada fração do ejaculado, essa bandeja se move horizontalmente, sendo necessário apenas uma pessoa para a realização da colheita (29). Apesar de inovador, seu custo parece ser bastante elevado, um fator limitante à sua acessibilidade.

Outro modelo de vagina artificial aberta para colheita fracionada foi criado por Fonseca (17), denominada de vagina experimental articulada, composto por um dispositivo fracionador que separa o líquido pré-espermático no primeiro copo, em seguida, os três primeiros jatos num segundo copo e o restante do ejaculado novamente no primeiro copo, separando, assim, em duas porções.

Em 2011, Kareskoski (30) comparou a colheita fracionada pelo Equidame® à utilização da vagina artificial modelo Missouri com um funil acoplado a uma bacia de “probe”, em que as frações são separadas por pinças, demonstrando que não houve diferença entre os dois métodos.

Apesar de várias formas e modelos de colheitas fracionadas estarem descritos na literatura, ainda é pouco utilizada na rotina, em alguns casos por se tratar de uma técnica laboriosa ou pela falta de um método prático que se adeque tanto em pesquisas quanto aos profissionais que trabalham à campo.

Benefícios da Colheita Fracionada do Sêmen Equino

Em comparação ao método tradicional, a vagina artificial aberta possui algumas vantagens assim como, desvantagens. De acordo com Jasko et al. (5), o plasma seminal possui um efeito deletério sobre a viabilidade das células espermáticas e, sabendo das características ejaculatórias do equinos, por meio de trabalhos descritos a colheita fracionada começou a ser utilizada como uma alternativa para minimizar as injúrias provocadas pelo plasma seminal, sendo também uma opção à centrifugação para retirada do PS, que acarreta danos aos espermatozoides intolerantes a esta técnica.

Varner et al. (9) relatam a utilização da colheita fracionada como forma de eliminar o contato do plasma seminal produzido pelas vesículas seminais, com a fração rica em espermatozoides e com isso, melhorar a longevidade espermática, desta forma, foram colhidos apenas os três primeiros jatos de sêmen e observou-se que inicialmente não há diferença de motilidade entre a fração rica em espermatozoides comparada ao ejaculado total, porém, houve diferença estatística na motilidade total e progressiva após algumas horas de incubação. Achados semelhantes foram reportados por Kareskoski et al. (2), sendo a motilidade total da fração rica superior ao ejaculado total pós-descongelamento. A partir disso, pode-se concluir que existe um efeito deletério do plasma seminal nas células espermáticas ainda não elucidados e, com o passar do tempo, o contato prejudica ainda mais a viabilidade espermática.

Além disso, também há evidências de que a colheita fracionada diminui a contaminação bacteriana do ejaculado, como demonstrado por Tischner et al. (19), em que os jatos foram separados individualmente e não observou-se crescimento bacteriano em nenhuma das frações, ao contrário do observado nas amostras de ejaculado total, que apresentaram elevado grau de contaminação, além de ressaltar a eficiência na separação exata das frações do ejaculado por meio da colheita fracionada.

Lindeberg et al. (29) relataram uma diferença estatística significativa das unidades formadoras de colônias (UFC) após a refrigeração, por um período de 24h, quando a colheita foi realizada de forma convencional, com a vagina artificial Missouri, em comparação ao modelo Equidame® de colheita fracionada entretanto, após um período de 48h, não foram encontradas diferenças significativas entre os dois métodos. Em relação à contagem de UFC entre as frações pré-espermáticas e rica em espermatozoides, colhidos por meio do Equidame®, não houve diferença e poucas UFC foram isoladas (29). Além disso, quando esses mesmos autores compararam os valores de motilidade total e progressiva entre os métodos de colheita, não houve diferença estatística significativa 24 ou 48h após a refrigeração e após a descongelamento.

Uma redução das UFC também foi reportada por Fonseca (17), quando os ejaculados foram colhidos fracionados com a vagina artificial articulada, ao contrário do observado no

ejaculado total, colhido pelo método convencional, apresentando uma elevação das UFC. Porém, esse trabalho não mostrou diferença significativa entre a cinética espermática da fração rica e a fração pobre em espermatozoides logo após as colheitas.

Sieme et al. (8), demonstraram que os primeiros três jatos de sêmen colhidos fracionados e centrifugados para a congelação diferenciaram positivamente em termos de integridade de membrana e motilidade progressiva após a descongelação.

Diferentes resultados foram obtidos por Akcay et al. (6), que afirmaram haver uma superioridade na integridade de membrana para um “pool” de espermatozoides das demais frações do ejaculado, separados por meio do Equidame[®] quando comparado à fração rica em espermatozoides, já em relação à motilidade progressiva, não houve diferença entre o “pool” e a fração rica.

Resultados semelhantes foram sugeridos por Kareskoski et al. (2), estes compararam as diferentes frações do ejaculado fracionado, colhidos com o Equidame[®], após a remoção do PS por centrifugação e ressuspensão em meio de refrigeração, com as mesmas frações, sem a retirada do PS e apenas diluídas em meio à base de leite. Os resultados mostraram uma redução da motilidade dos espermatozoides em amostras que o PS foi removido, portanto, os autores sugerem existir uma interação positiva da motilidade com a presença de PS.

Kareskoski (30) encontrou um percentual elevado de fragmentação do DNA nas frações rica, pobre e a fração correspondente ao ejaculado total quando as amostras foram refrigeradas com a presença do PS. Apesar disso, não foram encontradas diferenças entre os parâmetros de motilidade total e progressiva entre as diferentes frações do ejaculado após a refrigeração.

Além dos benefícios da colheita fracionada anteriormente citados, uma nova abordagem de extrema importância desse método faz-se necessário para ganhões com vesiculite. Desta forma, a colheita fracionada foi relatada com sucesso na recuperação de espermatozoides de um ganhão com piospermia (31,32). Como a fração contaminada do ejaculado é a terceira, produzida pela vesícula seminal, acredita-se que as primeiras frações de sêmen são isentas de contaminação ou pouco contaminadas, tornando possível a recuperação do sêmen para posterior utilização para criopreservação.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar das diferentes abordagens e achados a respeito dos benefícios da utilização da colheita fracionada de sêmen de ganhões, os resultados ainda são inconsistentes. Acredita-se que existam benefícios, porém, talvez tenha relação com a individualidade de cada ganhão.

Quando as células espermáticas são prejudicadas pelo plasma seminal, a colheita fracionada é o método mais indicado para reduzir esse efeito deletério exercido nos espermatozoides.

Para ganhões com oligospermia, a colheita fracionada torna-se um método eficiente para concentrar as células espermáticas do ejaculado, reduzindo os possíveis danos mecânicos provocados pela centrifugação. Como técnica diagnóstico e recuperação de células espermáticas em ganhões com patologias das glândulas sexuais acessórias, essa técnica torna-se uma alternativa de grande aplicabilidade. Apesar das inúmeras vantagens, mais estudos são necessários para aperfeiçoar a técnica da colheita fracionada.

Apoio e financiamento Agência FAPESP.

REFERÊNCIAS

1. Kareskoski AM, Katila T. Components of stallion seminal plasma and the effects of seminal plasma on sperm longevity. *Anim Reprod Sci.* 2008;10:249-56.

2. Kareskoski AM, Reilas T, Andersson M, Katila T. Motility and plasma membrane integrity of spermatozoa in fractionated stallion ejaculates after storage. *Reprod Domest Anim.* 2006;41:33-8.
3. Schembri MA, Major DA, Suttie JJ, Maxwell WM, Evans G. Capacitation-like changes in equine spermatozoa throughout the cryopreservation process. *Reprod Fertil Dev.* 2002;14:225-33.
4. Alghamdi AS, Troedsson MH, Xue JL, Crabo BG. Effect of seminal plasma concentration and various extenders on postthaw motility and glass wool-Sephadex filtration of cryopreserved stallion semen. *Am J Vet Res.* 2002;63:880-5.
5. Jasko DJ, Hathaway JA, Schaltenbrand VL, Simper WD, Squires EL. Effect of seminal plasma and egg yolk on motion characteristics of cooled stallion spermatozoa. *Theriogenology.* 1992;37:1241-52.
6. Akcay E, Reilas T, Andersson M, Katila T. Effect of seminal plasma fractions on sperm survival after cooled storage. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 2006;53:481-5.
7. Katila T, Reilas T, Guvenc K, Alm K, Andersson M. The effect of seminal plasma on motility characteristics and viability of spermatozoa after cooled storage. In: *Proceedings of the 3rd Meeting of the EEGG; 2004; Suffolk, UK.* Suffolk: EEGG; 2004. p.3-5.
8. Sieme H, Katila T, Klug E. Effect of semen collection practices on sperm characteristics before and after storage and on fertility of stallions. *Theriogenology.* 2004;61:769-84.
9. Varner DD, Blanchard TL, Love CL, Garcia MC, Kenney RM. Effects of semen fractionation and dilution ratio on equine spermatozoal motility parameters. *Theriogenology.* 1987;28:709-18.
10. Crump Jr J, Crump J. Stallion ejaculation induced by manual stimulation of the penis. *Theriogenology.* 1989;31:341-6.
11. McDonnell SM, Love CC. Manual stimulation collection of semen from stallions: training time, sexual behavior and semen. *Theriogenology.* 1990;33:6.
12. McDonnell SM. Ejaculation physiology and dysfunction. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 1992;8:57-70.
13. McDonnell SM. Techniques for extending the breeding career of aging and disabled stallions. *Clin Tech Equine Pract.* 2005;4:269-76.
14. Berliner V. Horses and Jackstock. In: Perry EJ. *The artificial insemination of farm animals.* New Brunswick, NJ: Rutgers University Press; 1960.
15. Schumacher J, Riddell MG. Collection of stallion semen without a mount. *Theriogenology.* 1986;26:245-50.
16. McKinnon AO, Voss JL. *Equine reproduction.* Philadelphia: Lea and Febiger; 1992.

17. Fonseca CW. Efeito de uma nova técnica de coleta fracionada sobre a composição do plasma seminal e qualidade do sêmen equino pós-descongelamento [dissertação]. Campos dos Goytacazes: Universidade estadual do norte fluminense Darcy Ribeiro; 2006.
18. Lopes MD, Papa FO, Martino AP, Bicudo SD, Alvarenga MA. Efeito do tipo de mucosa de vagina artificial sobre a qualidade espermática de garanhões. *Rev Bras Reprod Anim.* 1997;21:29-34.
19. Tischner M, Kosiniak K, Bielanski W. Analysis of the pattern of ejaculation in stallions. *J Reprod Fertil.* 1974;41:329-35.
20. Rodríguez-Martínez H, Kvist U, Ernerudh J, Sanz L, Calvete JJ. Seminal plasma proteins: what role do they play? *Am J Reprod Immunol.* 2011;66:11-22.
21. Tischner M, Kosiniak K. Techniques for collection and storage of stallion semen with minimal secondary contamination. *Acta Vet Scand.* 1992;88:83-90.
22. Silva KMG, Papa FO, Gabaldi SH, Crocci AJ. Efeito dos antibióticos gentamicina e cefalotina e do aminoácido taurina em meio de gema de ovo (Baken), sobre a longevidade e fertilidade do sêmen resfriado de equino. *Rev Bras Cienc Vet.* 2003;10:81-7.
23. McDonnell SM. Oral imipramine and intravenous xylazine for pharmacologically-induced ex copula ejaculation in stallions. *Anim Reprod Sci.* 2001;68:153-9.
24. Papa FO, Melo CM, Fioratti EG, Dell'Aqua Jr. JA, Zahn FS, Alvarenga MA. Freezing of stallion epididymal sperm. *Anim Reprod Sci.* 2008;107:293-301.
25. Heise A, Thompson PN, Gerber D. Influence of seminal plasma on fresh and post-thaw parameters of stallion epididymal spermatozoa. *Anim Reprod Sci.* 2011;123:192-201.
26. Monteiro GA, Papa FO, Zahn FS, Dell'Aqua Jr. JA, Melo CM, Maziero RRD, et al. Cryopreservation and fertility of ejaculated and epididymal stallion Sperm. *Anim Reprod Sci.* 2011;127:197-201.
27. Monteiro GA, Guasti PN, Rocha AS, Martin I, Sancler-Silva YFR, Freitas Dell'Aqua CP, et al. Effect of storage time and temperature of equine epididymis on the viability, motion parameters, and freezability of epididymal sperm. *J Equine Vet Sci.* 2013;33:169-73.
28. Mann T, Short RV, Walton A. The 'tail-end sample' of stallion semen. *J Agric Sci Cambridge.* 1957;49:301.
29. Lindeberg H, Karjalainen H, Koskinen E, Katila T. Quality of stallion semen obtained by a new semen collection phantom (equidame®) versus a missouri® artificial vagina. *Theriogenology.* 1999;51:1157-73.
30. Kareskoski AM. Components of fractionated stallion seminal plasma and the effects of seminal plasma on sperm longevity [dissertação]. Helsinki: Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki Finland; 2011.

31. Oliveira SN, Araujo EAB, Chaves-Silva LFM, Andrade Jr LRP, Dalanezi FM, Pinto BM, et al. Eficiência de uma nova técnica de coleta de sêmen para diagnóstico e controle de piospermia em garanhões: relato de caso. In: Anais da 16a Conferência Anual da ABRAVEQ; 2015; Águas de Lindóia. Águas de Lindóia: ABRAVEQ; 2015.
32. Oliveira SN, Andrade Jr. LRP, Chaves-Silva LFM, Araujo EAB, Dalanezi FM, Papa PM, et al. Novo método de colheita fracionada de sêmen para melhoria da fertilidade em garanhão com vesiculite seminal. In: Anais da 17a Conferência Anual da ABRAVEQ; 2016; Campos do Jordão. Campos do Jordão: ABRAVEQ; 2016.

Recebido em: 18/10/2016

Aceito em: 04/06/2017

ACESSÓRIOS DE IMOBILIZAÇÃO E PROTEÇÃO UTILIZADOS NA RADIOTERAPIA DE PEQUENOS ANIMAIS

Michel Campos Vettorato¹
Marco Antonio Rodrigues Fernandes²
Luiz Carlos Vulcano³

RESUMO

A radioterapia é uma modalidade médica bastante estabelecida no tratamento do câncer dentro da medicina veterinária mundialmente. Os protocolos radioterápicos aplicados em animais variam em função de vários fatores. Na maioria dos procedimentos requer a sedação ou mesmo a anestesia do animal e este fato impõe o uso de acessórios de imobilização especialmente desenvolvidos para as diferentes espécies de animais tratados e conforme os respectivos procedimentos indicados. Por isso este trabalho tem como objetivo descrever os tipos de acessórios utilizados para imobilização e para a proteção de pequenos animais submetidos à radioterapia. Para o seu desenvolvimento uma pesquisa bibliográfica foi realizada por meio de sites de buscas como Google Acadêmico, Scielo, Bireme, PubMed, além de consultas em livros da biblioteca do campus da UNESP de Botucatu. Apesar das limitações de cada acessório avaliado nessa revisão, foi possível identificar a utilização de cada um e como isso pode ser vantajoso para o tratamento dos animais submetidos a radioterapia.

Palavras-chave: radioterapia veterinária, pequenos animais, acessórios de imobilização.

ACCESSORIES FOR DETENTION AND PROTECTION USED IN SMALL ANIMALS RADIATION THERAPY

ABSTRACT

Radiation therapy is a medical method well established in the treatment of cancer in veterinary medicine worldwide. The radiotherapy protocols applied in animals vary according to several factors. In most procedures require sedation or anesthesia of the animal and this fact imposes the use of immobilization accessories specially developed for the different species of animals and treated as their specified procedures. Therefore, this study aims to describe the types of accessories used for immobilization and for the protection of small animals undergoing radiotherapy. For its development a literature search was performed by search sites like Google Scholar, Scielo, Bireme, PubMed, and consultations in books campus library Botucatu UNESP. Despite the limitations of each accessory rated this review, it was possible to identify the use of each and how this can be advantageous for the treatment of animals undergoing radiation therapy.

Keywords: veterinary radiotherapy, little animals, Immobilization accessories.

¹ Mestrando em Biotecnologia Animal na FMVZ-UNESP-Botucatu. Contato para correspondência.

² Docente do Departamento de Dermatologia e Radioterapia da Faculdade de Medicina, UNESP-Botucatu.

³ Docente da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu – UNESP.

ACCESORIOS INMOVILIZACIÓN Y PROTECCIÓN UTILIZADOS EN RADIOTERAPIA DE PEQUEÑOS ANIMALES

RESUMEN

La radioterapia es un método médico bien establecida en el tratamiento del cáncer en la medicina veterinaria en todo el mundo. Los protocolos de radioterapia aplicada en los animales varían de acuerdo a varios factores. En la mayoría de los procedimientos requieren sedación o anestesia del animal y este hecho impone el uso de accesorios de inmovilización especialmente desarrollado para las diferentes especies de animales y tratados como sus procedimientos especificados. Por lo tanto, este estudio tiene como objetivo describir los tipos de accesorios utilizados para la inmovilización y para la protección de pequeños animales sometidos a radioterapia. Para su desarrollo una búsqueda bibliográfica se realizó por los sitios de búsqueda como Google Scholar, Scielo, Bireme, PubMed, y consultas en la biblioteca libros campus de Botucatu UNESP. A pesar de las limitaciones de cada accesorio valorado este examen, fue posible identificar el uso de cada uno y cómo esto puede ser ventajoso para el tratamiento de los animales sometidos a radioterapia.

Palabras clave: la radioterapia veterinaria, animales pequeños, accesorios de inmovilización.

INTRODUÇÃO

A radioterapia é uma modalidade médica bem estabelecida para o tratamento do câncer. Na área da medicina veterinária a radioterapia tem se apresentado como uma importante opção terapêutica na rotina da clínica de pequenos animais. No entanto, no Brasil, a aplicação da radioterapia veterinária é ainda pouco realizada, limitando-se apenas à pesquisas em poucos hospitais veterinários em algumas universidades do país (1,2).

Os protocolos radioterápicos aplicados na veterinária variam em função de vários fatores, tais como: disponibilidade de equipamento e de fontes radioativas, fatores econômicos, preferências do cliente, manejo e logística do animal (3,4). O estadiamento clínico da doença também é um fator preponderante para a escolha do plano de tratamento (5).

O sucesso da radioterapia depende de vários fatores, dentre os quais o uso de acessórios adequados para a proteção e imobilização dos pacientes. Estes dispositivos devem possuir características próprias que contribuem para o manuseio confortável do paciente e permitam a focalização do campo de radiação restrita ao volume de tratamento e não interfiram na dose de radiação liberada (6).

A maioria dos procedimentos radioterápicos em medicina veterinária requer a sedação ou mesmo a anestesia do animal. Este fato impõe o uso de acessórios de imobilização especialmente desenvolvidos para as diferentes espécies de animais tratados e conforme os respectivos procedimentos indicados (7). Por isso este trabalho teve como objetivo descrever os tipos de acessórios de imobilização e proteção utilizados na radioterapia de pequenos animais.

MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa bibliográfica foi realizada por meio de sites de buscas como Google Acadêmico, Scielo, Bireme e PubMed, localizados com as palavras chaves: radioterapia veterinária, pequenos animais, acessórios de imobilização, além de consultas em livros da biblioteca do campus da UNESP de Botucatu, relacionados com o uso de radiações ionizantes em medicina veterinária.

Os periódicos, livros e publicações online encontrados foram analisados conjuntamente com um especialista na área e as publicações descritas em língua inglesa foram traduzidas manualmente e corrigidas por um revisor.

Para a imobilização dos pequenos animais durante o tratamento além da sedação e da anestesia, são utilizados alguns acessórios imobilizadores semelhantes aos usados na radioterapia humana e adaptados ao uso animal, tais como quadros ou molduras para cabeça, máscaras termoplásticas, blocos de mordida e colchões moldáveis (5).

As máscaras de material termoplástico, quando em temperatura ambiente são rígidas. Para a moldagem da região anatômica do paciente, a máscara é aquecida em água a uma temperatura de 70° C e em seguida é aplicada na região a ser moldada, após cerca de 5,0 minutos o material está novamente endurecido e assume a forma da região anatômica moldada e pronto para o seu uso (8).

O uso da máscara termoplástica tem demonstrado bastante aplicabilidade em pequenos animais, especialmente para o tratamento de tumores da cabeça e pescoço, quando comparados com outros acessórios imobilizadores da cabeça. No entanto, a efetividade da máscara termoplástica é ainda maior quando seu uso é em conjunto com outros acessórios de imobilização (9).

O preparo da máscara termoplástica segue a mesma praticidade dos serviços de radioterapia humana, no entanto, ao colocá-la em um paciente veterinário, em alguns casos é preciso modificá-la. Uma adaptação frequente é um corte circular na porção mais rostral do termoplástico, o qual permite uma abertura para a passagem do tubo endotraqueal. Os pacientes da veterinária são normalmente colocados em decúbito ventral para a montagem da máscara, enquanto os pacientes humanos são convencionalmente colocados em posição dorsal (10). A Figura 1 ilustra a utilização de uma máscara termoplástica adaptada ao uso de um cão, realçando a abertura para a passagem do tubo endotraqueal.



Figura 1. Máscara termoplástica adaptada ao uso veterinário na mesa de um equipamento de radioterapia (10).

A máscara de imobilização deve ser utilizada durante todo o tratamento, no entanto, alguns fatores como o emagrecimento dos pacientes ou uma diminuição da lesão, implicará em reajuste do acessório ou na confecção de nova máscara, com subsequente planejamento do tratamento para se garantir a correta irradiação do volume alvo (11).

Alguns estudos (12,13,14) apontam que o uso de máscaras termoplásticas intensifica a dose de entrada na pele do paciente.

Um acessório utilizado para a imobilização da região bucal do animal é o bloco de mordida confeccionado em resina de uso em prótese dentária (resina e catalisador). Durante o planejamento radioterápico, os dentes do paciente são pressionados na resina até o endurecimento do molde (15). Outros pesquisadores preferem blocos de mordida feitos em acrílico (16).

A Figura 2 ilustra a sequência de confecção do molde de mordida para imobilização do paciente veterinário até o momento do posicionamento para o procedimento de radioterapia (A a D) e o posicionamento de um cão um molde dentário de acrílico (E a G).

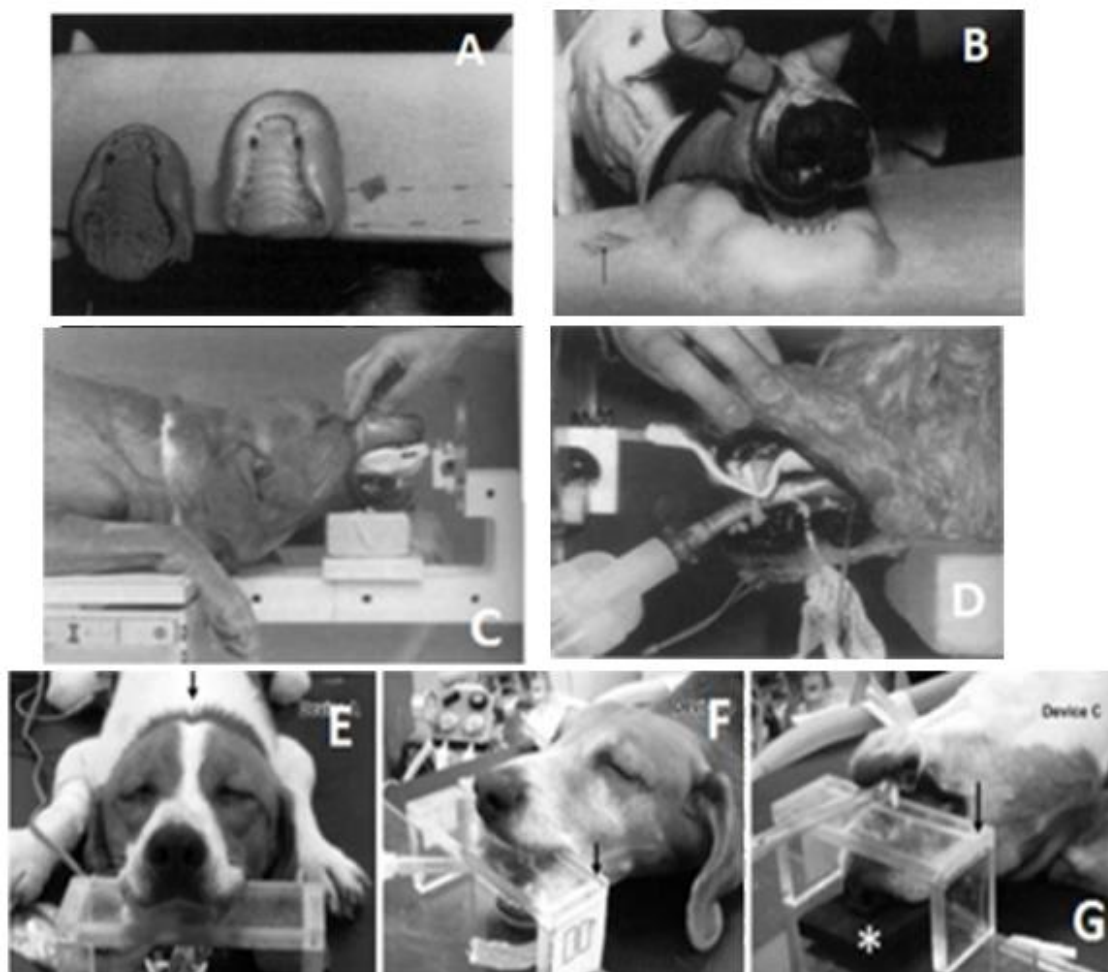


Figura 2. Posicionamento do animal durante processo de imobilização no acessório (A a D) e no molde dentário de acrílico (E a G) (9,15,16).

Alguns autores indicam o uso de colchão inflável (vac-lok™) para imobilização do paciente (17). Este acessório substitui os convencionais, tais como: sacos de areia, toalhas, fitas de fixação, cunhas de espuma e outros. Uma desvantagem do método convencional em relação ao uso do colchão inflável é a falta de conformação ao contorno do paciente, o que pode provocar a variabilidade do posicionamento durante o tratamento. Além disto, o colchão inflável pode ser reutilizado em outro paciente.

A Figura 3 ilustra o uso do colchão inflável no procedimento de aquisição das imagens tomográficas (A e B) e o posicionamento de um cão imobilizado para a realização da radioterapia (C).

Outro acessório comumente usado é o compensador de tecido, que popularmente é denominado como “*bolus*”, o qual é utilizado para preencher a região a ser tratada que apresenta falta de tecido, produzindo assim a superficialização da dose de radiação. A cera odontológica é um material comumente usado para confecção de *bolus* (18). A Figura 4 ilustra um cão com cicatriz cirúrgica após retirada do mastocitoma na região do membro (A) e em procedimento radioterápico com o uso de *bolus* (B).

O filtro em cunha é um acessório utilizado para homogeneização da dose de radiação utilizado para compensar a falta de tecido no volume de tratamento. O filtro normalmente é confeccionado em material de alta densidade do tipo chumbo ou uma liga metálica com aço inoxidável, antimônio e cobre. As cunhas de formato triangular são posicionadas entre o feixe de radiação e o paciente, de modo que, o lado da cunha de maior espessura é colocado na direção de maior espessura de tecido, modificando a distribuição da dose de radiação, proporcionando maior planificação do perfil do campo de tratamento (8).

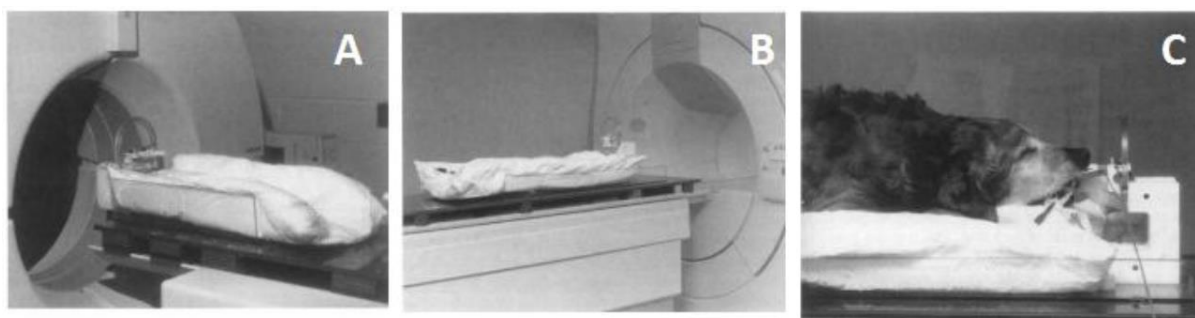


Figura 3. Colchão inflável (A e B) e seu uso em um cão (C) (9).



Figura 4. Cicatriz cirúrgica após a retirada do mastocitoma (A) e o uso de *bolus* na radioterapia do cão sobre a cicatriz (19).

Para os casos onde se necessitam proteger regiões anatômicas localizadas no interior do campo de radiação, são utilizados blocos de colimação que podem ser confeccionados em chumbo ou em liga metálica chamada de cerrobend (composta por chumbo, cádmio, antimônio e estanho). (8,19).

A Figura 5 ilustra um cão em decúbito lateral frente ao cabeçote de um acelerador linear posicionado para radioterapia em adenocarcinoma de saco anal (A e C). A imagem realça o uso de bloco de colimação de chumbo para proteção dos tecidos normais (B).

Técnicas modernas de radioterapia proporcionam melhor imobilização do volume alvo e garantem maior precisão na liberação da dose, propiciando maior controle local da doença (20,21,22). Lesões próximas da região ocular podem utilizar lentes especiais de cerâmica e

tungstênio para evitar a exposição de áreas sadias circunvizinhas, nestes casos superficiais, normalmente usam-se feixes de elétrons de alta energia (4 MeV a 15 MeV) (21,23).

A Tabela 1 ilustra um breve resumo a respeito dos acessórios de imobilização utilizados na radioterapia veterinária em pequenos animais, descrevendo o tipo de material, sua utilidade, e seus aspectos positivos e negativos no cotidiano.

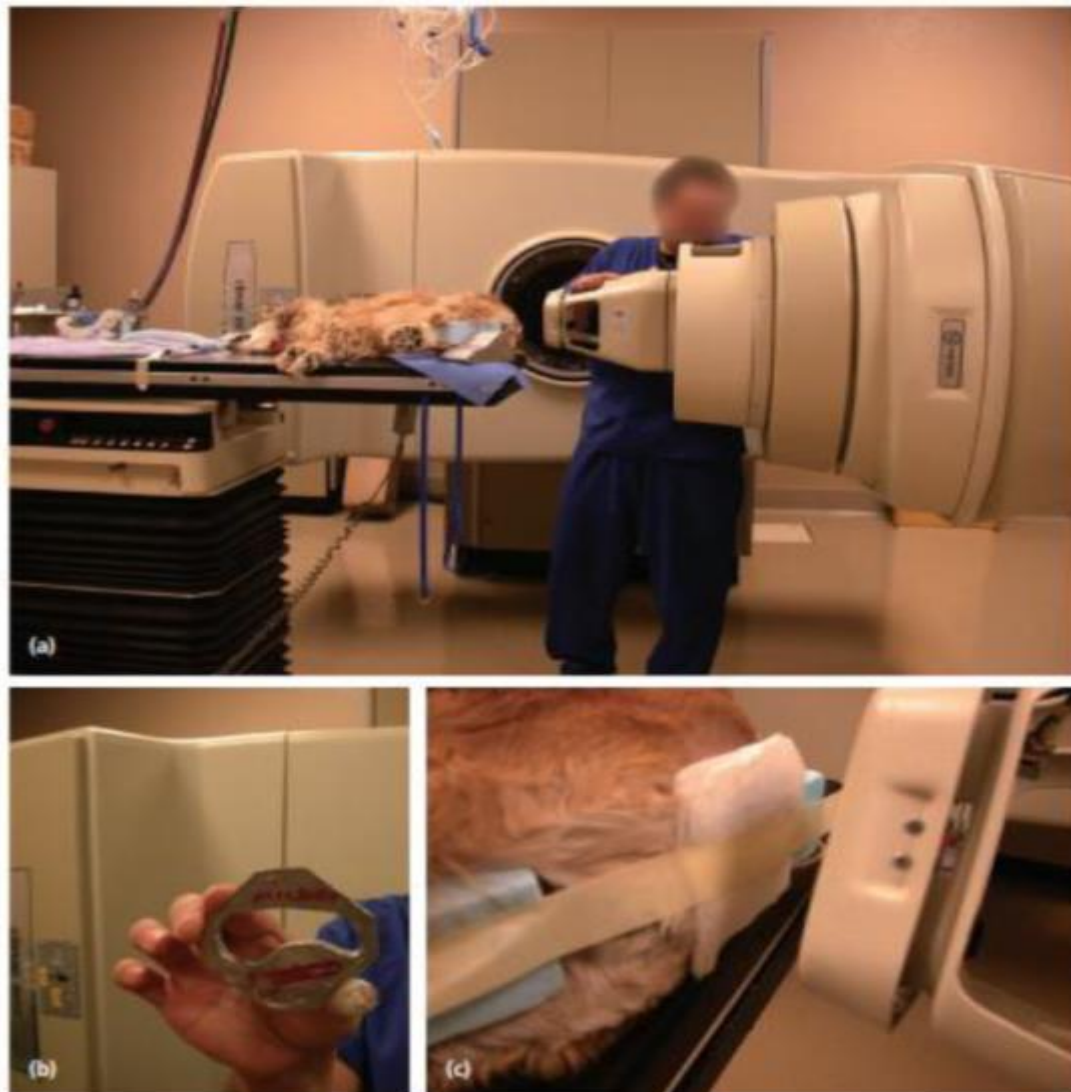


Figura 5. Cão submetido à radioterapia com acelerador linear em região anal (A e C) e a demonstração do bloco de colimação utilizado (19).

Tabela 1. Resumo descritivo sobre os acessórios de proteção e de imobilização em pequenos animais.

Acessórios de proteção e de imobilização	Materiais	Utilidade	Vantagens	Desvantagens
Máscara Termoplástica	Material termoplástico	Imobilização da região da cabeça e pescoço	<p>Maior acessibilidade, maior afinidade com outros acessórios.</p> <p>Ajuda a manter o paciente corretamente posicionado e também evita que o paciente seja tatuado em alguma região visível do corpo</p>	Pode ser desajustada devido a fatores como emagrecimento do paciente ou diminuição da lesão e potencializam o aumento de dose à pele
Blocos de Mordidas	Materiais odontológicos, plástico ou acrílico	Adaptados a vários tratamentos	<p>Maior variedade de tamanho e tipo de material, afinidade com outros materiais e acessórios.</p> <p>Proporciona um posicionamento que favorece o tratamento sugerido</p>	Pouco reaproveitável
Colchão Inflável (Vac-Lok)	Colchão de isopor	Adaptados a vários tratamentos	Acessório reutilizável, melhor imobilização do que os procedimentos convencionais (sacos de areia, toalhas, fita, cunhas de espuma) e afinidade com outros acessórios	A falta de conformação no contorno do paciente, comprometendo o tratamento, pode apresentar problemas no posicionamento de membros pequenos
Bólus	Uma variedade de materiais, sendo cera odontológica a mais comum	Usados em tumores que envolvem a pele ou próximo a ela	Proporciona a melhor distribuição de dose nos tecidos e superficializa a dose de radiação	Pouco reaproveitável
Blocos de Colimação	Chumbo ou cerrobend	Adaptados a vários tratamentos	Pode ser aproveitado, é facilmente personalizado com o formato do paciente	Colimação limitada
Balão Retal	Plástico inflável com ar	Usado no tratamento de próstata	Minimiza o movimento da próstata durante o tratamento	Pouco reaproveitável
Lentes Protetoras	Lente coberta com cerâmica em contato com um bloco de tungstênio	Usadas no tratamento de tumores próximos aos olhos	Diminuição significativa da dose em torno do olho	Pouco reaproveitável e pouca utilização (apenas em tratamentos próximo ao olho com feixes de elétrons)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao contrário dos acessórios básicos usados em um serviço de radiologia veterinária como sacos de areia, toalhas, fitas, cunhas de espuma, entre outros, uma ampla variedade de acessórios de proteção e imobilização podem ser utilizados em um serviço de radioterapia veterinária de pequenos animais.

Cada acessório tem suas vantagens e suas limitações no cotidiano. No entanto é possível observar que apenas alguns deles podem ser adaptados a vários tipos de tratamentos e outros para alguns mais específicos conforme cada enfermidade. Todos os acessórios descritos procuram fornecer o melhor conforto para o paciente, além da imobilização e sua proteção. Nem todos os acessórios podem ser reaproveitáveis para utilização futura em outros pacientes.

Alguns acessórios levam tempo para serem preparados, o que para alguns serviços com grande rotina, podem atrasar o seu andamento, necessitando de mais profissionais capacitados para realizarem esses procedimentos evitando-se riscos. A demora na preparação dos materiais pode ser compensada com a eficácia de cada um deles e em alguns casos, com a sua reutilização em outros pacientes.

Apesar das limitações de cada acessório, é possível identificar a sua utilização em conjunto e podendo ser vantajoso para o tratamento. Não é possível dizer qual é a melhor combinação, ou qual é o melhor acessório para imobilizar o paciente. É possível recomendar o melhor acessório ou a melhor combinação para cada tipo tratamento.

REFERÊNCIAS

1. Fernandes MAR, Andrade AL, Luvizoto MCR, Pierô JR, Ciarlini LDRP. Radioterapia em medicina veterinária princípios e perspectivas. *Rev Bras Fis Med.* 2010;4(2):11-4.
2. Morris J, Dobson J. *Oncologia de pequenos animais.* São Paulo: Roca; 2007. p.55-6.
3. Boston S, Henderson RA. Role of surgery in multimodal cancer therapy for small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2014;44(5):855-70.
4. Burk RL, King GK. *The veterinary clinics of north America: small animal practice. radiation oncology.* Philadelphia: WB Saunders Company; 1997.
5. Schwarz T, Saunders J. *Veterinary computed tomography.* Ames: John Wiley and Sons; 2011.
6. Andrade LA, Fernandes MAR. Braquiterapia em medicina veterinária. In: Jericó MM, Neto AJP, Kogika MM. *Tratado de medicina interna de cães e gatos.* São Paulo: Roca; 2014. v.2, p.560- 83.
7. Lage MFAA, Mercicano AD, Zuliani GC. Radioterapia In: Nobrega AL. *Tecnologia radiológica e diagnóstico por imagem.* 4a ed. São Caetano do Sul: Difusão; 2012. p.247-64.
8. Pereira AJ, Daniliauskas M, Lopes RMG, Haddad GP, Cruz JC, Martins HL. *Manual para técnicos em radioterapia.* Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer; 2000.
9. Kippenes H, Gavin PR, Sande RD, Rogers D, Sweet V. Comparison of the accuracy of positioning devices for radiation therapy of canine and feline head tumors. *Vet Radiol Ultrasound.* 2000;41(4):371-6.
10. Hansen KS, Théon AP, Doeteroch S, Kent MS. Validation of indexed radiotherapy head positioning device for use in dogs and cats. *Vet Radiol Ultrasound.* 2015;56(4):448-55.
11. Caetano MAA. *Estudo de três sistemas de imobilização utilizados em radioterapia – perspectiva atual e futura [dissertação].* Lisboa: Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa; 2014.
12. Levitt SH, Purdy JA, Perez CA, Poortmans P. *Technical basis of radiation therapy - practical clinical applications.* Berlin: Spinger; 2012.
13. Zoltán Varga KH, Tamás Mezo AN, Thurzó L, Kahán Z. Individual positioning: a comparative study of adjuvant breast radiotherapy in the prone versus supine position. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2009;75(1): 94-100.

14. Bentel GC, Marks LB, Sherouse GW, Spencer DP, Anscher MS. The effectiveness of immobilization during prostate irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1995;31(1):143-8.
15. Bley CR, Blattmann H, Ross M, Sumova A, Kaser-Hotz B. Assessment of a radiotherapy patient immobilization device using single plane port radiographs and a remote computed tomography scanner. *Vet Radiol Ultrasound.* 2003;44(4):470-5.
16. Maruo T, Nakamura S, Fukuyama Y, Kawarai S. Validation of new bite block-type head-immobilization devices for radiotherapy in dogs. *Vet Radiol Ultrasound.* 2013;54(6):674-9.
17. Green EM, Forrest LJ, Adams WM. A vacuum-formable mattress for veterinary radiotherapy positioning: comparison with conventional methods. *Vet Radiol Ultrasound.* 2003;44(4):476-9.
18. Salvajoli JV, Souhami L, Faria SL. *Radioterapia em oncologia.* São Paulo: Atheneu; 2013.
19. Kudning ST, Séguin B. *Veterinary surgical oncology.* Ames: Wiley Blackwell; 2012.
20. Withrow SJ, Vail DM, Page R. *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology.* 5th ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2013.
21. Marcinowska A, Dobson J. Radiotherapy and tumours in veterinary practice: part one [Internet]. *Veterinary Times*; 2015 [cited 2017 Jun 25]. Available from: <https://www.vettimes.co.uk/article/radiotherapy-and-tumours-in-veterinary-practice-part-one/>
22. Harmon JJr, Yoshikama H, Custis J, Larue S. Evaluation of canine prostate intrafractional motion using serial cone beam computed tomography imaging. *Vet Radiol Ultrasound.* 2013;54(1):93-8.
23. Larue SM, Custis JT. Advances in veterinary radiation therapy targeting tumors and improving patient comfort. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2014;44(5):909-23.

Recebido em: 02/08/2016

Aceito em: 03/07/2017

PRINCIPAIS PATÓGENOS ENTÉRICOS DE ORIGEM BACTERIANA E PARASITÁRIA, DE POTENCIAL ZONÓTICO, EM GATOS DOMÉSTICOS

Carolina Lechinski de Paula¹
Carmen Alicia Daza Bolaños¹
Simony Trevizan Guerra¹
Márcio Garcia Ribeiro¹

RESUMO

Os patógenos de eliminação fecal figuram como uma das principais classes de microorganismos patogênicos para os humanos e animais, causando graves doenças entéricas e, ocasionalmente, extra-entericas. Este grupo de organismos caracteriza-se por manterem-se viáveis e com capacidade infectante em condições hostis do ambiente, após a eliminação pelas fezes dos animais com e sem sinais entéricos. Devido ao contato cada vez mais estreito com os humanos, os animais de companhia são elos importantes na cadeia de transmissão de patógenos entéricos. Os gatos domésticos representam um grupo importante de animais carreadores de patógenos entéricos com potencial zoonótico, uma vez que possuem hábitos de caça, de estabelecer territorialidade e de auto-limpeza. Dentre os patógenos de veiculação fecal de gatos domésticos de potencial zoonótico para humanos, merecem destaque: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Clostridium* spp., *Rhodococcus equi*, *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. O presente estudo revisou os principais patógenos bacterianos e parasitários de gatos domésticos com ênfase aos aspectos de virulência, epidemiológicos, sinais clínicos, controle e reflexos em Saúde Pública.

Palavras-chave: enteropatógenos, felinos, zoonose, virulência, epidemiologia.

THE MAIN BACTERIAL AND PARASITIC ENTERIC PATHOGENS WITH ZONOTIC POTENTIAL IN DOMESTIC CATS

ABSTRACT

Enteric pathogens eliminated in the feces are among the most important range group of pathogenic microorganisms to humans and animals causing severe enteric diseases and occasionally, non-enteric too. This group of microorganisms is characterized by wide viability and infective capacity even in adverse environmental conditions after feces elimination of animals with or without enteric signals. In consequence of the close contact with humans, pets are very important in the chain of transmission of enteric pathogens. Domestic cats have hunting, territorial and self-cleaning habits and therefore are an important group with enteric pathogens with zoonotic potential. The most important fecal pathogens present in domestic cats with human zoonotic potential are *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Clostridium* spp., *Rhodococcus equi*, *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. The purpose of this study was to review the major bacterial and parasitic pathogens of domestic cats regarding the virulence aspects, epidemiology, clinical signs, control and importance in public health.

Keywords: enteropathogens, cats, zoonosis, virulence, epidemiology.

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

PRINCIPALES PATÓGENOS ENTÉRICOS DE ORIGEN BACTERIANO Y PARASITARIO, CON POTENCIAL ZONÓTICO, EN GATOS DOMÉSTICOS

RESUMEN

Los patógenos de eliminación fecal figuran como una de las principales clases de microorganismos patogénicos para los humanos y animales, causando graves enfermedades entéricas y ocasionalmente, extra entéricas. Este grupo de microorganismos se caracteriza por mantenerse viable y con capacidad infectante en condiciones hostiles del ambiente, posterior a la eliminación por las heces de animales con y sin signos entéricos. Debido al contacto cada vez más estrecho con los humanos, los animales de compañía son eslabones importantes en la cadena de transmisión de patógenos entéricos. Los gatos domésticos representan un grupo importante de animales transportadores de patógenos entéricos con potencial zoonótico, una vez que poseen hábitos de caza, de establecer territorialidad y de auto limpieza. Entre los patógenos de transmisión fecal de gatos domésticos con potencial zoonótico para humanos, se destacan: *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Campylobacter* spp., *Clostridium* spp. *Rhodococcus equi*, *Giardia* sp. y *Cryptosporidium* spp. El presente estudio revisó los principales patógenos bacterianos y parasitarios de gatos domésticos con énfasis en los aspectos de virulencia, epidemiológicos, signos clínicos, control y reflejos en Salud Pública.

Palabras clave: enteropatógenos, felinos, zoonosis, virulencia, epidemiología.

INTRODUÇÃO

Os animais de companhia, especialmente cães e gatos, desempenham papel importante na sociedade (1,2), pois servem, entres outros, para entretenimento e companhia de muitas famílias, contribuindo para o desenvolvimento físico, social e emocional das crianças e bem-estar de seus proprietários (1).

Segundo dados da Abinpet, a população mundial de animais de estimação alcançou 1,5 bilhões em 2012. Em 2013, no Brasil, a Pesquisa Nacional da Saúde realizada pelo IBGE estimou que 44,3% dos domicílios do país possuíam pelo menos um cão e 17,7% dos domicílios possuíam ao menos um gato. A população de cães e gatos em domicílios brasileiros foi estimada em 52,2 milhões e 22,1 milhões, respectivamente (3). Na Europa e nos Estados Unidos, os gatos já superam os cães como os animais mais populares. No Brasil, também se observa essa tendência, visto que a população de felinos domésticos cresce mais do que a canina (4).

Diante desse cenário, onde é cada vez mais crescente o número de animais integrantes de muitas famílias, é inevitável o contato próximo entre humanos e animais domésticos, ou mesmo com seu ambiente de criação ou habitat, possibilitando condições favoráveis para a transmissão de micro-organismos patogênicos (5), constituindo fator de risco para ocorrência de várias zoonoses (1).

Os patógenos entéricos representam, mundialmente, grande impacto em Saúde Pública, especialmente em regiões tropicais (6). Essa classe complexa de micro-organismos pode ser considerada como uma das mais patogênicas para humanos e animais (7), agrupando agentes de origem bacteriana, viral e parasitária (6). O estabelecimento de infecção por esses agentes entéricos ocorre geralmente pela contaminação de alimentos de origem animal, água, verduras e frutas (7).

Os gatos domésticos são considerados um grupo preocupante de animais para os profissionais da saúde como carreadores de patógenos entéricos com potencial zoonótico (8), uma vez que possuem hábitos de caça, de estabelecer ampla territorialidade, hábitos de auto-limpeza e de proximidade ou mesmo certa promiscuidade na interação com os proprietários.

Os agentes com potencial zoonótico são de especial interesse para crianças, idosos, gestantes ou imunocomprometidos, que representam grupos com maior susceptibilidade às infecções. As crianças estão mais expostas a agentes provenientes de animais domésticos devido às deficiências na higiene, maior contato físico com esses animais e com o ambiente doméstico (5).

Dentre os patógenos bacterianos e parasitários de eliminação fecal com reconhecido potencial zoonótico, relacionados à graves doenças nos humanos, merecem destaque: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *Campylobacter* spp., *Rhodococcus equi*, *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. (7-15).

São escassos os estudos conduzidos na investigação dos principais patógenos de veiculação fecal, bem como marcadores de virulência desses micro-organismos em gatos. Estudos nesse contexto são fundamentais para identificar a ocorrência destes patógenos em animais com e sem sinais entéricos, nas coinfeções, diferenças de ocorrência conforme o ambiente, rural ou urbano, dos animais, a virulência dos agentes e os reflexos dos animais domésticos como fontes de infecção de patógenos de eliminação fecal para os humanos.

Neste contexto, o presente estudo revisou os principais patógenos de origem bacteriana e parasitária de gatos domésticos com potencial zoonótico, com ênfase aos aspectos de virulência, epidemiológicos, sinais clínicos, controle e reflexos em Saúde Pública.

REVISÃO DE LITERATURA

Escherichia coli

O gênero *Escherichia*, pertencente à família Enterobacteriaceae, é composto por várias espécies, mas somente *E. coli* é considerada patogênica para animais e humanos (10), representando, provavelmente, a espécie bacteriana mais conhecida e isolada de amostras clínicas (16).

E. coli são micro-organismos aeróbicos ou anaeróbios facultativos, fermentadores de glicose e outros açúcares, que apresentam morfologia de bacilos ou cocobacilos gram-negativos, não esporulados, com até 2 µm de comprimento (12,16). A espécie compreende grande número de grupos e tipos sorológicos. A sorotipagem de *E. coli* é baseada na identificação de antígenos “O” (somático), “H” (flagelar), “K” (capsular) (10,17). São conhecidos atualmente 174 antígenos “O”, 57 antígenos “H” e 100 antígenos “K”, porém nem todas as estirpes de *E. coli* apresentam os três tipos de antígeno simultaneamente (10).

A colonização do trato intestinal dos mamíferos por *E. coli* ocorre logo após o nascimento, a partir de fontes ambientais. Estes micro-organismos persistem como importantes membros da microbiota do intestino durante toda a vida dos animais e humanos (12).

Nos animais, as infecções clínicas por linhagens patogênicas de *E. coli* podem estar limitadas aos intestinos (com o desenvolvimento de enfermidades como a colibacilose e a diarreia neonatal) ou infecções extraentéricas. A septicemia e a toxemia são manifestações clínicas de infecções sistêmicas. A bactéria pode desenvolver infecções não entéricas, principalmente no trato urinário, glândulas mamárias e útero. Estirpes que causam enterocolite geralmente não pertencem à microbiota de animais saudáveis, pois resultam da infecção por contato direto com animais clinicamente ou subclinalmente infectados, ou pela ingestão de alimentos ou água contaminados (12).

Em humanos, a bactéria pode gerar graves distúrbios gastrintestinais, quadros de septicemia, infecções urinárias e meningite do recém-nascido (18).

A habilidade de *E. coli* de causar doença em humanos e animais está diretamente relacionada a vários fatores de virulência localizados em genes plasmidiais e/ou cromossômicos (19). Os fatores de virulência presentes em estirpes patogênicas de *E. coli* incluem, principalmente, cápsula, fatores de adesão, toxinas, lipopolissacarídeos, sistemas de aquisição de ferro, mecanismos de resistência e invasinas (12).

A aderência de *E. coli* é mediada por estruturas proteicas localizadas na superfície bacteriana, denominadas adesinas, divididas em fimbriais e não fimbriais. As adesinas fimbriais são codificadas pelos genes *fim* (fímbria tipo 1), *pap* (fímbria P) e *sfa* (fímbria S). As adesinas não fimbriais (codificadas por *afa*) são proteínas de membrana constituintes da cápsula. Ambos tipos de adesina agregam patogenicidade ao micro-organismo, especialmente às cepas enterotoxigênicas e uropatogênicas (20). Algumas linhagens de *E. coli* são produtoras de exotoxinas, com destaque para hemolisinas (codificadas pelo gene *hly*), enterotoxina termolábil (LT), enterotoxina termoestável (ST), verotoxina ou toxina de Shiga (VT/ Stx) e fator necrosante citotóxico (codificado pelo gene *cnf*) (12,19). *E. coli* apresenta também endotoxinas ou LPS (lipopolissacarídeos) que são estruturas intrínsecas de bactérias gram-negativas, ancoradas na parede celular, associadas com choque endotóxico (10).

No Japão, Yuri et al. (21) verificaram a presença de fatores de virulência em linhagens de *E. coli* isoladas de urina de cães e gatos com ITU e fezes de animais hígidos. Foram identificados os genes *pil*, *pap*, *sfa*, *hly* e *cnf1*, que são fatores de virulência também identificados em humanos, denotando riscos em Saúde Pública (21).

Recentemente as linhagens patogênicas de *E. coli* causadoras de diarreia ou outros distúrbios entéricos em humanos e animais foram organizadas em sete classes: enteropatogênicas (EPEC), enterotoxigênicas (ETEC), enterohemorrágicas (EHEC), enteroinvasoras (EIEC), enteroagregativas (EAggEC), de aderência difusa (DAEC) e necrotóxigênicas (NTEC). As linhagem patogênicas extra-entericas (ExPEC) incluem as uropatogênicas (UPEC) e as que causam meningite neonatal (NMEC) (22). Estas classes diferem em sua patogenia bem como em fatores de virulência, pertencendo a grupos distintos de sorotipos. No contexto das zoonoses, a categoria que recebe maior preocupação são as enterohemorrágicas, por causar severas manifestações clínicas (7).

As EHEC produzem duas principais formas antigênicas de toxina de Shiga, Stx1 e Stx2, também conhecidas como verocitotoxinas (VT1 e VT2) (16,22). Essas toxinas se ligam nas células endoteliais vasculares e induzem necrose, microtrombose e trombocitopenia (22) Em humanos, as EHEC têm sido associadas com quadros de diarreia, colite hemorrágica (HC) e síndrome urêmica hemorrágica (HUS). A HUS é a principal complicação das infecções causadas por EHEC, caracterizada por anemia hemolítica, trombocitopenia e falha renal aguda (10).

E. coli O157:H7 foi o primeiro de vários sorotipos produtores de toxina Shiga que causam reconhecidamente a doença em humanos, comumente adquirido por ingestão de carne ou água contaminados, com casos documentados principalmente nos Estados Unidos, Europa e Japão (22). Os hambúrgueres tem sido a causa de múltiplos surtos da doença, fato que se deve à presença desse sorotipo nas fezes de bovinos. Embora O157: H7 seja o sorotipo protótipo de EHEC patogênica, vários outros sorotipos produtores de Shiga toxina foram reconhecidos em outros países como O26:H11, O48:H21, O103:H2, O111:NM e O145:NM (16).

Cerca de 1% dos bovinos eliminam o sorotipo O157:H7 pelas fezes. No entanto, ao contrário dos humanos, os bovinos apresentam resistência ao sorotipo e não desenvolvem manifestações clínicas (23). Outras espécies animais, como os felinos domésticos, podem servir como reservatórios de *E. coli* patogênicas. Busch et al. (24) relataram, na Alemanha, o primeiro caso de isolamento concomitante de *E. coli* enterohemorrágica das fezes de uma criança com sinais entéricos e de seu felino doméstico assintomático. Em cultivos repetidos das fezes do gato foi identificada *E. coli* EHEC O145:H com a mesma patogenicidade e padrão genético da linhagem isolada da criança, reforçando o risco de transmissão de *E. coli* patogênicas dos animais para humanos (24).

O risco potencial de animais de companhia, particularmente de felinos, no ciclo epidemiológico da infecção humana por linhagens patogênicas de *E. coli* ainda não é totalmente esclarecido. No Brasil, são praticamente inexistentes estudos que avaliem a ocorrência dos

principais fatores de virulência de *E. coli* isolados de fezes de gatos sem sinais entéricos, particularmente de genes relacionados a estirpes de potencial zoonótico.

***Salmonella* spp.**

O gênero *Salmonella* é pertencente à família Enterobacteriaceae e relacionado a doenças entéricas e extra-entericas em animais e humanos. A salmonelose figura como uma das principais zoonoses em todo o mundo (11). Nos últimos anos, a classificação e nomenclatura de *Salmonella* spp. sofreram diversas modificações (25). Atualmente, o gênero é dividido em duas espécies: *Salmonella enterica* (que compreende a maioria dos sorotipos patogênicos), subdividida em seis subespécies (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*) e *Salmonella bongori*, comumente não patogênica (11,16,25).

O gênero contém mais de 2500 sorotipos identificados com base em antígenos somáticos (O) e flagelares (H) e, por vezes, antígenos capsulares (K) (12). A maioria desses sorotipos pertence a *S. enterica* subespécie *enterica* (16).

S. enterica é a espécie mais patogênica e têm sido relacionada a quadros de gastroenterite, pneumonia, septicemia e, eventualmente, abortamentos nos animais e humanos (7). Os sorotipos frequentemente envolvidos em casos e surtos de salmonelose em humanos são *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* (26).

Salmonella spp. são bacilos gram-negativos, não formadores de esporos, anaeróbicos facultativos. A maioria das espécies apresenta motilidade e não fermenta a lactose (11). Os micro-organismos são ubíquos e possuem alta resistência ambiental, podendo colonizar grande variedade de mamíferos, aves, répteis e insetos (27).

A patogênese da infecção por *Salmonella* ainda não é totalmente esclarecida em certos aspectos, particularmente com relação à produção de toxinas e lesões celulares. Parte da virulência da bactéria está intimamente ligada à capacidade de invasão e multiplicação intracelular (12). A ação invasora das salmonelas é um processo complexo, que envolve genes cromossômicos e plasmidiais (25). Após ingestão e passagem pelo estômago, a bactéria se adere à mucosa intestinal, é internalizada em um vacúolo, se multiplica e pode ser liberada na corrente sanguínea ou linfática. Esses processos são regulados basicamente por dois grupos de genes, as ilhas de patogenicidade (PAI). PAI I codifica as proteínas de invasão (Ssps), enquanto a PAI II contém genes que permitem evasão da bactéria dos mecanismos de defesa imune do hospedeiro (27).

A resistência à digestão por fagócitos facilita a disseminação do micro-organismo no hospedeiro. O processo é parcialmente dependente do comprimento das cadeias do antígeno O do lipopolissacarídeo (LPS) da parede celular. Quanto mais longas as cadeias menor é a interação dos componentes do sistema complemento com a membrana bacteriana. O LPS também é responsável pelos efeitos endotóxicos da infecção, contribuindo para a resposta inflamatória que lesa as células intestinais, servindo como mediador em quadros de choque endotóxico e septicemia (12). A salmonelose humana é uma enfermidade de distribuição mundial, com ocorrência de milhões de casos por ano em todo o mundo, resultando em mais de cem mil óbitos (26). A transmissão do patógeno para humanos é geralmente por via oral-fecal ou relacionada a toxinfecções por consumo de alimentos de origem animal (ovos, carnes, aves e leite), água e fômites contaminados. Alimentos de origem vegetal também têm sido implicados na transmissão do patógeno (7). Outra via que deve ser considerada na transmissão é representada pelo contato direto de animais portadores, geralmente assintomáticos, com humanos (26).

Os grupos de maior vulnerabilidade (risco) para a doença são crianças, idosos, e indivíduos imunossuprimidos ou hospitalizados (7). A gastroenterite aguda é a manifestação comum da doença em humanos, determinando sinais de vômito, diarreia, febre, cólicas abdominais, mialgia e cefaléia (27). Outras apresentações clínicas incluem septicemia, infecção do trato urinário, osteomielites, pneumonia e meningite (25,28). Ainda, qualquer sorotipo de

salmonela pode propiciar manifestação de febre entérica, habitualmente com febre baixa e diarreia, exceto nos casos de febre tifóide (*S. Typhi*) em que a clínica é mais grave (16).

Salmonella spp. pode ser identificada na microbiota fecal de animais domésticos, com e sem sinais entéricos. Os animais eliminam o micro-organismo de maneira intermitente pelas fezes. A infecção dos animais ocorre predominantemente pelo consumo de alimentos e água contaminados por fezes ou pelo hábito da coprofagia, comum nos animais jovens. No entanto, outras vias como a umbilical, geniturinária e transplacentária também são observadas nas infecções em animais domésticos (23,29). Neste contexto, merecem preocupação os animais de companhia como portadores sãos, em virtude da proximidade de gatos e cães dos proprietários, particularmente para grupos de maior vulnerabilidade, como crianças e idosos (7).

Os sinais clínicos de salmonelose em animais são entéricos e ocasionalmente extra-entericos. A maioria dos quadros entéricos são agudos e se iniciam entre 3 a 5 dias após exposição ao micro-organismo, ou são secundários à situações de estresse em animais portadores. Nos animais muito jovens ou velhos predominam sinais clínicos graves. O quadro inicial se caracteriza por febre alta, prostração e anorexia, seguidos de êmese, dor abdominal e diarreia mucóide. Animais gravemente afetados apresentam membranas mucosas pálidas, fraqueza, sinais de desidratação acentuada, colapso cardiovascular e choque (29).

Os gatos aparentam certa resistência imune contra o desenvolvimento da salmonelose clínica, ficando a doença restrita a casos esporádicos. Infecções extraintestinais por salmonelas em gatos têm sido descritas como pneumonia, nefrite e cistite (29).

A incidência de salmonela em animais de companhia é variável entre os autores e o risco que esses animais representam para a transmissão do patógeno para os humanos depende das condições de criação desses animais e o nível de contato com os proprietários. Felinos domésticos são potenciais carreadores de *Salmonella* spp., particularmente os animais errantes ou com acesso livre à rua, onde o contato com materiais contaminados é mais frequente. O comportamento de caça observado na espécie também predispõe à colonização pela bactéria, principalmente pelo hábito de captura de pássaros, ratos e alguns insetos (30).

***Clostridium* spp.**

O gênero *Clostridium* pertencente à família Clostridiaceae. É composto por mais de 200 espécies (31). Os micro-organismos se apresentam morfológicamente como bacilos gram-positivos, anaeróbicos e formadores de endósporos. São ubíquos, encontrado no solo, água e esgotos, e como parte da microbiota entérica de humanos e animais (12,27). A maioria das espécies é saprófita e não patogênica, mas algumas são causa de graves enfermidades como tétano (*C. tetani*), botulismo (*C. botulinum*, *C. baratii*, *C. butyricum*), mionecrose ou gangrena gasosa (*C. perfringens*, *C. novyi*, *C. septicum*, *C. histolyticum*) e diarreia e colite (*C. perfringens*, *C. difficile*) [27].

C. perfringens é importante espécie causadora de enterite e enterotoxemia, tanto em humanos quanto animais (32). O micro-organismo é dividido em cinco tipos (A-E), com base na produção de uma ou mais toxinas (alfa, beta, épsilon e iota) [27]. Adicionalmente, algumas linhagens produzem enterotoxina, toxina beta 2 e toxina de enterite necrótica (NetB), diretamente relacionadas à patogênese de algumas clostridioses (33).

C. perfringens é responsável por diversas infecções humanas, geralmente como agente primário de intoxicações alimentares (27). No Brasil, *C. perfringens* é relatado como o quarto agente mais frequente das doenças transmitidas por alimentos (34). A doença é causada pela ingestão de alimentos (especialmente carne vermelha e aves) contaminados com os esporos de *C. perfringens* tipo A. Os esporos são ativados com o calor da cocção do alimento, permitindo a germinação das formas vegetativas, que se multiplicam rapidamente. Após ingestão, as formas vegetativas sofrem processo de esporulação no intestino, liberando a enterotoxina. Ocorre então ligação da enterotoxina às microvilosidades intestinais, causando alteração na permeabilidade e perda de fluidos (7,27). Os indivíduos acometidos apresentam clínica de início

súbito, com diarreia e cólica abdominais. O curso da doença é curto, com resolução em poucos dias, muitas vezes sem necessidade de tratamento médico. Apesar de raramente causar morte, a doença pode ocorrer em surtos de proporção variável no caso de fontes de alimento comum, além de ser potencialmente fatal em pessoas debilitadas, idosos e crianças (7).

Nos animais, o micro-organismo é agente causal de enterocolite necrosante de suínos lactentes e desmamados, enterite necrótica de frangos de corte e enterite de equinos (12), além de enterotoxemia em pequenos ruminantes (32). O envolvimento de *C. perfringens* tipo A como enteropatógeno de cães e gatos ainda não é totalmente compreendido. A bactéria pode ser agente primário de quadros leves à graves de diarreia. Alguns autores sugerem o agente como oportunista nessas espécies (33).

Os humanos e os animais são considerados reservatórios de *C. perfringens*, eliminando a bactéria pelas fezes. Cães e gatos saudáveis podem colaborar para contaminação ambiental e de alguns fômites, constituindo fontes de infecção para humanos (7).

C. difficile é outra espécie do gênero *Clostridium* de relevância como enteropatógeno. O agente é ubíquo da natureza, isolado de solo, água e microbiota intestinal de humanos e animais. Assim como outras espécies do gênero tem característica morfológica de bastonete gram-positivo, de difícil isolamento por sua condição de anaerobiose estrita. Diferentemente de *C. perfringens*, as colônias não são hemolíticas (16).

A infecção por *C. difficile* é a causa mais comum de diarreia associada ao uso de antimicrobianos em humanos hospitalizados (35). Medicamentos imunossupressores, principalmente os quimioterápicos, também parecem favorecer o desenvolvimento da doença. A diarreia varia de autolimitante e relativamente benigna, até colite pseudomembranosa, quadro grave e potencialmente fatal (27).

As fontes de infecção de *C. difficile* são representadas por indivíduos doentes e portadores assintomáticos que eliminam esporos do bacilo com as fezes. A transmissão ocorre principalmente de pessoa a pessoa, via fecal-oral ou por contato indireto com objetos e utensílios contaminados pelos esporos (36).

A infecção por *C. difficile* inicia-se com a ingestão do micro-organismo na forma vegetativa ou por esporos, reconhecida como forma de extrema resistência ambiental. Os esporos sobrevivem à acidez gástrica e germinam no cólon na forma vegetativa. O uso de antimicrobianos pode propiciar a colonização de *C. difficile* devido alteração da microbiota intestinal, diminuindo a competição entre os micro-organismos e facilitando a transformação dos esporos da bactéria em células vegetativas (36).

As estirpes toxigênicas produzem duas toxinas, uma enterotoxina (toxina A-TcdA) e uma citotoxina (toxina B-TcdB) (27,35). A lesão intestinal parece ser iniciada pela enterotoxina, que possui receptores na lâmina basal das células epiteliais, sendo quimiotática para neutrófilos e estimulando a infiltração de células polimorfonucleares no íleo, com liberação de citocinas. A TcdA também produz um efeito citopático, resultando no rompimento da junção célula-célula, permitindo a ação da toxina B, amplificando a lesão e aumentando a permeabilidade da parede intestinal com conseqüente diarreia. A TcdB leva à destruição do citoesqueleto celular (27,37).

Além disso, as toxinas A e B atuam diretamente nas células epiteliais da mucosa intestinal, ativando a cascata inflamatória e resultando em aumento de lesão tecidual, extravasamento de fluido e morte celular (37). As proteínas de superfície (SLPs) também são importantes na patogenia da infecção, permitindo a adesão de *C. difficile* ao epitélio intestinal, com produção local de toxinas e dano tecidual (27).

Algumas cepas de *C. difficile* produzem um terceiro tipo de toxina, a toxina binária (CDT) (27,35). A importância clínica dessa toxina é motivo de discussão e sua real importância como fator de virulência ainda é desconhecida. Acredita-se, porém, que a toxina binária possa agir em sinergismo com as toxinas A e B, aumentando a lesão do citoesqueleto, com agravamento do quadro clínico (38).

Em animais, *C. difficile* é causa de diarreia e colite em potros de 2 semanas de idade e leitões neonatos. Em equinos adultos também há associação da infecção com uso de antimicrobianos (23). São raros os relatos de manifestação da doença em cães (33) e gatos (39).

A transmissão de *C. difficile* de animais de companhia para humanos ainda não foi documentada. Borriello et al. (40) levantaram a hipótese de animais domésticos como reservatórios e transmissores de *C. difficile* aos humanos, a partir do isolamento da bactéria nas fezes de cães e gatos.

O real impacto dos animais domésticos, em especial felinos, na epidemiologia das doenças causadas por *C. perfringens* e *C. difficile* não é totalmente esclarecido. São necessários estudos que investiguem a eliminação desses agentes pelos animais, a fim de estabelecer os riscos de transmissão para humanos.

***Campylobacter* spp.**

Campylobacter spp. são bactérias pertencentes à família Campylobacteriaceae. O gênero *Campylobacter* agrupa 23 espécies e 8 subespécies, com destaque para *C. jejuni* como espécie envolvida na maioria das campilobacterioses entéricas em humanos e animais domésticos (15).

Os micro-organismos desse gênero são bacilos gram-negativos, com motilidade, característica determinada pela presença de flagelo monopolar ou bipolar monotríquico (12,27). A maioria das espécie é fastidiosa, exigindo meios enriquecidos ou seletivos, com incubação em atmosfera de microaerofilia (5 a 10% de O₂ e 1 a 10% de CO₂) (12,15).

Campylobacter jejuni é a espécie geralmente associada à enterite e diarreia em cães, gatos e humanos, além de outros animais domésticos e selvagens (41). O enteropatógeno coloniza os intestinos delgado e grosso, onde se adere e prolifera. Os flagelos e o LPS atuam como adesinas, permitindo aderência da bactéria às células epiteliais e mucosa intestinal. A adesão é facilitada pelo movimento característico de “saca rolha” que garante maior superfície de contato (27).

Em gatos, as manifestações clínicas da campilobacteriose são pouco documentadas. Sinais entéricos, anorexia e desidratação são predominantes em animais jovens. Frequentemente observam-se animais coinfectados com os gêneros *Giardia* e *Isospora* (15).

A via de infecção, à semelhança de outros patógenos entéricos, é a fecal-oral, pela ingestão de alimentos ou água contaminados. Portadores assintomáticos podem eliminar a bactéria pelas fezes por longos períodos, representando riscos de transmissão direta ou contaminação ambiental (41).

Em humanos, a campilobacteriose se apresenta de forma esporádica ou em surtos. A doença pode acometer indivíduos de qualquer faixa etária, com destaque para crianças menores de dois anos de idade (7). Os sinais clínicos evidentes são vômito, diarreia, febre e dor abdominal.

Cães e gatos são considerados fatores de risco nas infecções por *Campylobacter* spp. em humanos (42). Usualmente são incriminados como potenciais transmissores da bactéria os animais diarreicos e recém adquiridos de canis/gatis (41), embora o micro-organismo também seja isolado de fezes de animais assintomáticos. Porém, a epidemiologia de infecções de espécies de *Campylobacter* é complexa, necessitando de mais estudos que determinem as interações patógeno-hospedeiro, que possam subsidiar ações de controle/profilaxia.

Rhodococcus equi

As bactérias do gênero *Rhodococcus* pertencem à ordem Actinomycetales, que incluem outros gêneros importantes como *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Trueperella* e *Nocardia*. *Rhodococcus equi* (*R. equi*) é a espécie mais importante do gênero, causadora de infecções em humanos e animais (43). Morfologicamente se apresentam como cocos ou cocobacilos gram-positivos, fracamente álcool-ácido resistentes, aeróbicos, não formadores de esporos, encapsulados, intracelulares facultativos e imóveis (7,27,43). As colônias em meio sólido são

lisas com bordas irregulares, mucóides, com coloração que varia do branco ao rosa-salmão, dependendo do tempo de incubação (27,43).

R. equi é amplamente distribuído no solo e habitante transitório do trato intestinal de animais (12). Está presente nas fezes de ruminantes, suínos e, principalmente, equinos, que servem como carreadores da bactéria, auxiliando em sua manutenção ambiental (23,44).

A rodococose afeta potros entre 1 e 6 meses de idade, caracterizada por broncopneumonia crônica supurativa e abscessos pulmonares. As primeiras manifestações clínicas em potros podem incluir ligeiro aumento da frequência respiratória e febre baixa. Posteriormente, há dispneia intensa, letargia e febre alta (9,12).

Assim como em equinos adultos, a doença em outras espécies é rara, geralmente associada a quadros de imunossupressão, ocorrendo sob forma de enterite, linfadenite, abortamento, mastite, dermatite, piometra e abscessos cutâneos (9,44). Em suínos, é comum o isolamento da bactéria de linfonodos submandibulares e mesentéricos (9).

A patogenicidade e virulência de *R. equi* está intimamente ligada à capacidade de sobrevivência e replicação da bactéria no interior de macrófagos, que resulta na destruição das células (44). Nas últimas décadas foram reconhecidas proteínas associadas à virulência (Vap), utilizadas como marcadores de patogenicidade, principalmente em estudos epidemiológicos (45).

As linhagens altamente virulentas contêm um grande plasmídeo de 85 a 90kb, com genes responsáveis pela expressão de proteínas VapA de 15 a 17kDa (genes *vapA*, -C, -D, -E, -G e pseudogenes *vap F*, -I e -X) isoladas predominantemente em potros com clínica pulmonar e menos frequentemente em humanos. As linhagens de virulência intermediária apresentam plasmídios de 79 a 100kb, com expressão de proteínas VapB de 20kDa (genes *vapB*, -J, -K1, -K2, -L e M), identificadas na linfadenite em suínos e em humanos com Aids (45,46). As linhagens que não se enquadravam no perfil de virulência supracitado eram denominadas avirulentas, encontradas no solo, fezes de animais domésticos e criatórios de equinos e por vezes, isoladas de humanos (46). Porém, estudo recente de epidemiologia molecular demonstrou que muitos isolados considerados sem plasmídios Vap A ou Vap B possuíam um terceiro tipo de virulência, o VapN, de 120 kb, identificado em bovinos e humanos com e sem Aids (45,47). Evidências suportam que as linhagens Vap N podem ser transmitidas para os humanos pelo consumo de carne, assumindo um potencial zoonótico (47).

Outros fatores de virulência do agente que permitem a evasão do sistema imune incluem polissacarídeos capsulares e ácidos micólicos na parede celular, além de várias exoenzimas (12).

R. equi é considerado em muitos países patógeno emergente em humanos, causando infecção oportunista em pacientes imunocomprometidos. Os maiores grupos de risco para a rodococose são os indivíduos HIV positivos, os pacientes que receberam transplantes de órgãos e aqueles em tratamento com quimioterápicos ou corticosteroides (44).

A rodococose em humanos se caracteriza por pneumonia granulomatosa com lesões que podem mimetizar a tuberculose, tornando-se lentamente progressiva e com desenvolvimento de cavitações. Outras manifestações incluem endoftalmite, osteomielite, pleurisia com efusão, abscessos cutâneos e no sistema nervoso central (16). A inalação do micro-organismo é, provavelmente, a via mais comum de transmissão da doença pulmonar em animais e humanos. Nos casos de rodococose intestinal a transmissão ocorre aparentemente pela ingestão de alimentos e água contaminados ou mesmo por deglutição de secreções pulmonares (23,44).

Em animais de companhia a rodococose clínica é rara. As principais afecções envolvidas com a infecção por *R. equi* em cães e gatos são representadas por linfadenite, abscessos cutâneos, piotórax, pneumonia e lesões abscedantes em diversos órgãos, sendo a via transcutânea a principal porta de entrada para o agente. Tais infecções são mais comumente observadas em felinos, cujo comportamento agressivo em disputas territoriais e/ou por fêmeas favorece a veiculação da bactéria por arranhaduras ou lesões perfurocortantes. Em gatos, a

rodococose está associada à coinfeção com doenças de base imunossupressivas, com destaque para o vírus da imunossupressão e da leucemia felina (48).

Apesar de frequente o isolamento de *R. equi* em fezes de animais de produção e, eventualmente, de humanos, raramente há relatos da presença do agente em fezes de cães (9). E também, até o presente momento não há relatos de isolamento da bactéria em fezes de felinos.

***Giardia* spp.**

Giardia é um gênero de protozoários intestinais flagelados que infectam ampla gama de animais vertebrados. O gênero é composto por seis espécies que são distinguidas com base na morfologia e estrutura dos trofozoítas. *Giardia duodenalis* (sinonímia *G. intestinalis*, *G. lamblia*) é a espécie de distribuição mundial considerada agente etiológico da giardíase em grande variedade de mamíferos (49). Estudos moleculares têm demonstrado que *G. duodenalis* é uma espécie complexa e apresenta sete genótipos (A-G). Alguns genótipos foram detectados tanto em humanos quanto em animais, embora outros sejam hospedeiro-específicos. Os gatos podem albergar o genótipo F (“gato-específico”) e também ocasionalmente os genótipos A e B, que representam os principais detectados em humanos (50).

Giardia spp. possui duas formas em seu ciclo de vida denominadas cisto e trofozoíta. Os trofozoítas são móveis e colonizam o trato intestinal. Nos felinos são encontrados principalmente em jejuno e íleo (49). Cada cisto contém dois trofozoítas e, após a ingestão, ocorre excitação no duodeno por exposição ao ácido gástrico e suco pancreático. Os dois trofozoítas contidos no cisto sofrem maturação e se anexam à borda em escova do epitélio das vilosidades intestinais, onde se multiplicam por fissão binária e depois encistam por mecanismo ainda não esclarecido. O período pré-patente da giardíase em gatos varia de 5 a 16 dias (média de 10 dias). Os trofozoítas também podem ser eliminados nas fezes, mas raramente sobrevivem por período significativo fora do hospedeiro (50).

Os sinais clínicos variam consideravelmente entre os animais. A gravidade da sintomatologia é influenciada pela idade, estresse, resposta imunológica e estado nutricional, assim como as linhagens do parasita (51).

Giardia spp. é reconhecida como o parasita mais frequente entre as causas de diarreia em humanos, com estimativa de 280 milhões de infectados mundialmente por ano (52). As crianças e os animais jovens são particularmente suscetíveis às infecções pelo protozoário devido ao sistema imunológico não completamente desenvolvido (53). Os animais de companhia também estão associados com a transmissão direta da giardíase para os humanos, especialmente em ambientes endêmicos (54), embora não seja ainda estabelecido o real impacto desses animais como fontes de infecção. Pereira et al. (55) associaram o número de gatos na família como um dos fatores de risco da giardíase, em uma pesquisa realizada em hospitais pediátricos de Goiânia, Goiás, entre crianças hospitalizadas com diarreia. No estudo citado, o risco de giardíase aumentou cerca de 25% para cada gato adicional na família (55).

***Cryptosporidium* spp.**

Cryptosporidium spp. são protozoários parasitas de uma grande variedade de vertebrados, incluindo mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes (56). Atualmente, existem pelo menos 20 espécies reconhecidas e 40 genótipos de *Cryptosporidium* (51). Destes, as cinco espécies *C. hominis*, *C. parvum*, *C. meleagridis*, *C. felis* e *C. canis* podem infectar humanos imunocompetentes e imunocomprometidos (56).

C. felis é transmitido por via oral-fecal. A infecção pode ocorrer diretamente pela coprofagia e pela ingestão de presas infectadas, ou por ingestão de alimentos ou água contaminados. Após a ingestão dos oocistos ocorre excistamento no trato gastrintestinal, libertando os esporozoítas que constituem a forma infecciosa do protozoário. Os esporozoítas invadem o epitélio intestinal, onde sofrem replicação assexuada e multiplicação sexuada. Os

zigotos formados por reprodução sexuada formam oocistos de paredes espessas, contendo quatro esporozoítos, que são eliminados nas fezes (57).

Os sinais clínicos da doença em gatos são diarreia, anorexia e perda de peso. A diarreia é geralmente aquosa, sem muco, sangue, melena ou esforço. A maioria dos casos sintomáticos de criptosporidiose foram relatados em gatos com imunossupressão, com coinfeções por outros micro-organismos ou com doenças intestinais preexistentes (50). Em animais de companhia, a doença clínica está associada ao desmame, a deficiências nutricionais e a condições de superlotação em canis e/ou gatis (51).

Com o advento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (Aids) na década de 1980, relatos de infecções oportunistas foram associados ao *Cryptosporidium* spp., que passou a ser considerado importante patógeno em humanos (13). Este parasito foi incluído nas doenças negligenciadas da Organização Mundial da Saúde por sua estreita relação com a população de baixo poder aquisitivo, precárias condições de saneamento básico e da qualidade da água consumida (58).

Em humanos, a doença é responsável por manifestações clínicas de diarreia e gastroenterites, apresentando-se como uma doença fatal em pacientes imunocomprometidos e que pode debilitar severamente indivíduos imunocompetentes (59).

Estudo recente no Brasil abordou a prevalência de *Cryptosporidium* sp. em amostras fecais de idosos e de seus felinos domésticos. A positividade para *Cryptosporidium* nos animais que conviviam com idosos foi muito elevada, evidenciando o risco de exposição desta parasitose em grupos populacionais considerados mais suscetíveis (60).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos envolvendo a ocorrência de patógenos entéricos na espécie felina abordam, em sua maioria, micro-organismos isolados, em especial, em animais com diarreia, embora seja conhecido que esses agentes possam estabelecer coinfeções e serem eliminados pelas fezes de gatos de modo subclínico ou inaparente. Também nota-se pouca preocupação na pesquisa dos principais patógenos de veiculação fecal no que tange a procedência do seu ambiente de criação, tampouco investigação dos fatores de virulência desses micro-organismos, que permitam reconhecer o real impacto da patogenicidade dos isolados e as peculiaridades de ordem ambiental que possam favorecer a transmissão dos patógenos para os humanos. A presente revisão alerta para o potencial de gatos domésticos em albergar micro-organismos entéricos, de origem bacteriana e parasitária, patogênicos aos humanos e demais espécies animais. A presença de diferentes patógenos nas fezes de gatos domésticos sinaliza para a necessidade de conscientização da população em geral pelos profissionais da saúde, sobre o potencial zoonótico desses micro-organismos, principalmente em virtude do contato cada vez mais estreito dos humanos e animais de companhia, especialmente gatos.

REFERÊNCIAS

1. Robertson ID, Thompson RC. Enteric parasitic zoonoses of domesticated dogs and cats. *Microbes Infect.* 2002;4:867-73.
2. Wood L, Martin K, Christian H, Nathan A, Lauritsen C, Houghton S, et al. The pet factor - companion animals as a conduit for getting to know people, friendship formation and social support. *PLoS One.* 2015;10:1-17.
3. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa nacional de saúde 2013. Rio de Janeiro: IBGE; 2015.

4. Yoko F. Mercado em constante evolução. *Nutr Pet Horse*. 2011;13:6-12.
5. Damborg P, Broens EM, Chomel BB, Guenther S, Pasmans F, Wagenaar JA, et al. Bacterial zoonoses transmitted by household pets: state-of-the-art and future perspectives for targeted research and policy actions. *J Comp Pathol*. 2016;155:S27-40.
6. Kato K, Ishiwa A. The role of carbohydrates in infection strategies of enteric pathogens. *Trop Med Health*. 2015;43:41-52.
7. Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3rd ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud; 2003. v.1,2,3.
8. Shakespeare M. Zoonoses. 1st ed. London: Pharmaceutical press; 2002.
9. Prescott JF. *Rhodococcus equi*: an animal and human pathogen. *Clin Microbiol Rev*. 1991;4:20-34.
10. Trabulsi LR, Campos LC. Infecções por *Escherichia*. In: Veronesi R, Focaccia R. Tratado de infectologia. 2a ed. São Paulo: Atheneu; 2004. p.793-8.
11. Donnenberg MS. Enterobacteriaceae. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. 7th ed. Philadelphia: Elsevier; 2010. p.2815-901.
12. Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, Hartigan P, Fanning S, Fitzpatrick ES. Veterinary microbiology and microbial disease. 2nd ed. Oxford: Blackwell Science; 2011.
13. Cieloszyk J, Goñi P, García A, Remacha MA, Sánchez E, Clavel A. Two cases of zoonotic cryptosporidiosis in Spain by the unusual species *Cryptosporidium ubiquitum* and *Cryptosporidium felis*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;2:549-51.
14. Scorza AV, Lappin MR. Enteric protozoal infections. In: Greene CE. Infectious diseases of the dog and cat. 4th ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2012. p.785-92.
15. Giuffrida R. Infecções pelo gênero *Campylobacter*. In: Megid J, Ribeiro MG, Paes AC. Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia. 1a ed. Rio de Janeiro: Rocca; 2016. p.347-55.
16. Winn Jr W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, et al. Koneman. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 6a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.
17. Lior H. Classification of *Escherichia coli*. In: Gyles CL. *Escherichia coli* in domestic animals and humans. Wallingford: CAB International; 1994. p.31-71.
18. Nataro JP, Levine MM. *Escherichia coli* diseases in humans. In: Gyles CL. *Escherichia coli* in domestic animals and humans. Wallingford: CAB International; 1994. p.285-333.
19. Donnenberg MS, Whittam TS. Pathogenesis and evolution of virulence in enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *J Clin Invest*. 2001;107:539-48.
20. Bower JM, Eto DS, Mulvey A. A Covert operation of uropathogenic *Escherichia coli* within the urinary tract. *Traffic*. 2005;6:18-31.

21. Yuri K, Nakata K, Katae H, Tsukamoto T, Hasegawa A. Serotypes and virulence factors of *Escherichia coli* strains isolated from dogs and cats. J Vet Med Sci. 1999;61:37-40.
22. Koenig A. Gram-Negative bacterial. In: Greene CE. Infectious diseases of the dog and cat. 4th ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2012. p.349-58.
23. Radostits OM, Gay C, Hinchcliff K, Constable P. Veterinary medicine: a textbook of the disease of cattle, horses, sheep, pigs, goats and horses. 10a ed. London: WB Saunders; 2007.
24. Busch U, Hormansdorfer S, Schraner S, Huber I, Bogner KH, Sing A. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* coll excretion by child and her cat. Emerg Infect Dis. 2007;13:348-9.
25. Trabulsi LR, Campos LC, Lourenço R. Salmoneloses. In: Veronesi R, Focaccia R. Tratado de infectologia. 2a ed. São Paulo: Atheneu; 2004. p.878-85.
- 26-. World Health Organization. Salmonella (non-typhoidal) [Internet]. Geneva: Who; 2013 [cited 2015 Sept 8]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/>
27. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiologia médica. 6a ed. São Paulo: Elsevier; 2010.
28. Nataro JP, Bopp CA, Fields PI, Kaper JB, Strockbine NA. *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Manual of clinical microbiology. 9th ed. Whashington: ASM Press; 2007. p.678-83.
29. Greene CE. Salmonellosis. In: Greene CE. Infectious diseases of the dog and cat. 4th ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2012. p.383-9.
30. Weese JS. Bacterial enteritis in dogs and cats: diagnosis, therapy, and zoonotic potential. Vet Clin Am Small Anim Pract. 2011;41:287-309.
31. Onderdonk AB, Garrett WS. Gas gangrene and other *Clostridium* associated diseases. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. 7th ed. Philadelphia: Elsevier; 2010. p.3103-9.
32. Megid J. Clostridioses. In: Megid J, Ribeiro MG, Paes AC. Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia. 1a ed. Rio de Janeiro: Rocca; 2016. p.144-53.
33. Silva ROS, Lobato FCF. *Clostridium perfringens*: a review of enteric diseases in dogs, cats and wild animals. Anaerobe. 2015;33:14-7.
34. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual integrado de prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos. Brasília: Ministério da Saúde; 2010.
35. Rupnik M, Wilcox MH, Gerding DN. *Clostridium difficile* infection: new developments in epidemiology and pathogenesis. Nature. 2009;7:526-36.
36. Pereira NG. Infecção pelo *Clostridium difficile*. J Bras Med. 2014;102:27-49.

37. Megid J. Doenças associadas ao *Clostridium difficile*. In: Megid J, Ribeiro MG, Paes AC. Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia. 1a ed. Rio de Janeiro: Rocca; 2016. p.184-7.
38. Gonçalves C, Decré D, Barbut F, Burghoffer B, Petit JC. Prevalence and characterization of a binary toxin (actinspecific ADP-ribosyltransferase) from *Clostridium difficile*. J Clin Microbiol. 2004;42:1933-9.
39. Clooten J, Kruth S, Arroyo L, Weese JS. Prevalence and risk factors for *Clostridium difficile* colonization in dogs and cats hospitalized in an intensive care unit. Vet Microbiol. 2008;129:209-14.
40. Borriello SP, Honour P, Turner T, Barclay F. Household pets as a potential reservoir for *Clostridium difficile* infection. J Clin Pathol. 1983;36:84-7.
41. Fox JG. Enteric bacterial infection. In: Greene CE. Infectious diseases of the dog and cat. 4th ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2012. p.370-4.
42. Wolfs TFW, Duim B, Geelen SP, Rigter A, Thomson-Carter F, Fleer A, et al. Neonatal sepsis by *Campylobacter jejuni*: genetically proven transmission from a household puppy. Clin Infect Dis. 2001;32:E97-9.
43. Meyer DK, Reboli AC. Other Coryneform Bacteria and Rhodococci. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. 7th ed. Philadelphia: Elsevier; 2010. p.2702-4.
44. Hines MT. *Rhodococcus equi*. In: Sellon DC, Long MT. Equine infectious diseases. 2nd ed. St. Louis: Saunders; 2014. p.287-302.
45. Ribeiro MG, Vargas AC. Rodococose. In: Megid J, Ribeiro MG, Paes AC. Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia. 1a ed. Rio de Janeiro: Rocca; 2016. p.258-77.
46. Takai S. Epidemiology of *Rhodococcus equi* infections: a review. Vet Microbiol. 1997;56:167-76.
47. Valero-Rello A, Hapeshi A, Anastasi E, Alvarez S, Scotti M, Meijer WG, et al. An invertron-like linear plasmid mediates intracellular survival and virulence in bovine isolates of *Rhodococcus equi*. Infect Immun. 2015;83:2725-37.
48. Greene CE, Prescott JF. Gram-Positive bacterial infections. In: Greene CE. Infectious diseases of the dog and cat. 4th ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2012. p.334-5.
49. Adam RD. Biology of *Giardia lamblia*. Clin Microbiol Rev. 2001;14:447-75.
50. Scorza AV, Lappin MR. Enteric protozoal infections. In: Greene CE. Infectious diseases of the dog and cat. 4th ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2012. p.785-92.
51. Thompson RCA, Palmer CS, O'Handley R. The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. Vet J. 2008;177:18-25.
52. Lane S, Lloyd D. Current trends in research into the waterborne parasite *Giardia*. Crit Rev Microbiol. 2002;28:123-47.

53. Taylor MA, Catchpole J, Marshall RN, Green J. Giardiasis in lambs at pasture. *Vet Rec.* 1993;133:131-3.
54. Geurden T, Olson M. *Giardia* in pet and farm animals, and their zoonotic potential. In: Luján HD, Svärd S. *Giardia* a model organism. New York: SpringerWien; 2011. p.71-9.
55. Pereira MGC, Atwill ER, Barbosa AP. Prevalence and associated risk factors for *Giardia lamblia* infection among children hospitalized for diarrhea in Goiânia, Goiás State, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2007;49:139-45.
56. Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton SJ. *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17:72-97.
57. Fayer R, Morganb U, Upton SJ. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *Int J Parasitol.* 2000;30:1305-22.
58. Assis DC, Resende DV, Cabrine-Santos M, Correia D, Oliveira-Silva MB. Prevalence and genetic characterization of *Cryptosporidium* spp. and *Cystoisospora belli* in HIV-infected patients. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2013;55:149-54.
59. Teunis PFM, Havelaar AH. Risk assessment for protozoan parasites. *Int Biodeterior Biodegrad.* 2002;9:122-46.
60. Pereira CRA, Ferreira AP. Ocorrência e fatores de risco da criptosporidiose em felinos de companhia de idosos. *Rev Bras Geriatr Gerontologia.* Rio de Janeiro. 2012;15:681-91.

Recebido em: 04/10/2016

Aceito em: 08/07/2017

CAPACIDADE DE LIGAÇÃO DOS ESPERMATOZOIDES DO EPIDÍDIMO DE EQUINOS ÀS CÉLULAS DA TUBA UTERINA CULTIVADAS *IN VITRO* – REVISÃO DE LITERATURA

João Alexandre Matos Carneiro¹
Raíssa Karolliny Salgueiro Cruz
Fabiana Ferreira de Souza
José Antonio Dell`Aqua-Júnior

RESUMO

Muitas biotecnologias estão sendo desenvolvidas visando a conservação do material genético de garanhões de alto valor zootécnico. Dentre estas pode-se destacar a colheita de espermatozoides do epidídimo de animais que sofreram algum trauma ou enfermidade que impossibilitem a colheita do sêmen, óbito ou eutanásia. Porém essas células espermáticas não entram em contato com o plasma seminal, importante por conter proteínas que participam de processos relacionados à proteção e ligação dos espermatozoides aos reservatórios espermáticos na tuba uterina. Neste sentido, sugere-se que ocorram alterações bioquímicas nas células espermáticas do epidídimo. Objetivou-se com esta revisão, estudar as principais diferenças morfofuncionais entre os espermatozoides provenientes do epidídimo e do ejaculado de equinos.

Palavras-chave: espermatozoide, plasma seminal, adesão celular.

CAPACITY OF BINDING FROM EQUINE EPIDIDYMIS SPERMATOOZOA TO THE OVIDUCT CELLS CULTURED *IN VITRO* - REVIEW OF THE LITERATURE

ABSTRACT

Several biotechnologies are being developed aiming genetic material conservation of stallions with high zootechnical value, as we can highlight the harvest epididymis's sperm of animals who suffered trauma or illness that makes impossible the semen collection, death or euthanasia. However these sperm cells do not get in touch with seminal plasma, important whereas it has proteins that participate in processes related to the protection and binding of sperm to the sperm reservoir in the oviduct. In this sense, it suggests that there are significant biochemical changes in epididymal sperm. This review aimed to study the main morphological and functional differences between the sperm from the epididymis and ejaculated in horses.

Keywords: spermatozoon, seminal plasma, cell adhesion.

CAPACIDADAD DE LIGACIÓN DE LOS ESPERMATOZOIDES DEL EPIDÍDIMO DE EQUINOS A CÉLULAS DEL OVIDUCTO UTERINO CULTIVADOS *IN VITRO* – REVISIÓN DE LITERATURA

RESUMEN

Muchas biotecnologías desarrolladas actualmente son direccionadas a la conservación del material genético de garañones de alto valor zootécnico. Dentro de estas se destacan la colecta

¹ Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ-UNESP-Botucatu. Distrito de Rubião Júnior S/N, 18618970. Contato correspondência.

de espermatozoides de epidídimo de animais que sofriram algún trauma o enfermedad que impossibilita la colecta de semen, y de animales que murieron o fueron eutanasiados. Las células espermáticas del epidídimo no entran en contacto con el plasma seminal, importante porque contiene proteínas que participan en procesos relacionados con la protección y ligación de los espermatozoides al reservorio espermático en el oviducto uterino. En este sentido, se sugiere que existen importantes alteraciones bioquímicas en las células espermáticas del epidídimo, por tanto el motivo de esta revisión es estudiar las principales diferencias morfo funcionales entre los espermatozoides provenientes del epidídimo y los provenientes del eyaculado en caballos.

Palabras claves: espermatozoide, plasma seminal, adhesión celular.

INTRODUÇÃO

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (1), o Brasil conta com o quarto maior rebanho equino do mundo, com um plantel de 5,5 milhões de cabeças, o segundo maior rebanho bovino com um efetivo nacional de 212,8 milhões de cabeças, além de um crescimento considerável no rebanho dos animais de médio porte como caprinos, ovinos e suínos (9, 17 e 39 milhões de cabeças, respectivamente), sendo um dos países que mais gera produtos utilizando biotécnicas reprodutivas.

Esta produção tem estimulado o desenvolvimento de biotecnologias da reprodução visando a conservação de material genético de animais de alto valor zootécnico. Dentre estas, pode ser destacar a colheita de espermatozoides do epidídimo de reprodutores que sofreram algum trauma ou enfermedad que impossibilitem a colheita do sêmen, ou que tenham vindo a óbito ou eutanásia. Nestes casos, muitos proprietários têm buscado uma última recuperação do sêmen na tentativa de obter mais produtos com a genética valiosa daqueles animais.

Embora estudos recentes em equinos demonstrem um avanço significativo no que se refere à viabilidade dos espermatozoides recuperados da cauda do epidídimo, os componentes moleculares dos espermatozoides, ou dos meios que os cercam, influenciam na capacidade de fertilização destas células. Frente a tal conceito, proteínas do plasma seminal modulam funções e processos cruciais da reprodução, como a motilidade, capacitação espermática, proteção celular, reação acrossômica e fertilização.

É conhecido que ao entrar em contato com o plasma seminal, os espermatozoides adquirem a capacidade de se aderir aos sítios de ligação dos reservatórios espermáticos na tuba uterina, pela combinação de uma série de fatores. Dentre estes, o edema da mucosa da tuba uterina associado à fase do ciclo estral levando a constrição localizada do istmo, redução da motilidade espermática no istmo, retenção dos espermatozoides no muco local e fixação às células epiteliais da tuba uterina (2).

In vitro, o reservatório espermático aumenta a viabilidade do espermatozoide equino (3). Pesquisas demonstraram que o reservatório espermático possui diferentes funções como a prevenção da capacitação espermática precoce, por manter em nível basal a concentração intracelular de cálcio e redução do risco de poliespermia por liberar uma quantidade pequena e suficiente de espermatozoides para a fecundação no momento da ovulação (4).

Porém a inseminação artificial com espermatozoides da cauda do epidídimo, os gametas não entraram em contato com o plasma seminal, podendo assim não adquirir essa capacidade de fixação no sítio de ligação na tuba uterina.

Embora os dados sobre as características de vários componentes bioquímicos do plasma seminal tenham sido publicados e progressos feitos especialmente no campo da proteômica, pouco se sabe a respeito da diferença de adesão dos espermatozoides provenientes do epidídimo e do eyaculado nos sítios de ligação dos reservatórios espermáticos, e até onde o plasma seminal é responsável por essa relação, na espécie equina.

Com base nessas informações e para melhor compreensão da fisiologia espermática, objetivou-se com essa revisão discorrer sobre a importância do plasma seminal e seus principais componentes, como é realizado o transporte espermático, identificar as principais diferenças morfofuncionais entre os espermatozoides provenientes do ejaculado e do epidídimo, assim como sua interação nos sítios de ligação do reservatório espermático no oviduto.

Plasma seminal e seus principais componentes

O sêmen é composto por duas frações distintas: os espermatozoides, que compõem menos que 1% do volume total e o plasma seminal. O plasma seminal é uma mistura de fluido segregado a partir dos testículos, epidídimos e glândulas acessórias, responsável uma infinidade de funções e eventos que precedem a fecundação. Ao entrar em contato com o plasma seminal, os espermatozoides são revestidos com proteínas, enzimas, hormônios e íons secretados pelas glândulas sexuais acessórias do macho (5).

A maioria das proteínas presentes no plasma seminal é proveniente do epidídimo e estão envolvidas na remodelação da membrana espermática, que ocorre durante o trânsito epididimário e após a ejaculação (6).

As proteínas são classificadas de acordo com o tipo de interação com a célula espermática. Podem ocorrer ligações fracas, responsáveis pela quiescência dos espermatozoides; ligações fortes, importantes no trato reprodutivo da fêmea e na fertilização; modificações das proteínas da membrana plasmática, encobrindo ou expondo receptores; ou presença de proteínas livres no fluido epididimário, colaborando com a manutenção do meio (7).

Até o momento, sabe-se que a maioria das proteínas seminais pertence a três grupos: as proteínas transportadoras de dois ou quatro módulos de fibronectina tipo II (Fn-2), proteínas secretórias ricas em cisteína (CRISPs), e as spermadesinas (8).

As proteínas do grupo Fn-2 apresentam número variável de domínios de fibronectina do tipo II e estão presentes ao longo de todo o trato reprodutivo masculino, sendo expressas no corpo, cauda do epidídimo e na ampola do ducto deferente. Essas proteínas interagem especificamente com fosfatidilcolina da membrana plasmática do espermatozoide no momento da ejaculação e possuem habilidade de se ligar à heparina (9).

As proteínas HSP-1 e HSP-2 representam 70-80% das proteínas totais do plasma seminal equino e pertencem ao grupo das proteínas Fn-2, sendo caracterizadas pela habilidade de ligação à heparina (9).

O segundo grupo de proteínas importantes é representado pelas CRISP. Este grupo é caracterizado por apresentar 16 resíduos de cisteína em sua estrutura molecular e são divididas em CRISP1, CRISP2 e CRISP3. A CRISP 1 é expressa ao longo do epidídimo, enquanto a CRISP 2 é expressa no testículo, epidídimo e glândulas vesiculares (10).

Em maior quantidade, proteínas da classe CRISP 3 são expressas desde o epidídimo até o resto do trato genital, com maior expressão na ampola do ducto deferente. As CRISPs são expressas sob controle androgênico e ligam-se na região equatorial, pós-acrossomal e na peça intermediária dos espermatozoides, estando intimamente relacionadas com a fusão do espermatozoide ao oócito. A proteína HSP-3 pertence ao grupo CRISP, sendo estruturalmente semelhante às proteínas deste grupo (11).

As spermadesinas possuem de 110 a 113 aminoácidos na sua estrutura e compreendem um único domínio CUB (domínio proteico) estabilizado por pontes dissulfídicas. Estas proteínas são multifuncionais e exibem habilidade para se ligar à heparina, a inibidores de proteinase, fosfolípidos e carboidratos (10).

A HSP-7 é a maior representante das spermadesinas em garanhões, e é secretada durante o trajeto do espermatozoide pelo ducto epididimário. Esta possui papel importante na interação espermatozoide-zona pelúcida (12).

A osteopontina identificada e isolada da matriz óssea bovina, cartilagens, pele fetal, cérebro, rins, ovários, útero, bem como da urina, bile e leite bovino, e também secretadas pelo plasma seminal (13). No trato reprodutivo masculino, essa proteína é expressa nas células epiteliais das ampolas e glândulas vesiculares, em espermátides alongadas nos testículos, além do epidídimo e em espermatozoides epididimários (14).

Embora as proteínas contidas no plasma seminal exerçam papel importante na funcionalidade dos espermatozoides, existe a hipótese de que o plasma não seja totalmente essencial à fertilização, ou até mesmo danifica os espermatozoides (15). Esta hipótese é sustentada pelos estudos que demonstraram ser possível fecundar os oócitos com espermatozoides epididimais e mesmo células espermáticas primordiais (16).

Transporte espermático

Logo após a cobertura, ou a inseminação artificial, o útero se torna um ambiente hostil para os espermatozoides devido à ocorrência de uma reação inflamatória contra as bactérias e o sêmen. Assim, o transporte rápido é extremamente importante para que os espermatozoides alcancem a tuba uterina e possam fertilizar o oócito (3).

A duração do transporte espermático depende do intervalo entre a inseminação e a ovulação e da meia-vida funcional do espermatozoide no trato uterino da fêmea (17). As contrações musculares do trato reprodutivo, os movimentos ciliares, a corrente de fluido e a atividade flagelar dos espermatozoides constituem os mecanismos primários do transporte espermático (18).

Scott et al. (19) descreveram a presença de espermatozoide no lúmen da junção útero-tubárica, 18 e 26 horas após a inseminação artificial com sêmen fresco. Os autores concluíram que a junção uterotubárica também faz parte do reservatório espermático na égua.

Bader (20) realizou um estudo em que as éguas foram eutanasiadas 2, 4 e 6 horas após a inseminação, sendo realizados lavados da junção útero-tubárica, istmo e ampola da tuba uterina ipsilateral à ovulação. O número de espermatozoides na junção uterotubárica e tuba uterina foi superior 4 horas após a inseminação, quando comparado a 2 e 6 horas.

A habilidade dos espermatozoides congelados ascenderem a tuba uterina e alcançarem à ampola é muito menor que as células a fresco. Estudos indicam que embora poucos espermatozoides estejam presentes na junção uterotubárica e istmo após 2 horas da inseminação, o transporte até a ampola ainda não se completou, evento observado após 4 horas (21).

Após o transporte até a tuba, os espermatozoides se aderem às células do epitélio tubárico formando o reservatório espermático. Nos equinos o reservatório se forma no istmo da tuba uterina até quatro horas após a monta ou inseminação artificial (20).

Espermatozoides provenientes do epidídimo x ejaculado

Em gatos, a gota citoplasmática distal foi o defeito mais frequente em espermatozoides provenientes da cauda do epidídimo e provavelmente está relacionado ao processo de maturação espermática durante sua passagem pelo epidídimo. Sendo que o espermatozoide irá perder este resquício citoplasmático durante a ejaculação (22).

Foi verificado por Yu e Leibo (23), na espécie canina, que após 6 horas da orquiectomia, a integridade da membrana do espermatozoide a fresco foi de 70 a 80%. Após 48 horas, mais de 70% das células recuperadas do epidídimo refrigerado apresentavam membrana intacta, valores semelhantes ao do ejaculado. Em contraste, foi observado que a motilidade espermática diminuiu significativamente nas primeiras 5 horas de refrigeração, após esse período o decréscimo foi mais lento.

De acordo com Johnston et al. (24), a concentração de espermatozoides recuperados do epidídimo de cães é semelhante a concentração espermática descrita para o ejaculado.

Os espermatozoides armazenados no epidídimo bovino possuem a capacidade de fecundar o oócito, entretanto, o plasma seminal possui fatores decapacitantes, o que promovem alterações metabólicas e bioquímicas em sua estrutura, contribuindo com a capacitação e reação do acrossomo (25,26). Apesar disto, Amann e Griel-Jr. (27), também trabalhando com bovinos, mostraram que espermatozoides da cauda do epidídimo possuem capacidade de fertilização similar ao do ejaculado.

Santos e Vannucchi (28), relacionaram a baixa motilidade e vigor espermático da célula epididimária descongelada à imaturidade da célula espermática bovina. Entretanto, apesar de Martins et al. (29) também terem detectado uma queda significativa da motilidade espermática após a descongelação do sêmen bovino, a porcentagem de células íntegras e a porcentagem de células morfológicamente normais foram semelhantes aos resultados obtidos na descongelação de espermatozoides obtidos de ejaculados e do epidídimo.

Estudos realizados por Silva et al. (30) mostraram que a motilidade (50 a 90%) e vigor espermático do ejaculado foi maior do que a dos espermatozoides do epidídimo (20 a 70%), respectivamente. Diferença essa que poderia ser atribuída a imaturidade da célula espermática proveniente da cauda do epidídimo. Não foram observadas diferenças significativas quanto aos defeitos morfológicos, integridade do acrossomo e da cromatina entre os dois grupos.

Em muare, Glória et al. (31) observaram diferenças significativas na viabilidade ($90,9 \pm 3,7\%$ em espermatozoides do epidídimo e $71,7 \pm 6,1\%$ no ejaculado) e atividade mitocondrial ($85,7 \pm 3,1\%$ e $77,6 \pm 2,6\%$ em espermatozoides do epidídimo e ejaculado, respectivamente), embora valores de motilidade total e progressiva tenham sido semelhantes, tanto para espermatozoides epididimários quanto para o ejaculado.

Em equinos, Monteiro et al. (32) observaram que o número médio de espermatozoides obtidos do ejaculado (colhidos com vagina artificial) e da cauda do epidídimo foi, respectivamente: $6,9$ e $20,4 \times 10^9$. Estes resultados são semelhantes a achados anteriores, nos quais o número total de espermatozoides recuperados da cauda do epidídimo foi superior aos colhidos com vagina artificial (33- 35). Os parâmetros motilidade e velocidade dos espermatozoides do epidídimo foram superiores aos espermatozoides do ejaculado (32).

Aurich et al. (36) demonstrou efeito deletério na viabilidade espermática com a adição do plasma seminal proveniente de ganhões de baixa congelabilidade. Além disso, outros estudos demonstraram que proteínas contidas no plasma seminal podem promover alterações bioquímicas, levando a danos na membrana plasmática com prejuízos na fertilidade e congelabilidade espermática (37,38).

Monteiro et al. (32) observaram maior porcentagem de defeitos morfológicos de cauda e defeitos totais nos espermatozoides do ejaculado quando comparado com espermatozoides da cauda do epidídimo de ganhões. Estes achados diferem de resultados obtidos por Monteiro (35) em que não houve diferença na morfologia espermática entre espermatozoides do epidídimo e do ejaculado, além de estudos realizados em bovinos por Silva et al. (30) e Martins et al. (39), que detectaram maior frequência de gota protoplasmática em amostras do epidídimo quando confrontadas com o sêmen do ejaculado.

Reservatório espermático na tuba uterina

A tuba uterina consiste de três segmentos, cada um com diferentes funções: istmo, ampola e infundíbulo. O istmo possui a função de armazenamento espermático, a ampola proporciona um ambiente favorável a fertilização e ao desenvolvimento embrionário inicial e o infundíbulo possui fimbrias para captação do oócito. A tuba uterina comunica-se com o útero pela junção

uterotubárica que proporciona uma barreira aos micro-organismos patogênicos que possam invadir a tuba uterina a partir do útero, além de regular a passagem do espermatozoide (40).

As células espermáticas ficam retidas no reservatório espermático da tuba uterina pela combinação de inúmeros fatores. Dentre estes uma constrição localizada no istmo em vista do edema da mucosa da tuba uterina associado à fase do ciclo estral, fazendo com que haja a queda da motilidade espermática neste local. Assim como aprisionamento dos espermatozoides no muco local e fixação às células epiteliais da tuba uterina (2).

A incubação *in vitro* com células do reservatório espermático aumenta a viabilidade do espermatozoide equino (3). *In vivo*, pesquisas demonstraram que o reservatório espermático possui diferentes funções como prevenção da capacitação espermática precoce, por manter em nível basal a concentração intracelular de cálcio. Assim como a redução do risco de poliespermia por liberar uma quantidade pequena e suficiente de espermatozoides para a fecundação no momento da ovulação (4).

Análise por micrografia eletrônica demonstrou que os espermatozoides se ligam às células ciliadas e não ciliadas, sendo que as células epiteliais do istmo apresentaram maior número de espermatozoides fixados quando comparadas às da ampola. Maior número de espermatozoides se liga ao epitélio da tuba uterina nas fases folicular e pós-ovulação quando comparado com diestro (2).

Pesquisas relatam diferenças entre ganhões no que se refere a formação do reservatório espermático, sendo que espermatozoides provenientes de ganhões sub-férteis possuem uma menor capacidade de adesão às células epiteliais da tuba uterina quando comparado com espermatozoides provenientes de ganhões férteis (41).

De acordo com Katila et al. (42) protocolos de criopreservação do sêmen equino causam danos subletais ao espermatozoide o qual prejudica a formação do reservatório espermático. Assim sendo, a criopreservação leva a uma diminuição no número de espermatozoides aderido as células da tuba uterina após a inseminação, como também uma diminuição do tempo de sobrevivência destes gametas, necessitando de precisão no que se refere ao momento da inseminação.

Nos bovinos, a ligação dos espermatozoides do epidídimo ao epitélio da tuba uterina ocorre em um nível baixo, porém quando acrescido das proteínas BSPs (A1 e A2) purificadas, a partir do plasma seminal, a ligação aumenta para níveis comparados com o do ejaculado (43).

Receptores para as proteínas BSPs na tuba uterina bovina foram isolados a partir de extratos do epitélio da membrana apical utilizando proteínas purificadas BSPs como armadilhas. Os receptores foram identificados como sendo quatro membros da família das proteínas anexinas (ANXA1, -2, -4, -5) sendo fortes candidatos para os receptores de espermatozoides no epitélio da tuba uterina bovina (44).

ANXAs compreendem uma grande família de proteínas cujas funções são mal compreendidas. Tais proteínas foram localizadas no interior das células epiteliais da tuba uterina, em secreções e na superfície destas. Cada receptor ANXA isoladamente é suficiente para elevar a ligação do espermatozoide com o epitélio da tuba uterina a valores semelhantes ao do ejaculado, sendo improvável que elas sejam necessárias em conjunto como um complexo (45).

ANXA1 é secretada pela próstata humana em quantidades elevadas no plasma seminal. Contudo, se desconhece se o espermatozoide humano transporta as ANXAs do plasma seminal até a tuba uterina, onde estas podem ser substituídas por ANXAs do epitélio. Considerando que BSPs, individualmente, melhoram a ligação do espermatozoide ao epitélio da tuba uterina, não se conhece se cada ANXA pode atuar como um receptor independente para o espermatozoide (46).

As proteínas BSP diferem umas das outras na distribuição de carga eletrostática da superfície. Esta propriedade confere as BSPs diferentes afinidades de ligação de uma molécula

na superfície do espermatozoide com a molécula oposta no epitélio tubárico. Do mesmo modo, as várias ANXAs presentes na tuba uterina devem ter diferentes afinidades de ligação e cinética com as BSPs espermáticas (47).

Assim, a interação entre as BSPs espermáticas e as ANXAs da tuba uterina pode fornecer um sistema regulatório para assegurar que células espermáticas sejam mantidas férteis no reservatório e sejam gradualmente liberadas no momento apropriado para assegurar a fertilização (48).

A ligação do espermatozoide ao epitélio de alguma forma preserva sua fertilidade durante o armazenamento. O espermatozoide aderido ao epitélio da tuba uterina mantém baixos níveis de Ca^{2+} citoplasmático, em comparação aos espermatozoides com movimentação livre (49,50).

O mecanismo para a prevenção do aumento de Ca^{2+} citoplasmático em espermatozoides não é totalmente elucidado, mas sugere-se que a catalase, presente na tuba uterina bovina, serve para minimizar os danos peroxidativos às membranas dos espermatozoides, impedindo o influxo de Ca^{2+} para a célula (51).

Em um sistema de co-cultivo heterólogo (Figura 1 a, b, c e d) entre espermatozoides de garanhões e células do epitélio tubárico bovino, foi observada a adesão das células espermática às células da tuba uterina, ocorrendo o aumento da sobrevivência dos espermatozoides, *in vitro*. Resultado semelhante ao que foi observado em sistema de co-cultivo espermatozoide-*explants* da mesma espécie (52,53).

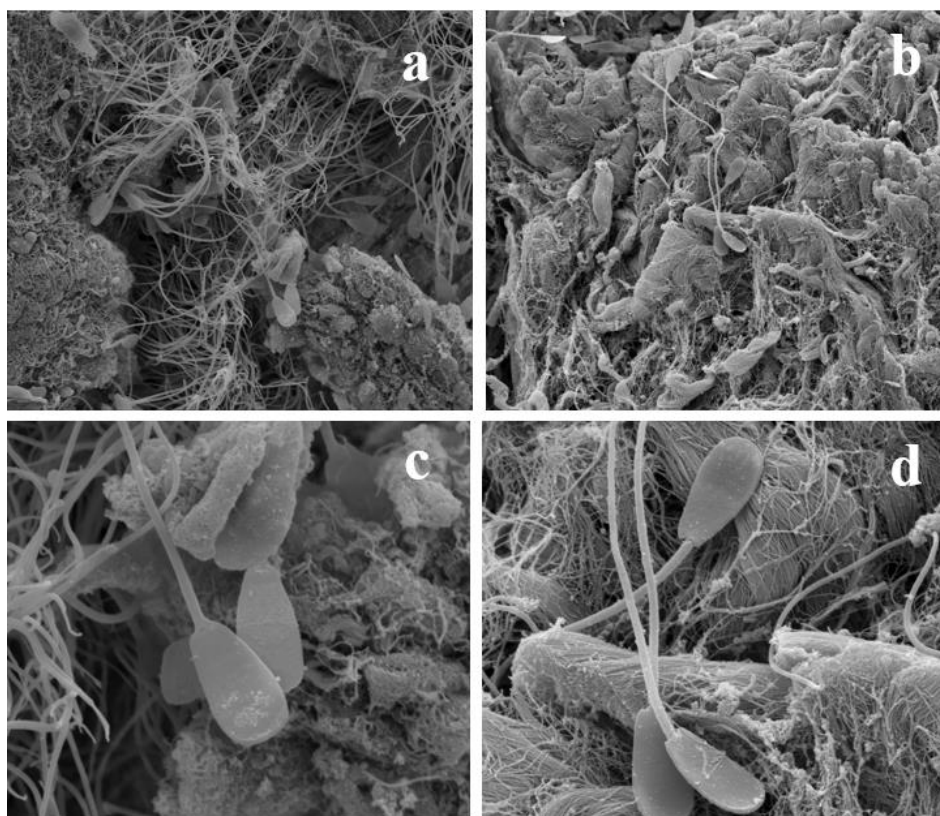


Figura 1. Microscopia eletrônica de varredura de células epiteliais da tuba uterina bovina 30 min após a adição de espermatozoides equinos. (a) Vista da interação espermatozoide - *explant* da tuba uterina ($\times 2550$) (b) Outra vista da interação espermatozoide - *explant* da tuba uterina ($\times 3180$). (c e d) Ampliação dos cultivos a e b, respectivamente, em que os espermatozoides podem ser vistos em contato com a células epiteliais da tuba uterina (c; $\times 10000$) (d; $\times 8760$). Podemos notar a presença dos cílios entorno das células espermáticas.

Embora as lecitinas que intermediam a ligação entre o espermatozoide e as células do epitélio tubárico sejam diferentes entre bovinos e equinos, foi constatada uma adesão celular com subsequente prolongamento na viabilidade espermática em sistema de co-cultivo, o que comprova a viabilidade da utilização da técnica entre espécies diferentes (52).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar do seu incompleto desenvolvimento funcional, as células germinativas da cauda do epidídimo são capazes de desempenhar sua função de forma efetiva.

Com a melhoria dos extensores e dos métodos de colheita de células espermáticas da cauda do epidídimo, se tornou possível a utilização deste tipo celular na fertilização de oócitos de várias espécies animais, o que é de suma importância, pois aumenta a possibilidade de preservação do germoplasmas.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Brasileiro e Geografia e Estatística. Produção da pecuária nacional, 2011 [Internet]. Rio de Janeiro: IBGE; 2011 [cited 2015 Dez 18]. Available from: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=2241&id_pagina=1
2. Thomas PGA, Ball BA, Brinsko SP. Interaction of equine spermatozoa with oviduct epithelial cell explants is affected by estrous cycle and anatomic origin of explant. *Biol Reprod.* 1994;51:222-8.
3. Troedsson MHT, Liu IKM, Crabo BG. Sperm transport and survival in the mare. *Theriogenology.* 1998;49:905-15.
4. Lefebvre R. Characterization of the oviductal sperm reservoir in cattle. *Biol Reprod.* 1995;53:1066-74.
5. Wite RG. Secreções do trato reprodutivo masculino e plasma seminal. In: Hafez ESE. *Reprodução animal.* 4a ed. São Paulo: Manole; 1988. p.212-28.
6. Dacheux JL, Gatti JL, Dacheux F. Contribution of epididymal secretory proteins for spermatozoa maturation. *Microsc Res Tech.* 2003;61:7-17.
7. Marengo SR. Maturing the sperm: unique mechanisms for modifying integral proteins in the sperm plasma membrane. *Anim Reprod Sci.* 2008;105:52-63.
8. Kareskoski M, Katila T. Components of stallion seminal plasma and the effects of seminal plasma on sperm longevity. *Anim Reprod Sci.* 2008;107:249-56.
9. Ekhalasi-Hundrieser M, Schafer B, Kirchhof C, Hess O, Bellair S, Müller P. Structural and molecular characterization of equine sperm-binding fibronectin-II module proteins. *Mol Reprod Dev.* 2005;70:45-57.
10. Töpfer-Petersen E, Ekhalasi-Hundrieser M, Kirchhoff C, Leeb T, Sieme H. The role of stallion seminal proteins in fertilization. *Anim Reprod Sci.* 2005;89:159-70.

11. Schambony A, Hess O, Gentzel M, Töpfer-Petersen E. Expression of CRISP proteins in the male equine genital tract. *J Reprod Fertil.* 1998;53:67-72.
12. Reinert M, Calvete JJ, Sanz L, Mann K, Töpfer-Petersen E. Primary structure of stallion seminal plasma protein HSP-7, a zona-pellucida-binding protein of the spermadhesin family. *Eur J Biochem.* 1996;242:636-40.
13. Sorensen ES, Petersen TE. Purification and characterization of three proteins isolated from the proteose peptone fraction of bovine milk. *J Dairy Res.* 1993;60:189-97.
14. Rodríguez CM, Day JR, Killian GJ. Expression of the lipocalin-type prostaglandin D synthase gene in the reproductive tracts of Holstein bulls. *J Reprod Fertil.* 2000;120:303-9.
15. Al-Somai N, Vishwanath R, Molan PC. Anionic and cationic components from protein aggregates in bovine seminal plasma and their effects on sperm motility. *Mol Reprod Dev.* 1994;39:328-36.
16. Martins CF, Silva AEDF, Matarazzo R. Evaluation of the quality of cryopreserved bovine epididimal spermatozoa by analysis of motility, acrosomal status, penetration ability in oocytes and integrity of sperm chromatin. *Biol Reprod.* 2000;62:156.
17. Scott MA. A glimpse at sperm function in vivo: sperm transport and epithelial interaction in the female reproductive tract. *Anim Reprod Sci.* 2000;60-61:337-48.
18. Hunter RHF. Sperm transport and reservoirs in the pig oviduct in relation to the time of ovulation. *J Reprod Fertil.* 1981;63:109-17.
19. Scott MA, Varner DD, Liu IKM, Enders AC. Presumptive evidence of a preovulatory sperm reservoir in the mare: morphological investigations using scanning electron microscopy. *Theriogenology.* 2002;58:639-42.
20. Bader HA. An investigation of sperm migration into the oviducts of the mare. *J Reprod Fertil.* 1982;32:59-64.
21. Scaldelai PRR, Bertozzo BR, Shiroma MYM, Castro JB, Zúccari CESN. Aspectos relacionados ao uso do sêmen congelado de garanhões. *Vet Foco.* 2010;7:108-23.
22. Axné E, Ström-Holst B, Linde-Forsberg C. Morphology of spermatozoa in the cauda epididymis before and after electroejaculation and a comparison with ejaculated spermatozoa in the domestic cat. *Theriogenology.* 1998;50:973-9.
23. Yu I, Leibo SP. Recovery of motile, membrane-intact spermatozoa from canine epididymides stored for 8 days at 4°C. *Theriogenology.* 2002;57:1179-90.
24. Johnston SD, Kustritz MVR, Oslon PNS. Semen collection, evaluation and preservation. In: Johnston SD, Kustritz MVR, Oslon PNS. *Canine and feline theriogenology.* Philadelphia: WB Saunders; 2001. p.287-306.

25. Yang X, Jiang S, Foote RH. Bovine oocyte development following different oocyte maturation and sperm capacitation procedures. *Mol Reprod Dev.* 1993;34:94-100.
26. Yanagimachi R. Mammalian fertilization. In: Knobil E, Neil JD. *The physiology of the reproduction.* 2a ed. New York: Raven Press; 1994. p.189-317.
27. Amann RP, Griel-Jr LC. Fertility of bovine spermatozoa from rete testis, cauda epididymidis and ejaculated sperm. *J Dairy Sci.* 1974;57:212-9.
28. Santos SEC, Vannucchi CI. Criopreservação de espermatozoides epididimários em cães pós-morte. *Rev Bras Reprod Anim.* 2002;26:129-276.
29. Martins MIM, Souza FF, Chirinéa VH, Tebet J, Lopes MD. Viabilidade de espermatozoides criopreservados, obtidos do epidídimo de cães. In: *Mostra Científica da FMVZ/UNESP; 2003; Botucatu.* Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 2003.
30. Silva AEDF, Dias AL, Unanian MM, Freitas AR, Junior CB. Conteúdo de peptídeos e avaliação morfofisiológica dos espermatozoides do epidídimo e ejaculado de bovinos. *Rev Bras Zootec.* 2003;32:1890-900.
31. Gloria A, Contri A, Amicis ID, Robbe D, Carluccio A. Differences between epididymal and ejaculated sperm characteristics in donkey. *Anim Reprod Sci.* 2011;128:117-22.
32. Monteiro GA, Papa FO, Guast PN, Freitas NPP, Melo CM, Avanzi BR, et al. Fertilidade de espermatozoides recuperados da cauda do epidídimo de garanhões subférteis. *Vet Zootec.* 2011;18:255-63.
33. Muradás PR, Weiss RR, Kozicki LE, Granemann LC, Santos IW, Pimpão CT. Alguns parâmetros de viabilidade de espermatozoides equinos colhidos por vagina artificial e por lavagem da cauda do epidídimo. *Arch Vet Sci.* 2006;11:69-74.
34. Granemann LC. Avaliação comparativa do sêmen equino colhido com vagina artificial e por lavado intraluminal da cauda do epidídimo pós-orquiectomia [dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2006.
35. Monteiro GA. Criopreservação e fertilidade de espermatozoides recuperados da cauda do epidídimo de garanhões [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2010.
36. Aurich JE, Kühne A, Hoppe H, Aurich C. Seminal plasma affects membrane integrity and motility of equine spermatozoa after cryopreservation. *Theriogenology.* 1996;46:791-7.
37. Moore HDM, Hibbit KCS. The binding of labeled basic proteins by boar spermatozoa. *J Reprod Fertil.* 1976;46:71-7.
38. Moustafa AR, Mezaros I. Interrelationship between the total protein content of bovine seminal plasma and behavior of spermatozoa after freezing-and-thawing. *Acta Vet Acad Sci Hung.* 1981;28:403-8.

39. Martins CF, Rumpf R, Pereira DC, Dode MN. Cryopreservation of epididymal bovine spermatozoa from dead animals and its uses in vitro embryo production. *Anim Reprod Sci.* 2007;101:326-31.
40. Suarez SS. Regulation of sperm storage and movement in the mammalian oviduct. *Int J Dev Biol.* 2008;52:455-62.
41. Scott MA, Liu IK, Overstreet JW. Sperm transport to the oviducts: abnormalities and their clinical implications. In: *Proceedings of the 41o Annual Convention - American Association of Equine Practitioner; 1995; Lexington. Lexington: AAEP; 1995. p.1-2.*
42. Katila T, Celebi M, Koskinen E. Effect of timing of frozen semen insemination on pregnancy rate in mares. *Acta Vet Scand.* 1996;37:361-5.
43. Gwathmey TM, Ignatz GG, Mueller JL, Manjunath P, Suarez SS. Bovine seminal plasma proteins PDC-109, BSP-A3, and BSP-30-kDa share functional roles in storing sperm in the oviduct. *Biol Reprod.* 2006;75:501-7.
44. Ignatz GG, Cho MY, Suarez SS. Annexins are candidate oviductal receptors for bovine sperm surface proteins and thus may serve to hold bovine sperm in the oviductal reservoir. *Biol Reprod.* 2007;77:906-13.
45. Rescher U, Gerke V. Family, friends and functions. *Pflugers Arch.* 2008;455:575-82.
46. Christmas P, Callaway J, Fallon J, Jones J, Haigler HT. Selective secretion of annexin 1, a protein without a signal sequence, by the human prostate gland. *J Biol Chem.* 1991;266:2499-507.
47. Gwathmey TM, Ignatz GG, Suarez SS. PDC-109 (BSP-A1/ A2) promotes bull sperm binding to oviductal epithelium in vitro and may be involved in forming the oviductal sperm reservoir. *Biol Reprod.* 2003;69:809-15.
48. Fan J, Lefebvre J, Manjunath P. Bovine seminal plasma proteins and their relatives: a new expanding superfamily in mammals. *Gene.* 2006;375:63-74.
49. Dobrinski I, Suárez SS, Ball BA. Intracellular calcium concentration in equine spermatozoa attached to oviductal epithelial cells in vitro. *Biol Reprod.* 1996;54:783-8.
50. Dobrinski I, Smith TT, Suárez SS, Ball BA. Membrane contact with oviductal epithelium modulates the intracellular calcium concentration of equine spermatozoa in vitro. *Biol Reprod.* 1997;56:861-9.
51. Lapointe S, Sullivan R, Sirard MA. Binding of a bovine oviductal fluid catalase to mammalian sperm. *Biol Reprod.* 1998;58:747-53.
52. Samper J, Ellington J, Burnett K, Jones A, Wright R. Use of sperm and oviduct cell co-culture as a test for stallion field fertility. In: *Proceedings of the 41o Annual Convention - American Association of Equine Practitioner; 1995; Lexington. Lexington: AAEP; 1995. p.3-5.*

53. Ellington JE, Jones AE, Davitt CM, Schneider CS, Brisbois RS, Hiss GA, et al. Human sperm function in co-culture with human, macaque or bovine oviduct epithelial cell monolayers. Hum Reprod. 1998;13:2797-804.

Recebido em: 04/09/2016

Aceito em: 13/07/2017

PRINCIPAIS MICOTOXICOSES EM SUÍNOS

Pollyana Cristina Maggio de Castro Souto¹

Laurinda Augusto¹

Mayra Carraro Di Gregorio¹

Carlos Augusto Fernandes de Oliveira²

RESUMO

Diversas micotoxinas amplamente distribuídas na natureza possuem propriedades tóxicas acentuadas e podem contaminar culturas de milho destinadas à alimentação humana e animal. A aflatoxina e as fusariotoxinas (principalmente fumonisina e zearalenona) são as que mais comumente provocam prejuízos na suinocultura. A produção das fusariotoxinas ocorre principalmente antes da colheita, mas assim como a aflatoxina, também pode ocorrer pós-colheita caso não seja tratada e seca corretamente. Os efeitos relacionados à ingestão destes compostos são dependentes de fatores relacionados à toxina (estrutura química, dose) e ao animal (espécies, raça, sexo, idade, condições nutricionais). Ainda, a possibilidade de ocorrência simultânea de duas ou mais micotoxinas, pode acarretar na potencialização de seus efeitos tóxicos sobre o organismo susceptível e, dependendo do grau de intoxicação, os sintomas desencadeados são representados principalmente pela baixa produtividade animal, maior susceptibilidade a doenças, o que gera grandes prejuízos econômicos. Esta revisão apresenta aspectos gerais relacionados à toxicologia, como mecanismos de ação e efeitos em suínos, além de dados de ocorrência de aflatoxinas, fumonisinas e zearalenona no milho brasileiro.

Palavras-chaves: micotoxinas, toxicidade, suínos.

MAJOR MYCOTOXICOSES IN SWINE

ABSTRACT

Several mycotoxins widely distributed in nature have accentuated toxic properties and can contaminate corn crops for human and animal consumption. Aflatoxin and fusariotoxins (mainly zearalenone and fumonisin) are the most common causes of losses in pig farming. The production of fusariotoxins mainly occur before harvest, but just as aflatoxin, can also occur post-harvest if not treated and dried properly. The effects related to the ingestion of these compounds are dependent on factors related to the toxin (chemical structure, dose) and animal (species, breed, sex, age, nutritional conditions). Moreover, the possibility of simultaneous occurrence of two or more mycotoxins, may result in potentiation of their toxic effects on the organism susceptible and depending on the degree of intoxication, the triggered symptoms are primarily represented by the low animal productivity, increased susceptibility to diseases, which generates great economic losses. This review presents general aspects related to toxicology, as mechanisms of action and effects in pigs, as well as the occurrence of aflatoxin, fumonisin and zearalenone in Brazilian corn.

Keywords: mycotoxins, toxicity, swine.

¹ Doutorando em Zootecnia, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

² Professor Titular de Micotoxicologia de Alimentos da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo. Contato principal para correspondência. carlosaf@usp.br.

PRINCIPALES MYCOTOXICOSIS EN CERDOS

RESUMÉN

Varias micotoxinas ampliamente distribuidas en la naturaleza tienen acentuadas propiedades tóxicas y pueden contaminar los cultivos de maíz para el consumo humano y animal. La aflatoxina y las fusariotoxinas (principalmente zearalenona y fumonisinas) son las que más comúnmente causan pérdidas en la cría de cerdos. La producción de fusariotoxinas ocurre principalmente antes de la cosecha, pero igual de aflatoxina, también puede ocurrir después de la cosecha si no se trata y se seca correctamente. Los efectos relacionados con la ingestión de estos compuestos dependen de factores relacionados con la toxina (estructura química, la dosis) y animal (especie, raza, sexo, edad, estado nutricional). Sin embargo, la posibilidad de ocurrencia simultánea de dos o más micotoxinas, puede dar lugar a la potenciación de sus efectos tóxicos sobre el organismo susceptible y, dependiendo del grado de intoxicación, los síntomas provocados están representados principalmente por la baja productividad de los animales, aumento de la susceptibilidad a las enfermedades, lo que genera grandes pérdidas económicas. Esta revisión presenta los aspectos generales relacionados con la toxicología, como mecanismos de acción y efectos en los cerdos, así como datos de ocurrencia de aflatoxina, zearalenona y fumonisinas en el maíz brasileño.

Palabras chave: micotoxinas, toxicidad, cerdos.

INTRODUÇÃO

Micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos produzidos por fungos, que possuem estruturas químicas variadas e podem ser encontradas em diversos substratos destinados à alimentação humana e animal, principalmente no milho (1). A contaminação dos grãos por fungos toxigênicos pode ocorrer durante a produção, processamento, armazenamento ou estocagem (2). Mais de trezentas micotoxinas são conhecidas e produzidas por aproximadamente uma centena de fungos. As principais podem ser divididas em três grupos: aflatoxinas produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*; ocratoxinas, produzidas por algumas espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*; e fusariotoxinas, que possuem como principais representantes a fumonisina, zearalenona e os tricotecenos, e são produzidas por diversas espécies do gênero *Fusarium* (1).

A diversidade de sintomas e a magnitude dos efeitos tóxicos observados (lesões de pele, hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, neurotoxicidade, hematotoxicidade, genotoxicidade, mutagenicidade, teratogenicidade, imunossupressão e até mesmo a morte) estão relacionadas tanto às diferenças na estrutura química das micotoxinas, quanto pela variação individual do animal. Fatores como espécie, raça, sexo, idade, ambiente, manejo e condições nutricionais contribuem fortemente para esta variação (3,4). As manifestações agudas de intoxicação ocorrem quando indivíduos consomem doses moderadas a altas de micotoxinas, enquanto que a ingestão prolongada de baixas doses de micotoxinas, conduz a uma toxicidade sub-crônica ou crônica. Adicionalmente, a possibilidade de ocorrência simultânea de duas ou mais micotoxinas, pode acarretar na potencialização dos efeitos tóxicos (4).

Atualmente o Brasil é responsável por 10% da exportação mundial de carne suína e, segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (5), a suinocultura cresce anualmente cerca de 4%. Entretanto, condições climáticas ideais para o desenvolvimento de fungos toxigênicos são encontradas no Brasil e em outros países de clima tropical. As micotoxinas mais comumente encontradas e de maior relevância econômica são as aflatoxinas (AF), fumonisinas (FB) e zearalenona (ZEA). A ingestão destes compostos, principalmente pelo milho contaminado, gera grandes prejuízos econômicos pela redução do desempenho animal, da eficiência reprodutiva,

da conversão alimentar, além de aumentar a susceptibilidade a doenças (4). A importância destas micotoxinas é relacionada não apenas pela ocorrência frequente, mas também pelo elevado potencial toxigênico demonstrado em animais de interesse zootécnico, principalmente suínos.

AFLATOXINAS

As aflatoxinas foram descobertas há mais de 50 anos, como a causadora da doença "X" dos perus na Inglaterra. Estudos laboratoriais subsequentes usando *Aspergillus flavus* confirmaram a existência de um princípio tóxico capaz de induzir toxicidade aguda no fígado. A elucidação estrutural da aflatoxina B₁ (AFB₁) foi realizada e confirmada pela sua síntese total em 1963 (6). As aflatoxinas são conhecidas por serem substâncias tóxicas, mutagênicas, teratogênicas, carcinogênicas e são apontadas como agentes causadores de câncer hepático e outros tipos de câncer em humanos (7).

A formação das aflatoxinas pode ocorrer na maioria dos substratos utilizados na alimentação humana e animal, principalmente o milho e amendoim, mas também em trigo, sementes de algodão, arroz, entre outros. Diversos compostos similares são conhecidos e designados pelo termo aflatoxina, entretanto, habitualmente este termo refere-se a quatro compostos de interesse médico-sanitário denominados B₁, B₂, G₁ e G₂, além de dois produtos metabólicos - M₁ e M₂ (7,8). A estrutura química das aflatoxinas apresenta um núcleo central cumarínico ligado a uma estrutura bi-furanóide. As aflatoxinas B apresentam anel ciclopentona na molécula, enquanto que as da série G apresentam anel lactona (9).

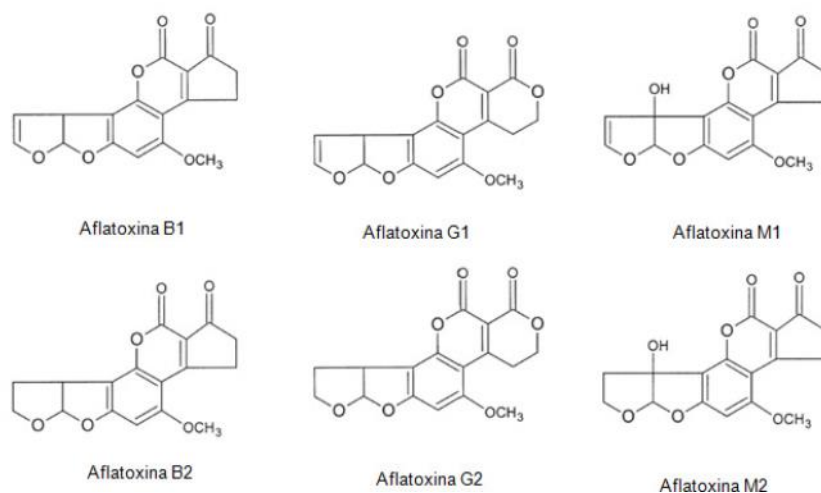


Figura 1. Estrutura química das aflatoxinas B₁, G₁, M₁, B₂, G₂ e M₂.

A aflatoxina B₁ (AFB₁), além de ser a mais frequentemente encontrada em substratos vegetais é a que apresenta maior poder toxigênico, enquanto que a toxicidade aguda das aflatoxinas G₁ (AFG₁), B₂ (AFB₂) e G₂ (AFG₂) é cerca de 50, 20 e 10% comparado à AFB₁, respectivamente (9).

Mecanismo de ação das aflatoxinas

Após a ingestão, a AFB₁ é eficientemente absorvida por difusão passiva no trato gastrointestinal, rapidamente biotransformada no fígado antes de ser excretada. A AFB₁ absorvida e seus metabólitos são excretados pela urina, enquanto as fezes constituem uma via de eliminação para a AFB₁ não absorvida e para os metabólitos liberados pela bile. No caso de lactantes, a excreção também pode ocorrer pelo leite. Estudos em animais demonstraram que

em condições normais, 50% da dose oral de AFB₁ administrada é rapidamente absorvida na região duodenal e alcança o fígado pelo sistema portal. A AFB₁ não metabolizada é concentrada no fígado, mas pode ser encontrada em quantidades bem menores nos rins e no sangue (7).

De forma geral, esta metabolização ocorre em duas fases conhecidas como Fase I e Fase II. A Fase I consiste principalmente por reações de hidrólise, redução e oxidação mediadas por enzimas, enquanto que a Fase II envolve as reações de conjugação do produto da Fase I. As enzimas da família do citocromo P450 (CYP) são as principais responsáveis pela biotransformação das aflatoxinas absorvidas (Fase I). Diversas enzimas CYP têm sido reportadas como envolvidas na biotransformação da AFB₁ em 8,9-epóxido (AFBO). O AFBO é uma mistura de estereoisômeros AFB₁-endo-8,9-epóxido (AFBO-endo) e AFB₁-exo-8,9-epóxido (AFBO-exo), sendo que apenas o último é um metabólito genotóxico. Apesar de AFBO-exo ter a meia-vida curta, são obtidos elevados rendimentos de adutos de DNA (10). A AFBO-exo pode ser covalentemente ligada ao DNA, formando os adutos AFB₁-N⁷-guanina (AFB₁-N⁷-gua). A formação da AFB₁-N⁷-gua ocorre pela ligação do AFBO-exo com guaninas da molécula de DNA, na posição N⁷, ao nível do códon 249 do gene supressor de tumores p53. Esta ligação modifica a estrutura do DNA e, conseqüentemente, a sua atividade biológica, originando os mecanismos básicos de efeitos mutagênicos e carcinogênicos da AFB₁. Esses adutos formados na molécula de DNA podem ser retirados da molécula após a sua formação, deixando sítios apurínicos na molécula de DNA, que tendem a ser preenchidos com adenina, resultando em transversão de guanina para timina, que promove a substituição de uma arginina por uma serina no produto proteico, um importante ponto de mutação (11).

A albumina é a única proteína plasmática identificada capaz de formar um aduto derivado da AFB₁ – a AFB₁-lisina (AFB₁-lys). Estes adutos de albumina podem ser formados a partir tanto do AFBO-exo quanto do AFBO-endo, ou ainda a partir de um produto de hidrólise do AFBO-exo – o dihidrodiol – que é instável e sofre rearranjo catalisado por base para um dialdeído reativo (10).

A AFB₁ também pode ser metabolizada a vários outros compostos como as aflatoxinas M₁ (AFM₁), Q₁ (AFQ₁), P₁ (AFP₁), B_{2a} (AFB_{2a}) e uma espécie reduzida, o aflatoxicol (AFL). AFM₁ é citotóxica, pode ser ativada para AFM₁-8,9-epóxido e ligar-se ao DNA, sendo excretada na urina na forma de AFM₁ ou AFM₁-N⁷-guanina. AFM₁ possui um potencial carcinogênico de 10% da AFB₁. AFM₁ é excretada pelo leite, urina e fezes (12). A AFQ₁ e AFP₁ são considerados produtos de detoxificação. A AFB_{2a} interfere diretamente na síntese de proteínas, levando a quadros de imunossupressão, interferência na coagulação sanguínea e às demais conseqüências das alterações provocadas por estas falhas no metabolismo (13). A formação de aflatoxicol é mediada por uma redutase citoplasmática, podendo ser reconvertido em AFB₁ pela ação da desidrogenase. Assim, este metabólito é considerado como um reservatório de AFB₁ em alguns organismos. O aflatoxicol apresenta cerca de 20% do potencial de mutagenicidade da AFB₁ (14). As reações de Fase II são limitadas a conjugação do AFBO-exo com glutathione (GSH) catalisada pela enzima glutathione S-transferase (GST). Uma via alternativa para a desintoxicação AFBO é a sua hidrólise enzimática espontânea ou por uma enzima conhecida como epóxido microsomal (mEH), obtendo-se AFB₁-dihidrodiol, um metabólito menos tóxico (15).

Em suínos, apenas cerca de 4% da dose de AFB₁ marcada (14C) recuperada nas fezes e na urina se encontravam nas formas de AFB₁ inalterada e AFM₁, com alguns traços de aflatoxicol. No plasma, a maior parte da radioatividade encontrada estava ligada às proteínas, com meia-vida biológica de aproximadamente 6 dias. Análises teciduais demonstraram que as atividades mais elevadas de AFB₁ marcada foram nos dias 1 e 2 pós-exposição no fígado, no rim e pulmão (16).

Efeitos tóxicos das aflatoxinas em suínos

A toxicidade das aflatoxinas está relacionada com a sua biotransformação pelo organismo tornando-as mais hidrofílicas a fim de que sejam excretadas facilmente. Assim, a AFB₁ é considerada um pró-carcinógeno que requer uma ativação metabólica para manifestar seus efeitos tóxicos (17). Para muitas espécies os machos são mais susceptíveis do que as fêmeas e, em geral, a sensibilidade é acentuadamente maior nos jovens do que nos adultos (18). A intoxicação aguda por AFB₁ caracteriza-se pela rápida deterioração do estado geral do animal, perda de apetite, hepatite aguda, icterícia, hemorragias e morte. O fígado apresenta lesões decorrentes de necrose hemorrágica, congestão centrolobular, proliferação das células dos ductos biliares e infiltração gordurosa dos hepatócitos (18,19).

Os efeitos de toxicidade crônica são relacionados à genotoxicidade, lesões hepáticas (em menor escala quando comparadas à intoxicação aguda) e a diminuição do desempenho (consumo de ração e ganho de peso) (20). A disfunção hepática é observada principalmente pelas alterações nos níveis séricos de aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (ALP), gama glutamiltransferase (GGT), albumina e proteína. Marin et al. (21) avaliaram o efeito da exposição de leitões desmamados à baixas doses de AF (140 e 280 ppb) por 4 semanas, sobre parâmetros hematológicos e imunológicos. O número total de leucócitos diminuiu em baixa dose de AF (140 ppb), enquanto que em dose elevada (280 ppb) teve o efeito oposto.

Consumo de AF também elevou a concentração de γ -globulina. A expressão de mRNA de citocinas em células sanguíneas indicou que a AF diminuiu a expressão de IL-1 β e TNF- α , e aumentou de IL-10, indicando que baixas doses de AF alteram vários aspectos da imunidade humoral e celular em suínos. Meissonier et al. (22) compararam a exposição subcrônica à AFB₁ sobre as enzimas CYP e GST hepáticas em suínos expostos à 385, 867 ou 1807 ppb por 4 semanas. Os animais expostos à dose mais elevada de toxina desenvolveram sinais clínicos de aflatoxicose, como a fibrose hepática, aumento nos valores de ALP e GGT, e diminuição nos valores de proteína e albumina plasmáticas, e no ganho de peso. Este grupo tinha níveis hepáticos significativamente mais baixos de CYP e expressão proteica de CYP1A e CYP3A. Os animais expostos à 867 ppb apresentaram alterações hepáticas degenerativas moderadas, sem disfunção hepática, mas um padrão semelhante de atividade hepática de enzimas CYP sem alteração na expressão CYP3A. Os animais expostos a 385 ppb de AFB₁ apresentaram parâmetros semelhantes aos animais controle. Não foram observadas diferenças na atividade da GST entre os grupos experimentais. Assim, a exposição dietética subcrônica a baixos níveis de AFB₁ não pode ser associada com sinais clínicos.

FUMONISINAS

Fusarium verticillioides (anteriormente *F. moniliforme*) é um dos fungos mais prevalentes associados à contaminação de milho em todo o mundo. Em 1970, esta linhagem foi isolada a partir de um lote de milho embolorado e acreditava-se ser o agente causador de um surto de uma doença denominada leucoencefalomalácia equina no Sul da África e do edema pulmonar suíno (23,24). Posteriormente, o fungo foi extensivamente estudado, e, em 1988, as micotoxinas nomeadas fumonisinas foram isoladas em primeiro lugar a partir de culturas de *F. verticillioides* linhagem MRC 826. No mesmo ano, as estruturas químicas das fumonisinas também foram classificadas (25). Além *F. verticillioides*, que é a principal espécie produtora de fumonisinas, estas micotoxinas também podem ser produzidas por *F. proliferatum*, *F. anthophilum*, *F. dlamini*, *F. napiforme* e *Alternaria alternata* (26,27). Pelo menos 15 diferentes estruturas moleculares designadas pelo termo fumonisinas foram agrupadas em quatro principais categorias (A, B, C e P), porém a toxina predominante produzida por linhagens de *F. verticillioides* é a fumonisina B₁ (FB₁). Em condições naturais, foram detectadas a produção apenas de FB₁, fumonisina B₂ (FB₂) e fumonisina B₃ (FB₃) (27). A FB₁ é a mais estudada e

possui fórmula empírica $C_{34}H_{59}NO_{15}$ composta por um diéster propano 1,2,3 – ácido tricarbálico e 2-amino-12,16 dimetil-3,5,10,14,15-pentahidroxicosano em que nos C14 e C15 são esterificados com o grupo carboxiterminal de propano 1,2,3-ácido tricarbálico (28,29). Uma vez que as estruturas moleculares de FB₂ e FB₃ são quase idênticas a FB₁, tem sido afirmado que a toxicidade destes compostos pode ser equivalente ao da FB₁ (Figura 2) (25).

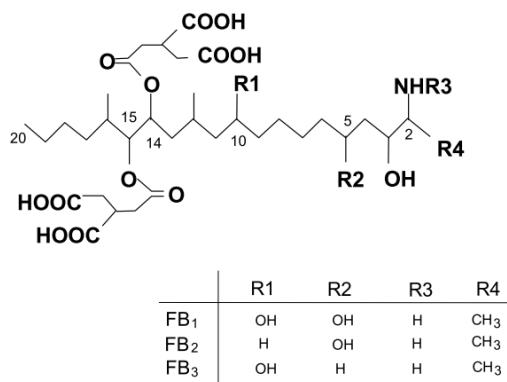


Figura 2. Estrutura molecular da fumonisina B1, B2 e B3.

Em contrapartida, os níveis de FB₂ e FB₃ comumente encontrados em alimentos são normalmente muito baixos (28). As moléculas pertencentes ao grupo fumonisina B (FB₁, FB₂, FB₃), consistem de uma cadeia longa de hidrocarbonetos hidroxilados para que o ácido tricarbálico, metilo e amino sejam adicionados.

Demonstrou-se que o grupo amino primário das fumonisinas é necessário para a atividade biológica de seus metabólitos, como a acetilação da FB₁ para inibir a enzima ceramida sintase. Além disso, FB₁ hidrolisada, a qual produz o ácido tricarbálico e o aminopentol (AP-1) de FB₁, representa 30-40% mais potente que FB₁ intacta, destacando a importância das cadeias da molécula do ácido tricarbálico. O aminopentol de FB₁ (AP-1) é um inibidor e substrato para a enzima ceramida sintase, sendo a molécula resultante, N-palmitoil-AP-1 (PAP-1) um potente inibidor da enzima e dez vezes mais tóxica do que a FB₁ intacta ou o metabólito AP-1 (29,30).

Mecanismo de ação das fumonisinas

As fumonisinas são estruturalmente similares aos esfingolípídeos de membrana, os quais são importantes para a manutenção celular atuando como precursores de mensageiros secundários. Estes precursores modulam as respostas celulares aos fatores de crescimento e ativam uma cascata de enzimas que hidrolisam a esfingomielina em ceramida (esfingomielinases), ceramida em esfingosina 1-fosfato (esfingosina quinase) (30).

O mecanismo de ação das fumonisinas ainda não está completamente elucidado, o qual envolve muitos eventos bioquímicos. Contudo, Wang et al. (30) propuseram que a FB₁ poderia intervir na biossíntese de esfingolípídeos ou na síntese “*de novo*” de esfingosina (Sa), devido a similaridade da molécula da cadeia longa encontrados nos esfingolípídeos de várias espécies. O sítio específico de ação de FB₁ parece ser a inibição da enzima esfingosina N-acetiltransferase (ceramida sintase). A inibição desta via metabólica resulta na depleção do complexo esfingolípídeo induzindo o aumento intracelular da concentração de Sa livre, ou, em menor grau, de esfingosina (So) livre levando a um aumento dos produtos de clivagem. O acúmulo de esfingosina livre, um composto altamente ativo, inicia uma cascata de alterações celulares que provavelmente é responsável pela causa primária da toxicidade da FB₁ (31).

Efeitos da fumonisina B₁ em suínos

Estudos de toxicocinética indicam que a FB₁ apresenta uma meia-vida muito curta em diferentes espécies de animais e conseqüentemente, baixa biodisponibilidade (28). A reduzida biodisponibilidade da FB₁ deve-se, sobretudo, à sua fraca absorção (devido a sua hidrossolubilidade) e também à rápida eliminação pelo efeito de primeira passagem no fígado. Dentre os animais de produção, os suínos são os animais mais sensíveis às fumonisinas, sendo acometidos em níveis a partir de 0,2 mg FB₁/kg corporal/dia (31).

O consumo de milho rico em FB₁ induz ao aumento da expressão de proteínas citoprotetoras do trato gastrointestinal de suínos, especificamente na região do cólon (32). Do mesmo modo, outros efeitos biológicos da FB₁, como alterações hepáticas, podem ser mensurados pelo aumento da atividade enzimática da fosfatase alcalina (ALP), sorbitol desidrogenase, aspartato aminotransferase (AST) e gama glutamiltransferase (GGT). As concentrações de colesterol sérico e ácidos biliares também apresentam elevações significantes, após a ingestão de rações contaminadas (33,34). Estudos sugerem que o intestino é também um órgão-alvo para as fumonisinas (35,36). Ambos os trabalhos encontraram um aumento da relação Sa/So em soro de suínos alimentados com FB₁ em concentrações ≥ 5 mg/kg. Este aumento na proporção Sa/So é considerado um biomarcador dose-dependente da exposição à fumonisina (25).

Os dados sobre o efeito das fumonisinas no desempenho animal descrevem que em níveis abaixo de 100 mg/kg na ração, o desempenho de suínos é pouco ou não alterado, enquanto que a ingestão de níveis mais elevados de FB₁ prejudica consideravelmente o desempenho. Esta redução no desempenho geralmente é observada em suínos que apresentam sintomas de intoxicação ou lesões teciduais (33,36). Embora as concentrações mais baixas de FB₁ não afetem o desempenho animal, demonstrou-se que ingestão de 6,5-13 mg/kg de FB₁ induz o aumento da colonização intestinal por patógenos como a *Escherichia coli*, além de modular negativamente a expressão gênica de mediadores imunológicos (35,36).

O principal sintoma da toxicidade das fumonisinas em suínos foi denominado de edema pulmonar suíno (EPS) (24) após a eclosão de uma doença fatal em animais que consumiram milho contaminado com *F. verticillioides* provenientes da safra de grãos de 1989 em Iowa, Illinois e Georgia, nos Estados Unidos (23). Demonstrou-se nestes estudos, que a patogênese do edema pulmonar ou hidrotórax é decorrente da intoxicação aguda por FB₁. A patogênese do edema pulmonar deve-se a danos no endotélio pulmonar, no epitélio alveolar e falência cardíaca, levando a óbito dentro de 4-7 dias de ingestão diária de fumonisinas em concentrações maiores ou iguais a 92 µg/g ou 6 mg/kg de peso corporal/dia. O mecanismo de indução do edema pulmonar por fumonisinas em suínos é atribuído a uma disfunção induzida no ventrículo esquerdo do coração ou, de modo diverso, devido ao aumento da permeabilidade vascular dos pulmões. Porém, o mecanismo está relacionado ao bloqueio da disponibilidade de íons Ca₂₊+ tipo-L, mediado pelo esfingolípídeo denominado esfingosina, que foi alterada pelas fumonisinas. A ingestão de milho com fumonisinas em altas concentrações (112-400 mg/kg) provocou a morte de suínos por edema pulmonar agudo (24).

ZEARALENONA

Existem poucos registros sobre surtos com origem em contaminações com zearalenona. Em 1978 e 1981 em Porto Rico, e em 1997 no sudeste da Hungria, esta toxina foi considerada como agente causador de puberdade precoce em meninas (37). Inicialmente conhecida como toxina F-2, a zearalenona (ZEA) [6-(10-hidroxi-6-oxo-trans-1-undecenil)] é uma lactona do ácido beta-resorcílico, produzida por várias espécies de *Fusarium*, principalmente *Fusarium graminearum*, mas também por *F. culmorum*, *F. cerealis*, *F. equiseti* e *F. incarnatum*. Geralmente, estas espécies de *Fusarium* são encontradas como contaminantes de milho, cevada,

aveia, trigo, sorgo e arroz (38,39), porém a sua presença também foi detectada em produtos de cereais como farinha, malte, soja e cerveja. A produção desta toxina ocorre predominantemente antes da colheita, mas pode ocorrer pós-colheita caso não seja tratada e seca corretamente (40). Além de ZEA, estas espécies de fungos acima descritas, podem produzir pequenas quantidades de metabólitos, sendo os derivados mais importantes o α -zearalenol (α -ZOL) e β -zearalenol (β -ZOL) (41).

Tanto a ZEA como seus metabólitos são compostos estrogênicos associados aos distúrbios reprodutivos de animais de produção (40). Contudo, o potencial estrogênico de α -zearalenol é maior do que a da ZEA intacta e do metabólito β -zearalenol, provavelmente devido a uma maior afinidade de ligação aos receptores de estrogênio (39,41). ZEA é estável ao calor de até 150 °C, e sua degradação foi observada apenas a altas temperaturas ou em condições alcalinas (42).

Mecanismo de ação da zearalenona

Após a ingestão, a ZEA é rapidamente absorvida (absorção 80-85%) e, assim como seus derivados, podem ser detectados na circulação cerca de 30 minutos após a sua ligação aos hormônios reprodutivos. As vias metabólicas e o padrão de ingestão da zearalenona explicam as diferenças no mecanismo de ação nas diferentes espécies animais (38). Duas vias principais de biotransformação são sugeridas: i) hidroxilação pelo 3α - e 3β - hidroxisteroide dehidrogenase [$3\alpha(\beta)$ -HSD] originando α -zearalenol (α -ZOL) e β -zearalenol (β -ZOL); ii) Conjugação de zearalenona e seus derivados com ácido glucurônico catalizado pela uridina difosfato glucuronil transferase, sendo o fígado o principal órgão onde ocorre a biotransformação (Figura 3) (43).

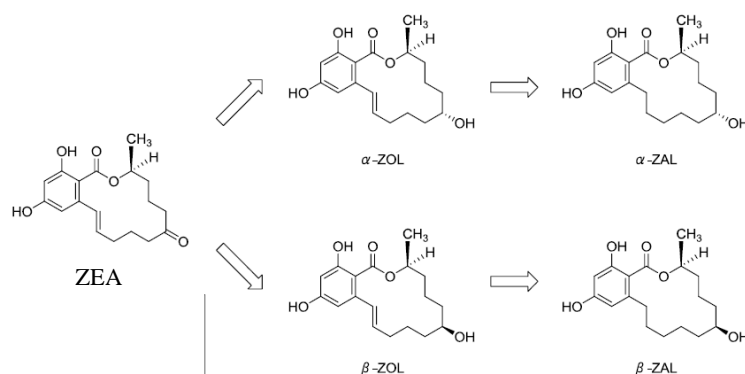


Figura 3. Metabolismo da zearalenona.

Em estudos realizados com suínos foram demonstrados uma alta atividade de conjugação glucurônica da mucosa intestinal comparada aos níveis de redução, sugerindo que a redução em metabólito zearalenol é antecedida pela conjugação, excreção biliar, reabsorção e redução (principalmente em α -ZOL) pela mucosa intestinal e finalmente a entrada pela circulação via sistema porta pelo fígado (39). Segundo Minervini *et al.* (38), o ciclo entero-hepático prolonga a retenção da zearalenona e seus derivados na circulação, retardando sua eliminação e aumentando a duração de seus efeitos adversos. Zearalenona e seus metabólitos ligam-se competitivamente aos receptores de estrogênio. Assim, a toxicidade está associada com distúrbios reprodutivos dependendo da espécie animal e, eventualmente, em seres humanos (41). Além da afinidade da zearalenona e seus metabólitos aos receptores de estrógeno, sua biotransformação em α -ZOL e β -ZOL tem semelhanças aos processos do metabolismo dos esteróides sendo por isso também substrato da $3\alpha(\beta)$ -HSD presente em muitos tecidos como fígado, rins, testículos, próstata, hipotálamo, hipófise, ovário e intestino.

A conversão de testosterona e de progesterona por esses tecidos é um processo importante do mecanismo de modulação das gonadotrofinas e do comportamento sexual. Ao inibir competitivamente a redução desses hormônios, a zearalenona pode causar o acúmulo de compostos ativos com efeitos na reprodução, devido à afinidade aos receptores de estrógenos. No organismo animal, a degradação da zearalenona gera diversos metabólitos com maior ou menor estrogenicidade (38). A zearalenona e seus derivados competem efetivamente com o 17β -estradiol (E_2) por receptores específicos (α - e β -) em diferentes órgãos. Uma vez ligados aos receptores, a zearalenona e seus derivados iniciam uma sequência de eventos estimulados pelo estradiol em órgãos-alvo. A ligação da zearalenona aos receptores em tecidos alvo é < 1-10% comparada a de E_2 , enquanto que a ligação do α -ZOL é maior e do β -ZOL é bem menor. No útero, o receptor citoplasmático é translocado para o núcleo, com efeito mais prolongado comparado a E_2 , induzindo eventos típicos de resposta antecipada a estrógeno como a síntese de RNA e aumento da atividade de RNA polimerase e síntese da proteína induzida pelo estrógeno e proliferação do endométrio (41).

Efeitos tóxicos da zearalenona em suínos

Em animais, os efeitos tóxicos da exposição prolongada com uma dieta contaminada com ZEA, incluem carcinogenicidade, genotoxicidade, toxicidade reprodutiva, efeitos endócrinos e imunotoxicidade, sendo os suínos pré-puberais um dos animais mais susceptíveis, com valores de 40 mg/kg de peso corporal/dia, em comparação a 100 mg/kg de peso corporal/dia em ratos. Assim, durante a gestação, as fêmeas contaminadas com ZEA apresentam redução da sobrevivência embrionária e fetal, apresentaram dilatação vulvar e vermelhidão, vulvovaginite, pseudogestação, retenção ou ausência de leite e prolapso retal. Nos machos, ZEA pode diminuir os níveis de testosterona, diminuição do peso dos testículos e espermatogênese, induzir a feminização e apresentar redução da libido (39).

Em estudos *in vitro*, Zhu et al. (44) relataram que ZEA em altas concentrações (30-120 mM), diminui a proliferação de células granulosas de suínos, induzindo apoptose e necrose de modo dose-dependente. Adicionalmente, a ZEA induziu a perda do potencial mitocondrial de células da granulosa de suínos, aumentando os níveis de espécies reativas de oxigênio das células via caspase-3. Assim, estas evidências sugerem que ZEA ou seus metabólitos, α -ZOL e β -ZOL, podem induzir atresia nos folículos ovarianos de suínos. Os efeitos dependem da dose consumida e da fase do ciclo estral ou de gestação em que ocorre o consumo de rações contaminadas com ZEA. A síndrome estrogênica em marrãs mais sensíveis que ingeriram entre 1-5 mg/kg da micotoxina, afeta primariamente o trato reprodutivo e a glândula mamária (39).

Em um estudo com leitoas pré-púberes alimentadas com 2 mg/kg de zearalenona durante 28 dias, Andretta et al. (45) observaram aumento significativo do tamanho e peso do trato reprodutivo, em particular da vulva. Em leitoas imaturas, a dose de 200 μ g/kg de peso corporal induziu o desenvolvimento e maturação de folículos ovarianos pela ativação de um processo similar a apoptose na camada granulosa (44). Com relação aos oócitos de animais alimentados com ZEA e deoxinivalenol recuperados por ovariectomia, foram reportados folículos com cúmulos compactos e cromatina imatura resultando em maior proporção de oócitos com cromatina degenerada, porém não foi observada alteração na atividade das enzimas envolvidas na síntese de progesterona (46).

A principal causa de esterilidade nestes animais é devida ao mau funcionamento do ovário, morte oocitária e anovulação mesmo com a manifestação do cio. A administração de 1 mg/kg de peso corporal entre 7-10 dias depois da cobertura não interfere na gestação, porém quando administrado entre 2-5 dias leva a mudanças degenerativas no embrião que se evidenciam a partir do 13º dia da gestação (46). Diaz-Llano e Smith (47) observaram aumento da incidência de filhotes mortos de marrãs gestantes alimentadas com grãos naturalmente contaminados com micotoxinas de *Fusarium sp.* Um estudo sobre o efeito da ZEA na

maturação oocitária indicou que a exposição a 3,12 $\mu\text{mol/L}$ afetou a maturação de 34% de oócitos e reduziu a quantidade dos que atingiram a fase de blastocisto para 12% (48).

Em suínos machos expostos a elevados níveis de ZEA foram reportados uma redução de 30% no tamanho dos testículos e na fertilidade. Esta última está relacionada à redução na qualidade e viabilidade espermática, diminuição de níveis de testosterona e libido. Porém, em níveis normalmente presentes em alimentos usados na dieta animal não foram observadas alterações. A exposição de espermatozoides (*in vitro*) a zearalenona e seus derivados resultou em diferentes efeitos de cada composto. O α -ZOL e a zearalenona a níveis de $\mu\text{g/mL}$ influenciaram negativamente a estabilidade da cromatina e a viabilidade espermática respectivamente, enquanto que o β -ZOL a níveis de $\mu\text{g/mL}$ influenciou negativamente a motilidade espermática (41).

OCORRÊNCIA DE MICOTOXINAS EM MILHO NO BRASIL

Embora diversos grãos (como sorgo, trigo e arroz) possam ser utilizados como ingredientes, a dieta de suínos é composta basicamente por milho (até 70% da formulação) e soja (49). Geralmente, o milho é cultivado em áreas de climas tropicais e subtropicais, com temperaturas e umidades variáveis, que favorecem o crescimento e a contaminação por diversos fungos produtores de micotoxinas. Estes eventos podem ocorrer em diversas fases do desenvolvimento, maturação, colheita, transporte, processamento ou armazenamento dos grãos (2).

Dentre os dados disponíveis (a partir do ano 2000) sobre a ocorrência natural de aflatoxinas, fumonisinas e zearalenona, na Tabela 1 estão apresentados alguns estudos realizados em milho e seus derivados no Brasil. Embora os dados reportados sejam amplamente variados, observa-se que tanto a frequência de contaminação, como os níveis encontrados são maiores para FB do que por AF e ZEA. Adicionalmente, não há no Brasil, até o momento, uma legislação estabelecendo limites de tolerância para micotoxinas em matérias primas e rações destinadas à alimentação de suínos ou outras espécies animais.

Tabela 1. Níveis de aflatoxinas, fumonisinas e zearalenona detectados em amostras de milho e derivados no Brasil.

Micotoxina	Estado de origem	Frequência ^a (%)	Concentração (µg/kg) ^b	Referência
Aflatoxinas	Bahia	10,00	1 – 5	50
	Bahia	8,00	13,7 - 47,8	51
	Mato Grosso	18,00	6,8 - 976,1	51
	Rio Grande do Sul	14,00	13,7 - 1393,0	51
	São Paulo	2,00	2,0 - 34,2	51
	Mato Grosso	23,80	1 - 108,7	52
	Paraná	25,67	23,4 - 24,1	53
	Paraná	9,33	35,2 - 40,0	53
	Goiás	100,00	0,7 - 277,8	54
	Diversos	38,00	0,4-139	55
Fumonisinias	Diversos	99,10	200-6.100	55
	Minas Gerais	100,00	230-6.450	56
	São Paulo	>90,00	870-49.310	57
	São Paulo	76,00	100-6.580	58
	Paraná	100,00	32-6.000	59
	Paraná	100,00	50-1.118	59
	Santa Catarina	100,00	20-18.740	60
Zearalenona	Minas Gerais	98,00	1,8-99	56
	Paraná	12,00	nd-9,8	59
		39,00	nd-6,5	59

^a Número de amostras positivas/total de amostras analisadas.

^b Valores se referem às concentrações mínima e máxima.

nd: não detectado.

CONCLUSÃO

O Brasil, devido ao seu clima típico, propicia condições ideais para a proliferação de fungos toxigênicos. Além disso, ainda prevalecem em diversas regiões do País, condições inadequadas de plantio, colheita, secagem, transporte e armazenamento de produtos agrícolas. Deste modo, a adoção de práticas agrícolas que previnam a contaminação e o desenvolvimento de fungos é fundamental para garantir a obtenção de insumos de boa qualidade para a elaboração de rações empregadas na suinocultura. Deve-se ressaltar que medidas que evitem a ocorrência de quadros de intoxicação por micotoxinas em suínos são fundamentais para a qualidade da carne produzida, o que impacta diretamente no lucro dos produtores, e em maior escala, na economia do País. Ainda, são necessários estudos sobre os mecanismos de ação das aflatoxinas, fumonisina e zearalenona em condições de exposição simultânea, mais prováveis de ocorrerem em condições de campo, com a finalidade de desenvolver alternativas efetivas para prevenir seus efeitos tóxicos em criações de suínos no Brasil.

REFERÊNCIAS

1. Diaz DE. The mycotoxin blue book. Nottingham: Nottingham University Press; 2005.

2. Sabino M. Micotoxinas em alimentos. In: Oga S. Fundamentos de toxicologia. São Paulo: Atheneu; 1996. p.461-72.
3. Hussein HS, Brasel JM. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxin on humans and animals. *Toxicology*. 2001;167:101-34.
4. Devreese M, Backer P, Croubels S. Overview of the most important mycotoxins for the pig and poultry husbandry. *Vlaams Diergeneeskd Tijdschr*. 2013;82,171-80.
5. Associação Brasileira de Proteína Animal. Exportação mundial de carne suína em 2014. São Paulo: ABPA; 2015. (Relatório Anual).
6. Wogan GN, Kensler TW, Groopman JD. Present and future directions of translational research on aflatoxin and hepatocellular carcinoma. A review. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2012;29(2):249-57.
7. Jager AV, Ramalho FS, Ramalho LNZ, Oliveira CAF. Biomarkers of aflatoxin exposure and its relationship with the hepatocellular carcinoma. In: Guevara-Gonzalez RG. *Aflatoxins - Biochemistry and molecular biology*. Rijeka: Intech; 2011. p.104-26.
8. Coulombe RA. Aflatoxins. In: Sharma RP, Salunkhe DK. *Mycotoxins and phytoalexins*. Boca Raton: CRC Press; 1991. p.103-43.
9. Kussak A, Andersson B, Anderson K. Immunoaffinity column clean-up for the high – performance liquid chromatographic determination of aflatoxin B1, B2, G1, G2, M1 and Q1 in urine. *J Chromatogr B Biomed Appl*. 1995;672:253-59.
10. Guengerich FP. Cytochrome P450s and other enzymes in drug metabolism and toxicity. *AAPS J*. 2006;8:101-11.
11. Aguillar F, Hussain SP, Cerutti P. Aflatoxin B1 induces the transversion of G-T in códon 249 of the p53 tumor suppressor gene in human hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90:8586-90.
12. Egner PA, Yu X, Johnson JK, Nathasingh CK, Groopman JD, Kensler TW, et al. Identification of aflatoxin M1-N7-guanine in liver and urine of tree shrews and rats following administration of aflatoxin B1. *Chem Res Toxicol*. 2003;16:1174-80.
13. Patterson DSP. Metabolism as a factor in determining the toxic action of the aflatoxins in different animal species. *Food Cosmet Toxicol*. 1973;11:287-94.
14. Lee S, Campbell BC, Molyneux RJ, Hasegawa S, Lee HS. Inhibitory effects of naturally occurring compounds on aflatoxin B1 biotransformation. *J Agric Food Chem*. 2001;49:5171-7.
15. Diaz GJ, Murcia HW. Biotransformation of Aflatoxin B1 and its relationship with the differential toxicological response to aflatoxin in commercial poultry species. In: Guevara-Gonzalez RG. *Aflatoxins - Biochemistry and molecular biology*. Rijeka: InTech; 2011. p.3-20.
16. Luthy J, Zweifel U, Schlatter C. Metabolism and tissue distribution of [C-14-labeled aflatoxin-B1 in pigs. *Food Cosmet Toxicol*. 1980;18:253-6.
17. Rawal S, Kim JE, Coulombe-JR R. Aflatoxin B1 in poultry: toxicology, metabolism and prevention. *Res Vet Sci*. 2010;89:325-31.
18. Leeson S, Diaz GJ, Summers JD. *Poultry metabolic disorders and mycotoxins*. Guelph: University Books; 1995.

19. Osweiler GD. Mycotoxins and livestock: what role do fungal toxins play in illness and production losses? *Vet Med.* 1990;85:89-94.
20. Thieu NQ, Ogle B, Pettersson H. Efficacy of bentonite clay in ameliorating aflatoxicosis in piglets fed aflatoxin contaminated diets. *Trop Anim Health Prod.* 2008;40:649-56.
21. Marin DE, Taranu I, Bunaciu RP, Pascale F, Tudor DS, Avram N, et al. Changes in performance blood parameters , humoral and cellular immune responses in weanling piglets exposed to low doses of aflatoxina. *J Anim Sci.* 2002;80:1250-7.
22. Meissonnier GM, Laffitte J, Loiseau N, Benoit E, Raymond I, Pinton P, et al. Selective impairment of drug-metabolizing enzymes in pig liver during subchronic dietary exposure to aflatoxin B1. *Food Chem Toxicol.* 2007;45:2145-54.
23. Marasas WFO. Discovery and occurrence of the fumonisins: a historical perspective. *Environ Health Perspect.* 2001;109:239-43.
24. Haschek WM, Gumprecht LA, Smith G, Tumbleson ME, Constable PD. Fumonisin toxicosis in swine: an overview of porcine pulmonary edema and current perspectives. *Environ Health Perspect.* 2001;109:251-7.
25. Minami L, Meireles PG, Hirooka EY, Ono EYS. Fumonisin: efeitos toxicológicos, mecanismo de ação e biomarcadores para avaliação da exposição. *Cienc Agrar.* 2004;25:207-24.
26. Chen J, Mirocha CJ, Xie W, Hogge L, Olson D. Production of the mycotoxin fumonisin B1 by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Appl Environ Microbiol.* 1992;58:3928-31.
27. Ah-Seo J, Won Lee Y. Natural occurrence of the C series of fumonisins in moldy corn. *Appl Environ Microbiol.* 1999;65:1331-4.
28. Henry MH, Wyatt RD. A review of fumonisin production by *Fusarium moniliforme* and fumonisin toxicoses in animals. *Appl Poult Res.* 1993;2:188-92.
29. Soriano JM, González L, Catalá AI. Mechanism of action of sphingolipids and their metabolites in the toxicity of fumonisin B1. *Prog Lipid Res.* 2005;44:345-56.
30. Wang E, Norred WP, Bacon CW, Riley RT, Merrill Jr AH. Inhibition of sphingolipids biosynthesis by fumonisins. Implications for diseases associated with *Fusarium moniliforme*. *J Biol Chem.* 1991;266:14486-90.
31. Stockmann-Juvala H, Savolainen KA. A review of the toxic effects and mechanisms of action of fumonisin B1. *Hum Exp Toxicol.* 2008;27:799-809.
32. Lallès JP, Lessard M, Oswald IP, David JC. Consumption of fumonisin B1 for 9 days induces stress proteins along the gastrointestinal tract of pigs. *Toxicol.* 2010;55:244-9.
33. Dilkin P, Direito G, Simas MM, Mallmann CA, Corrêa B. Toxicokinetics and toxicological effects of single oral dose of fumonisin B1 containing *Fusarium verticillioides* culture material in weaned piglets. *Chem Biol Interact.* 2010;3:157-62.
34. Dilkin P, Zorzete P, Mallmann CA, Gomes JD, Utiyama CE, Oetting LL, et al. Toxicological effects of chronic low doses of aflatoxin B1 and fumonisin B1-containing *Fusarium moniliforme* culture material in weaned piglets. *Food Chem Toxicol.* 2003;41:1345-53.
35. Oswald IP, Desautels C, Laffitte J, Fournout S, Peres SY, Odin M, et al. Mycotoxin fumonisin B1 increases intestinal colonization by pathogenic *Escherichia coli* in pigs. *Appl Environ Microbiol.* 2003;69:5870-4.

36. Bouhet S, Le Dorze E, Peres S, Fairbrother JM, Oswald I P. Mycotoxin fumonisin B1 selectively down-regulates the basal IL-8 expression in pig intestine: in vivo and in vitro studies. *Food Chem Toxicol.* 2006;44:1768-73.
37. Santos MC, Sousa RB, Oliveira SEM, Lima KSC, Lima ALS. Micotoxinas e seu potencial como agentes de guerra. *Rev Virtual Quim.* 2014;6:761-78.
38. Minervini F, Dell'Aquila ME. Zearalenone and reproductive function in farm animals. *Int J Mol Sci.* 2008;9:2570-84.
39. Zinedine A, Soriano JM, Moltó JC, Mañes J. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin. *Food Chem Toxicol.* 2007;45:1-18.
40. Richardson KE, Hagler WM, Mirocha CJ. Production of zearalenone, α -zearalenol and β -zearalenol by *Fusarium* spp. in rice culture. *J Agric Food Chem.* 1985;33:862-6.
41. Fitzpatrick D, Picken CA, Murphy LC, Buhr MM. Measurement of the relative binding-affinity of zearalenone, alpha-zearalenol and beta-zearalenol for uterine and oviduct estrogen-receptors in swine, rats and chickens: an indicator of estrogenic potencies. *Comp Biochem Physiol.* 1989;94:691-4.
42. Ryu D, Hanna MA, Bullerman LB. Stability of zearalenone during extrusion of corn grits. *J Food Prot.* 1999;62:1482-4.
43. Mizutani K, Nagatomi Y, Mochizuki N. Metabolism of zearalenone in the course of beer fermentation. *Toxins.* 2011;3:134-41.
44. Zhu L, Yuan H, Guo C, Lu Y, Deng S, Yang Y, et al. Zearalenone induces apoptosis and necrosis in porcine granulosa cells via a caspase-3- and caspase-9 dependent mitochondrial signaling pathway. *J Cell Physiol.* 2012;227:1814-20.
45. Andretta I, Lovatto PA, Hauschild L, Dilkin P, Garcia GG, Lanferdini E, et al. Feeding of pre-pubertal gilts with diets containing zearalenone. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2008;60:1227-33.
46. Malekinejad H, Schoevers EJ, Daemen IJ, Zijlstra C, Colenbrander B, Fink-Gremmels J, et al. Exposure of oocytes to the *Fusarium* toxins zearalenone and deoxynivalenol causes aneuploidy and abnormal embryo development in pigs. *Biol Reprod.* 2007;77:840-7.
47. Diaz-llano G, Smith TK. Effects of feeding grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins with and without a polymeric glucomannan mycotoxin adsorbent on reproductive performance and serum chemistry of pregnant gilts. *J Anim Sci.* 2006;84:2361-6.
48. Alm H, Brüssow KP, Torner H, Vanselow J, Tomek W, Dänicke S, et al. Influence of *Fusarium*-toxin contaminated feed on initial quality and meiotic competence of gilt oocytes. *Reprod Toxicol.* 2006;22:44-50.
49. Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3a ed. Viçosa: UFV; 2011.
50. Almeida AVAF, Botura MB, Abreu RD, Bittencourt TCC, Batatinha MJM. Ocorrência de aflatoxinas em milho destinado à alimentação de aves no estado da Bahia. *Arq Inst Biol.* 2009;76:353-8.

51. Rocha LO, Nakai VK, Braghini R, Reis TA, Kobashigawa E, Corrêa B. Mycoflora and co-occurrence of fumonisins and aflatoxins in freshly harvested corn in different regions of Brazil. *Int J Mol Sci.* 2009;10:5090-103.
52. Bento LF, Caneppele MAB, Albuquerque MCF, Kobayashi L, Caneppele C, Andrade PJ, et al. Ocorrência de fungos e aflatoxinas em grãos de milho. *Rev Inst Adolfo Lutz.* 2012;71:44-9.
53. Moreno EC, Garcia GT, Ono MA, Vizoni E, Kawamura O, Hirooka EY, et al. Co-occurrence of mycotoxins in corn samples from the northern region of Paraná State, Brazil. *Food Chem.* 2009;116:220-6.
54. Ramos ATM. Levantamento da microflora de grãos ardidos de milho e avaliação da resistência genética à *Fusarium verticillioides* [dissertação]. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz; 2008.
55. Vargas EA, Preis RA, Castro L, Silva CMG. Co-occurrence of aflatoxins B1, B2, G1, G2, zearalenone and fumonisin B1 in Brazilian corn. *Food Addit Contam.* 2001;18:981-6.
56. Queiroz VAV, Alves GLO, Conceição RRP, Guimarães LJM, Mendes SM, Ribeiro PEA, et al. Occurrence of fumonisins and zearalenone in maize stored in family farm in Minas Gerais, Brazil. *Food Control.* 2012;28:83-6.
57. Orsi RB, Corrêa B, Pozzi CR, Schammas EA, Nogueira JR, Dias SMC, et al. Mycoflora and occurrence of fumonisins in freshly harvested and stored hybrid maize. *J Stored Prod Res.* 2000;36:75-87.
58. Camargos SM, Soares LMV, Sawazaki E, Bolonhezi D, Castro JL, Bortolletto N. Fumonisin in corn cultivars in the State of São Paulo. *Braz J Microbiol.* 2000;31:225-9.
59. Souza MLM, Sulyok M, Freitas-Silva O, Costa SS, Brabet C, Machinski Junior M, et al. Cooccurrence of mycotoxins in maize and poultry feeds from Brazil by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Sci World J.* 2013:1-9.
60. Van Der Westhuizen L, Shephard GS, Scussel VM, Costa LLF, Vismer HF, Rheeder JP, et al. Fumonisin contamination and *Fusarium* incidence in corn from Santa Catarina, Brazil. *J Agric Food Chem.* 2003;51:5574-8.

Recebido em: 29/06/2016

Aceito em: 11/08/2017

TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL METASTÁTICO EM CANINO – RELATO DE CASO

Lylian Karlla Gomes de Medeiros¹
Fabrício Kleber Lucena Carvalho
Aline Sousa Alves
Meire Maria Silva Macedo
Rodrigo Souza Mendes
Almir Pereira de Souza

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo relatar um caso de Tumor Venéreo Transmissível (TVT) metastático diagnosticado em um cão macho, raça pinscher, de 7 anos, atendido no Hospital Veterinário da Universidade de Campina Grande. O animal apresentava linfadenomegalia de mandibulares, axilares, cervicais e inguinais, bem como ulceração dos linfonodos cervical direito e inguinal esquerdo. Alterações genitais não foram observadas. O exame citológico foi positivo para TVT. A associação dos sinais clínicos, histórico e citologia positiva permitiram o estabelecimento do diagnóstico de TVT metastático. O tratamento realizado foi a quimioterapia com sulfato de vincristina na dose de 0,025mg/kg com intervalo de 7 dias e, após cinco aplicações, o animal apresentou aparente cura.

Palavras-chave: citologia, linfonodos, metástase, sulfato de vincristina, TVT.

TRANSMISSIBLE VENEREAL TUMOR METASTATIC CANINE - CASE REPORT

ABSTRACT

The present study aims to report a case of metastatic transmissible venereal tumor (TVT) diagnosed in a 7-year-old male dog, pinscher, at the Veterinary Hospital of the University of Campina Grande. The animal had lymphadenomegaly of the mandibular, axillary, cervical and inguinal regions, as well as ulceration of the right cervical and left inguinal lymph nodes. Genital changes were not observed. The cytological examination was positive for TVT. The association of clinical signs, history and positive cytology allowed the diagnosis of metastatic VTT to be established. The treatment was chemotherapy with vincristine sulfate at the dose of 0.025mg / kg with interval of 7 days and, after five applications, the animal presented an apparent cure.

Keywords: cytology, lymphnode, metastasis, vincristine sulfate, TVT.

TUMOR VENÉREO TRANSMISIBLE METASTÁSICO EN CANINO - INFORME DE CASO

RESUMEN

Este estudio tiene por objeto informar de un caso de tumor venéreo transmisibile metastásico (TVT) diagnosticado en un perro macho, raza pinscher, de 7 años, el Hospital Veterinario de la Universidad de Campina Grande. El animal tenía linfadenopatía mandibular, axilar, cervical y inguinal y ulceración de los ganglios linfáticos cervicales inguinal derecha y izquierda. No se observaron cambios genitales. El examen citológico fue positivo para TVT. La asociación de

¹ Universidade Federal de Campina Grande. Contato principal para correspondência.

los signos clínicos, la historia y la citología positiva permitió el establecimiento de diagnóstico de TVT metastático. El tratamiento fue la quimioterapia con sulfato de vincristina en una dosis de 0,025mg / kg con intervalos de 7 días y después de cinco aplicaciones, el animal mostró aparente cura.

Palabras clave: citología, metástasis en los ganglios linfáticos, el sulfato de vincristina, TVT.

INTRODUÇÃO

O Tumor Venéreo Transmissível (TVT) é uma neoplasia que acomete animais da espécie canina de ambos os sexos (1). Pode ocorrer nas regiões genitais e extragenitais, existindo a possibilidade de metástase (2). A transmissão ocorre durante o contato sexual (3), bem como por brigas ou interações entre animais portadores e susceptíveis (4).

Esta neoplasia é um tumor de células redondas (5). Deve ser diferenciada de tumores como mastocitoma, histiocitoma, linfoma e lesões granulomatosas não neoplásicas (6,7).

O diagnóstico é obtido pela associação da anamnese, achados clínicos e citológicos ou histopatológicos. Tratamentos diversos podem ser aplicados, sendo que os principais são a remoção cirúrgica, a radioterapia, a quimioterapia, a imunoterapia e a bioterapia (8).

O sulfato de vincristina apresenta grande eficácia na redução e cura do TVT (3). A remissão completa do tumor com a utilização do sulfato de vincristina ocorre em mais de 90% dos animais (7). Este trabalho tem por objetivo relatar o caso de um cão com TVT metastático, atendido na Universidade Federal de Campina Grande.

RELATO DO CASO

Um cão da raça Pinscher, macho, com 7 anos de idade, foi atendido no HOVET/UFCG apresentando, como sinal principal, a presença de nodulações subcutâneas cervicais, membros torácicos e pélvicos, bem como inapetência. Pelo histórico clínico, o animal já havia apresentado TVT há cerca de 1 ano e 5 meses, onde foi realizado tratamento com sulfato de vincristina e, após 4 aplicações, aparentemente havia tido regressão total do tumor.

Ao exame físico, observou-se um animal ativo, com mucosas oculares pálidas e linfadenomegalia de mandibulares, axilares, cervicais e inguinais. Os linfonodos cervical direito e inguinal esquerdo apresentavam-se ulcerados (Figura 1A). Alterações na mucosa peniana não foram observadas. O hemograma revelou anemia normocítica normocrômica, trombocitopenia e panleucopenia. Na radiografia torácica, não foram observadas anormalidades. No exame citológico, observou-se a presença de células tumorais redondas, com núcleo grande e central, nucléolo excêntrico e proeminente; e citoplasma das células neoplásicas, com múltiplos e distintos vacúolos, frequentemente dispostos em cadeias, indicando positividade para TVT (Figura 1B).

A associação da localização extragenital, bem como, a história pregressa de TVT genital, permitiram o estabelecimento do diagnóstico de TVT metastático. O tratamento realizado foi a quimioterapia com sulfato de vincristina 0,025mg/Kg por via intravenosa, a cada 7 dias. Após a primeira aplicação, observou-se redução significativa dos linfonodos, entretanto, apenas após a quinta aplicação houve regressão total, bem como negatividade no exame citológico. Durante a quimioterapia, houve redução significativa das plaquetas, mas os valores tornaram-se normais após 2 meses do término do tratamento.

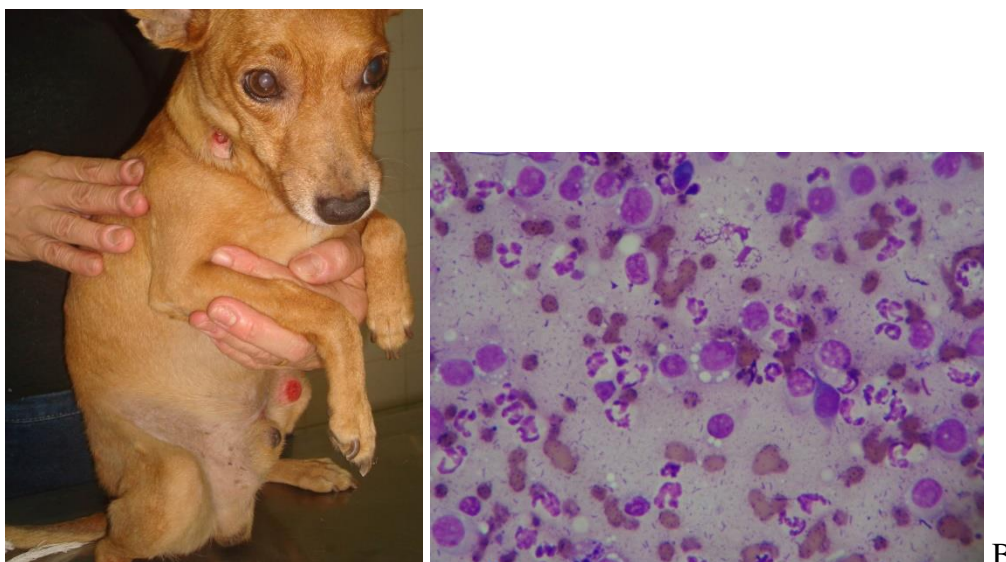


Figura 1. Aspecto Macroscópico do Tumor Venéreo Transmissível Metastático em um cão (A). Observa-se ulceração nos linfonodos cervical direito e inguinal esquerdo. Células tumorais redondas presentes no TVT metastático de um cão (B).

DISCUSSÃO

O tumor venéreo transmissível acomete principalmente a mucosa genital externa, sendo encontrado com menor frequência em outros órgãos. Kilder (9) observou um tumor venéreo transmissível em um cão com localização primária e única na cavidade oral. Um caso de TVT nasal em um cão com epistaxe bilateral, ronco e dispneia inspiratória também foi descrito (2)

Este relato demonstra a capacidade de metástase do TVT, que, de acordo com Santos et al. (6), possui ocorrência rara. Segundo Pereira et al. (10), a ocorrência de metástase está relacionada à permanência do tumor por tempo prolongado. No presente caso, havia a ocorrência de TVT genital 1 ano e 5 meses antes dessa recidiva em linfonodos, indicando que o mesmo pode ter permanecido com células tumorais durante todo esse tempo, até a manifestação nos linfonodos. Esse acontecimento mostra a importância da certeza da cura do paciente antes da interrupção do tratamento.

O diagnóstico definitivo foi obtido por exame citológico. Amaral et al. (11) afirmam que o exame citológico é um método rápido, confiável e de baixo custo para o diagnóstico de TVT.

Mostachio et al. (8) afirmam que o tratamento cirúrgico pode ser realizado no caso de lesões pequenas e localizadas, entretanto, devido às várias localizações do tumor no animal deste relato, esta conduta tornar-se-ia inviável. O tratamento de escolha foi o uso do quimioterápico sulfato de vincristina, com o que se obteve regressão eficaz do tumor em todas as regiões acometidas. Foi observada redução significativa no número de plaquetas que, de acordo com Santos et al. (6), ocorreu devido à supressão da medula óssea causada pela administração do fármaco.

Pode-se concluir que o TVT metastático é raro e está associado à permanência por tempo prolongado no animal, indicando a necessidade da certeza da cura antes da interrupção do tratamento. O exame citológico é fundamental para o diagnóstico de TVT. A quimioterapia com sulfato de vincristina por um tempo adequado, mostrou-se muito eficaz para a regressão do tumor.

REFERÊNCIAS

1. Florentino KC, Nicacio FD, Batista JC, Costa JLO, Bissoli EDG. Tumor venéreo transmissível cutâneo canino: relato de caso. *Rev Cient Eletronica Med Vet.* 2007;9:1-6.
2. Rocha TMM, Terres MF, Sotello A, Kozemjakin D, Malucelli L, Maia R. Tumor venéreo transmissível nasal em um cão. *Rev Acad Cienc Agrar Ambient.* 2008;6:349-53.
3. Silva MCV, Barbosa RR, Santos RC, Chagas RSN, Costa WP. Avaliação epidemiológica, diagnóstica e terapêutica do Tumor Venéreo Transmissível (TVT) a população canina atendida no Hospital Veterinário da Ufersa. *Acta Vet Bras.* 2007;1:28-32.
4. Rodrigues GN, Alessi AC, Laus JL. Intraocular transmissible venereal tumor in a dog. *Cienc Rural.* 2001;31:141-3.
5. Cruz GD, Santos CF, Santos CR, Ruschi CS, Elias T, Xavier JG, et al. Metástase visceral de Tumor Venéreo Transmissível em cão. *Vet Zootec.* 2009;16:465-70.
6. Santos DE, Silva DT, Toledo-Pinto EA, Lot RFE. Tumor Venéreo Transmissível (TVT): revisão de literatura. *Rev Cient Eletronica Med Vet.* 2008;10:1-5.
7. Nelson RW, Couto CG. *Medicina interna de pequenos animais.* Rio de Janeiro: Elsevier; 2010.
8. Mostachio GQ, Pires-Buttler EA, Apparício M, Cardilli DJ, Vicente WRR, Toniollo GH. Tumor Venéreo Transmissível (TVT) canino no útero: relato de caso. *Ars Vet.* 2007;23:71-4.
9. Kilder DF. Tumor venéreo transmissível canino com localização primária e única em cavidade oral. *Acta Sci Vet.* 2010;38:91-4.
10. Pereira JS, Silva AB, Martins AL, Ferreira AM, Brooks DE. Immunohistochemical characterization of intraocular metastasis of a canine transmissible venereal tumor. *Vet Ophthalmol.* 2000;3:43-7.
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.

Recebido em: 30/10/2016

Aceito em: 27/07/2017

SEPSIS IN A DOG WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE SUBMITTED TO PERITONEAL DIALYSIS

Silvano Salgueiro Geraldês¹
José Francisco Antunes Ribeiro²
André Nanny LeSueur Vieira³
Laura Pereira Porto⁴
Alessandra Melchert⁵
Pasqual Barretti⁶
Carlos Roberto Padovani⁷
Priscylla Tatiana Chalfun Guimarães-Okamoto⁸

ABSTRACT

This study aims to report the continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) in a chronic kidney disease (CKD) dog, not responsive to conservative therapy. The animal had high levels of urea, but after three cycles of dialysis, there were decreased levels of urea. Due to the advanced stage of chronic kidney disease, the animal died and the necropsy findings were consistent with sepsis. Further studies needed in Veterinary Medicine regarding the choice of catheters, indication and type of peritoneal dialysis in order to avoid complications and achieve better results.

Keywords: CKD, canine, contamination, peritoneum.

SEPSE EM UM CÃO COM DOENÇA RENAL CRÔNICA SUBMETIDO À DIALISE PERITONEAL

RESUMO

Este estudo tem como objetivo relatar a utilização da diálise peritoneal ambulatorial contínua (DPAC) em um cão com doença renal crônica (DRC), não responsivo à terapia conservadora. O animal tinha altos níveis de ureia, mas após três ciclos de diálise, teve diminuição dos níveis de ureia. Devido à fase avançada de doença renal crônica, o animal foi a óbito e os achados de necropsia foram consistentes com sepse. A prática de diálise peritoneal é pouco comum na prática clínica. São necessários mais estudos na Medicina Veterinária em relação à escolha de cateteres, indicação e tipo de diálise peritoneal, a fim de evitar complicações e obter melhores resultados.

Palavras-chave: DRC, canino, contaminação, peritônio.

¹ FMVZ-Botucatu-SP, UNESP.

² Residência - Clínica de Pequenos Animais. FMVZ-Botucatu-SP, UNESP.

³ Residência - Clínica de Pequenos Animais. FMVZ-Botucatu-SP, UNESP. Contato principal para correspondência.

⁴ Graduanda de Medicina Veterinária. FMVZ-Botucatu-SP, UNESP.

⁵ Departamento de Clínica Veterinária. FMVZ-Botucatu-SP, UNESP.

⁶ Prof. Adjunto de Nefrologia - Departamento de Clínica Médica. FMVZ-Botucatu-SP, UNESP.

⁷ Prof. Titular de Bioestatística. Departamento de Biofísica, IBB-UNESP-Btu.

⁸ Profa. Ass. Departamento de Clínica Veterinária de Pequenos Animais-Nefrologia de Pequenos. FMVZ-Botucatu-SP, UNESP.

SEPSIS EN UN PERRO CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA SOMETIDO A DIÁLISIS PERITONEAL

RESUMEN

Este estudio tiene como objetivo informar de la diálisis peritoneal ambulatoria continua (DPAC) en un perro con enfermedad renal crónica (ERC), que no responde a la terapia conservadora. El animal tenía altos niveles de urea, pero después de tres ciclos de diálisis, había disminuido los niveles de urea. Debido a la etapa avanzada de la enfermedad renal crónica, el animal murió, los resultados de la autopsia fueron consistentes con sepsis. Se necesitan más estudios en Medicina Veterinaria en relación a la elección de los catéteres, rápido y tipo de diálisis peritoneal para evitar complicaciones y obtener mejores resultados.

Palabras clave: ERC, canino, contaminación, peritoneo.

INTRODUCTION

Chronic kidney disease patients with signs of uremia, unresponsive to conservative therapy, and exhibiting high levels of serum urea higher than 90 mg/dl or 8 mg/dL of serum creatinine, have indication for peritoneal dialysis (1) especially the continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD), which is the most appropriate technique for veterinary patients suffering from chronic kidney disease (2). This method of dialysis consists to passing the fluid and solutes from peritoneal capillaries to the dialysate infused into the peritoneal cavity through the peritoneum, which acts as a semipermeable membrane (3).

The dialysate is a commercial solution or a prepared one by adding 30 ml of 50% glucose in 1 liter of Lactate Ringer's, which originate a solution whose concentration is 1.5% (1). Conventional dialysis solutions contain glucose, lactate, sodium, potassium and calcium, in different concentrations. Lactate, bicarbonate, or a combination of them, are used to generate a neutral pH in the dialysate. Glucose is the most commonly used osmotic agent (4), however cause unwanted effects, such as hyperglycemia, hyperlipidemia, hyperinsulinemia and obesity. The degradation products of glucose have been associated with changes in peritoneal permeability and ultrafiltration failure (1). Absorption occurs via the peritoneal lymph vessels, which keep the oncotic effect longer than the base dextrose solutions (1). The transport of fluid and solutes across the peritoneal membrane obeys the basic principles of diffusion, absorption and ultrafiltration (5).

The purpose of dialysis therapy is to achieve levels of urea between 60 and 100 mg/dL and creatinine between 4 and 6 mg/dL. For nephropathic patients, serum urea concentration lower than 70 mg/dL is ideal (1).

Peritoneal dialysis should be maintained until renal function is normalized, that is, enough to keep the patient without dialysis, which would be determined by urine output, blood urea and creatinine values, and improvement of clinical signs (3).

Although Peritoneal Dialysis is an effective therapeutic option, its practice is little widespread in clinical routine. Further studies in veterinary medicine are needed in order to avoid complications and get better results. Thus, this study aims to report the sepsis as a complication of the peritoneal dialysis in dogs with terminal stage of chronic kidney disease.

CASE REPORT

A male dog, mongrel, age 11, was treated at the Veterinary Hospital of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science of UNESP, Botucatu, with apathy, disorexia, progressive weight loss, emesis, melena, polyuria and polydipsia for about 1 week. All other

laboratory tests such as hemogram, liver profile, kidney profile, serum electrolytes, urinalysis, urine protein creatinine ratio, thoracic radiography and abdominal ultrasonography revealed, respectively: pancytopenia, characterized by normocytic normochromic anemia, thrombocytopenia and leukopenia; hypoalbuminaemia, azotemia, hyperphosphatemia, isosthenuria and proteinuria, opacification of the caudal lung fields with predominantly interstitial pattern; loss of definition of renal corticomedullary ratio. On the clinical signs and results of laboratory tests, the diagnosis was hemoparasitosis and chronic kidney disease.

Intravenous fluid started in order to correct dehydration, and also started antiemetic therapy, metoclopramide and ranitidine hydrochloride. At the end of the day, was prescribed omeprazole, doxycycline, cyproheptadine and maintained antiemetic therapy. In the following days it was held maintenance intravenous fluid therapy, in order to keep animal hydrated for the dispose of pre-renal azotemia, and collection of new tests, which revealed improvement of thrombocytopenia and leukopenia, in addition to the persistence of azotemia, and hyperphosphatemia, confirming the suspicion of chronic kidney disease. Conservative therapy was instituted, with ambulatory intravenous fluid, ferrous sulfate and fish oil, aluminum hydroxide, enalapril and renal therapeutic diet.

After 15 days, new blood samples and urine samples were collected according to guidelines established by the International Renal Interest Society for staging of chronic kidney disease. The anemia worsened, there was an improvement of thrombocytopenia, persistent azotemia, isosthenuria protein and urinary creatinine ratio equal to 2.0 mg/dL. Given the unfavorable clinical evolution of animal, it was performed blood transfusion and placement of nasogastric esophageal tube, keeping the conservative therapy. The patient, however, showed to be unresponsive to intravenous fluid routine, with progressive worsening. Given the critical situation, we opted for the realization of continuous ambulatory peritoneal dialysis. The animal was then submitted to omentectomy for Tenckhoff catheter insertion 15F (5,0mmx420mm) (VET Medical).

The renal biochemical profile performed prior to dialysis showed clear worsening of azotemia, with the values of urea reached 900 mg/dL and creatinine 14.7 mg/dL. All other laboratory tests such as complete blood count, blood gas analysis, serum electrolytes, lactate measurement, blood glucose, blood pressure and intra-abdominal pressure, resulted in, respectively: nonregenerative anemia (hematocrit = 16%) and leukocytosis (45,000 μ l), metabolic acidosis with mild compensatory respiratory acidosis (pH = 7,220, = BE_{ecf} - 15mmol/L HCO₃ = 13.1 mmol / L, pCO₂ = 32.0 mmHg), 149 mEq/L of sodium and 4.3 mmol/L potassium lactate 5.8 mmol/l glucose 100 mg/dL, systolic blood pressure was 140 mmHg, and intra-abdominal pressure of 15 cm H₂O.

For the realization of continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) a commercial dialysis solution polyelectrolytic Solution for Peritoneal Dialysis - 1.5% glucose (Fresenius Medical Care) heated to a temperature of 39 ° C was used. Instillation dialysate began into the abdominal cavity at a rate of 10 ml/kg/h, an infusion rate reduced to avoid cardiovascular complications. After 40 minutes, time spent of the dialysis solution in the abdominal cavity, its withdrawal was performed, so that infused contents were drained by gravity to a bag, located in the bed below the level of the patient. Thus the first dialysis cycle was concluded. During this first cycle, the following parameters were monitored: heart rate of 128 bpm, respiratory rate of 32 mpm, intra-abdominal pressure of 15 cm H₂O, blood pressure of 100 mmHg and urine output of 1 ml/kg/h.

Since the animal was stable after the first cycle, the second dialysis cycle was initiated with rate of infusion which was 20 ml/kg/h. The heart rate was measured 132 bpm, respiratory rate 32 mpm, intraabdominal pressure 18.5 cm H₂O, arterial pressure 140 mmHg and urinary output remained at 1 ml/kg/h. At the end of this cycle, new blood samples were picked up for reassessment of serum urea and creatinine, which were, respectively, 259 mg/dL and 6.9 mg/dL.

Despite the intensive care, the patient presented with progressive clinical deterioration and destabilization of the macro and microdynamic parameters, with no response to emergency therapy instituted. Unfortunately, the patient progressed to death after cardiac arrest unresponsive to resuscitation, then being requested necropsy. Renal histopathological examination confirmed pyelonephritis and glomerulonephritis. The cause of death was septic shock.

DISCUSSION AND CONCLUSION

The conservative medical treatment aims to slow chronic kidney disease progression, prevent complications arising from the gradual loss of kidney function and treat comorbidities (6). It is based on nutritional support, correction of dehydration and metabolic disorders, as well as therapy for renal protection (7).

The benefits of the diet are attributed mainly to the low level of phosphorus and the high level of omega 3 and 6 (8). Hyperphosphatemia is a major cause of bone and mineral disorders in chronic kidney disease. The mechanisms of phosphorus homeostasis maintain normal levels until the last stage of chronic kidney disease, in which there is an increase of parathyroid hormone, leading to osteopathy, vessel calcification and cardiovascular disease. Thus, the initial control phosphorus levels can prevent the consequences of bone-metabolic disorders of chronic kidney disease and controlling secondary hyperparathyroidism, which occurs in the last stage of the disease (9). In dogs with severe renal disease, only the phosphorous restriction of dietary may be insufficient to prevent hyperphosphatemia, the use of ion chelators, such as aluminum hydroxide, calcium carbonate and calcium acetate in the initial dose in this case is indicated, 90 mg/kg/day, subject to reassessment in accordance with phosphorus levels measured after 12 hours. These medications should be administered with meals or 2 hours after that (8).

Although the patient has received the conservative treatment according to the literature, there has been no improvement of his clinical condition and in the values of urea and creatinine, with a need to perform peritoneal dialysis. The dialysis modality chosen was continuous ambulatory, which is indicated for patients with chronic kidney disease, according to Cooper and Labato (1), and Lucena and Mannheim (2). It establishes the peritoneal dialysis in this report when the values of urea and creatinine of the patient were, respectively, 900 mg/dL and 10.2 mg/dL, which agrees with Cooper and Labato (1), which preconize dialysis in patients who have serum urea levels above 90 mg/dl or higher than 8 mg/dL creatinine.

The used dialysate was a commercial-based solution of glucose (1.5%). According Bersenas (4), glucose is the most commonly used osmotic agent, but may cause unwanted effects, such as hyperglycemia, which was not observed in the present case, since the patient remained in the blood glucose 100 mg/dL.

After the completion of 2 cycles, there has been significant reductions in serum urea and creatinine, but below the values described by Ross and Labato (10), which reported aim of dialysis, serum urea concentrations between 60 and 100 mg/dL creatinine and between 4 and 6 mg / dL.

According to Labato (3), peritoneal dialysis should be maintained until renal function is normalized, or is enough to keep the patient without dialysis, which can be determined by urine output, blood levels of urea and creatinine, and improved clinical sings. In this case, maintenance cycles of dialysis was not possible because the patient was very weak, progressing to death.

Continuous ambulatory peritoneal dialysis was efficient in reducing serum urea and creatinine in the present report, even with a limited number of cycles performed. Thus, we conclude that peritoneal dialysis should be performed as soon as possible, seeking the restoration of renal function and, consequently, improve the patient's condition.

REFERENCES

1. Cooper RL, Labato MA. Peritoneal dialysis in veterinary medicine. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2011;41:91-113.
2. Lucena AR, Mannheimer EG. Diálise Peritoneal. In: Rabelo RC, Crowe Jr DT. *Fundamentos de terapia intensiva veterinária em pequenos animais: condutas no paciente crítico.* Rio de Janeiro: LF Livros; 2005. p.611-8.
3. Labato MA. Peritoneal dialysis. In: Bartges J, Polzin DJ. *Nephrology and urology of small animals.* Wiley: Blackwell Ltda; 2011. p.293-305.
4. Bersenas A. Renal failure and peritoneal dialysis. In: *Proceedings of the 79o Western Veterinary Conference; 2007; Las Vegas.* Las Vegas; 2007.
5. Pecoits Filho R, Moraes TP. Diálise peritoneal. In: Riella MC. *Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010. p.1032-42.
6. Roudebush P, Polzin DJ, Adams LG, Towell TL, Forrester SD. An evidence-based review of therapies for canine chronic kidney disease. *J Small Anim Pract.* 2010;51(5):244-52.
7. Polzin DJ. 11 guidelines for conservatively treating chronic kidney disease [Internet]. *Lenexa;* 2012 [cited 2012 Aug 31]. Available from: <http://veterinarymedicine.dvm360.com/vetmed/Medicine/ArticleStandard/Article/detail/478487>
8. Chew DJ, DiBartola SP, Schenk P. Acute renal failure. In: Chew DJ, DiBartola SP, Schenk P. *Canine and feline nephrology and urology.* St. Louis: Elsevier Saunders; 2011. p.63-92.
9. Martin KJ, Gonzalez EA. Prevention and control of phosphate retention/hyperphosphatemia in CKD-MBD: what is normal, when to start, and how to treat? *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6(2):440-6.
10. Ross LA, Labato MA. Diálise peritoneal. In: DiBartola SP. *Anormalidades de fluidos, eletrolíticos e equilíbrio ácido-básico na clínica de pequenos animais.* São Paulo: Roca; 2007. p.614-27.

Recebido em: 18/06/2016**Aceito em: 03/08/2017**

CORREÇÃO DE ESTENOSE URETRAL APÓS URETROSTOMIA EM GATO – RELATO DE CASO

Elisângela Barboza Silva¹

Ana Manuella Souza Babo²

Janaína Maria Xavier Corrêa³

Mário Sérgio Lima Lavor¹

RESUMO

A doença do trato urinário inferior dos felinos, DTUIF, acomete gatos e tem como sinais clínicos disúria, hematúria e polaciúria. Tais sinais podem estar relacionados a obstrução uretral parcial ou total. Machos tem maior predisposição do que as fêmeas por possuírem a uretra peniana mais estreita, a idade de maior ocorrência é entre dois e seis anos, e ainda animais castrados são mais susceptíveis a desenvolver a doença. Nestes casos a indicação é a desobstrução por meio de cateterização da uretra peniana sob anestesia geral. Em casos recorrentes deve-se indicar a cirurgia de uretostomia. Este procedimento cirúrgico tem o objetivo de criar uma fístula ligando diretamente a uretra e a pele. O resultado pós-cirúrgico é excelente evitando novas obstruções, mas também é passível de complicações como estenose que ocorre devido ao processo de retração cicatricial, mas pode ser excessiva por falta de cuidados pós-operatórios. Este relato tem o objetivo de descrever um caso de estenose após a uretostomia em um gato que apresentou complicações pós-operatórias e a nova cirurgia para refazer a fístula.

Palavras-chave: obstrução uretral, DTUIF, felinos, cirurgia reconstrutiva.

STENOSIS URETHRAL CORRECTION AFTER URETHROSTOMY SURGERY IN A CAT – CASE REPORT

ABSTRACT

Feline disease of inferior urinary tract affects cats and its clinical signs are dysuria, hematuria and pollakiuria. This signs are related a partial or total urethral obstruction. Males have more predisposition than females because their penile urethra are thin. Cats between two and six years old and castrated animals are more susceptible to developing the disease. In this cases is indicated the opening with aid of a probe under general anesthesia. In obstruction recurring cases it should be point a perineal urethrostomy surgery. This objective surgery is create a fistula between the urethra and the skin. The post-operative result are excellent and avoid new obstructions, but can have complications such as stenosis. The stenosis is a normal fact in a healing process, but can be excessive when the lack of care in the post-operative period that allow the animal stir in the wound before the complete healing. This case report presents a urethral stenosis after the urethrostomy surgery in a cat and your treatment.

Keywords: urethral obstruction, feline, reconstructive surgery.

¹ Professor(a) Adjunto(a), Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais. Universidade Estadual de Santa Cruz. Contato principal para correspondência.

² Médica veterinária autônoma.

³ Aluna do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Universidade Estadual de Santa Cruz.

CORRÉCCION DE ESTENOSE URETRAL DESPUÉS DE URETROSTOMIA EN GATO – RELATO DE CASO

RESUMEN

La enfermedad del trato urinário inferior de los felinos acomete gatos y tiene como señales clínicas disúria, hematuria y polaciúria. Tales señales pueden estar relacionados a La obstrucción uretral parcial o total. Machos tienen mayor predisposición que las hembras por tener la uretra peniana mas estrecha, la edad de mayor ocurrencia es entre dos y seis años, y aún animales castrados son más susceptibles a desarrollar la enfermedad. En estos casos la indicación es la desobstrucción por medio de cateterización de la uretra peniana bajo anestesia general. En casos recurrentes se debe indicar la cirugía de uretrotomía. Este procedimiento tiene el objetivo de crear una fístula conectando directamente la uretra y la piel. El resultado post quirúrgico es excelente evitando nuevas obstrucciones, pero también es posible de complicaciones como estenosis que ocurre debido al proceso de retracción cicatricial, pero puede ser excesiva por falta de cuidados post operatarios. Este relato tiene el objetivo de describir un caso de estenosis después de la uretrotomía en un gato que presentó complicaciones post operatarias y la nueva cirugía para rehacer la fístula.

Palabras clave: obstrucción uretral, felinos, cirugía reconstructiva.

INTRODUÇÃO

Os distúrbios no trato urinário inferior de felinos (DTUIF) são caracterizados por hematuria, disúria, polaciúria, com ou sem obstrução uretral (1).

Os machos entre dois e seis anos são mais predispostos devido à idade e anatomia da sua uretra. A castração também é um fator de risco, pois leva à obesidade e diminuição da atividade física do animal (2).

Os procedimentos para alívio da obstrução são sondagem uretral sob anestesia. O tratamento cirúrgico é recomendado nos casos de recidiva das obstruções e estenose iatrogênicas (3).

Para isso, utiliza-se a técnica de uretrotomia perineal com penectomia, descrita por Wilson e Harrison, e suas modificações (4-7). Este procedimento diminui significativamente a incidência de constrição pós-operatória e cistite bacteriana (7).

As principais complicações da uretrotomia perineal são hemorragias, estenoses, cistites e deiscências. Um estudo mostrou estenose em torno de 12% dos animais avaliados e os autores ressaltam que a experiência do cirurgião e a delicadeza da execução da técnica podem ter relação com o baixo índice de estenose pós-cirúrgica e o sucesso do procedimento (8).

Quando ocorre este tipo de complicação, a cirurgia de reparo da uretrotomia deve ser refeita o quanto antes para evitar alterações renais e metabólicas no animal, visto que o quadro de obstrução e retenção urinária novamente se instala. Este trabalho tem o objetivo de descrever o caso de um gato com estenose uretral após uretrotomia perineal e que foi submetido a um novo procedimento para reabertura da fístula uretral.

RELATO DE CASO

Foi atendido no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Santa Cruz, um gato macho Siamês de três anos, castrado. O animal apresentava histórico de realização de uretrotomia perineal, após três episódios de obstrução. Cinco meses após a cirurgia, o animal começou a apresentar dificuldade de micção, polaciúria, distensão e dores abdominais, anorexia e prostração causados pela estenose da uretrotomia.

Sob anestesia geral, o animal foi sondado primeiramente com um catéter n. 22 para, em seguida, ser possível introduzir uma sonda uretral n. 04. Com isso, a bexiga foi esvaziada e lavada com solução fisiológica. O gato foi então liberado e mantido sondado até o dia da cirurgia (Figura 1).

No dia da cirurgia a proprietária relatou que o animal havia voltado a se alimentar, estava mais ativo e estava conseguindo urinar via sonda. Os exames pré-operatórios como hemograma e bioquímicos estavam normais. Para o procedimento cirúrgico, o animal foi pré-medocado com associação de morfina (0,3 mg/kg), midazolam (0,2 mg/Kg) e cetamina (5 mg/kg), via intramuscular, induzido com 3 mg/kg de propofol e mantido sob anestesia geral inalatória com isoflurano em 100% de oxigênio (200 ml/kg/min) por meio de um sistema sem reinalação (Baraka).

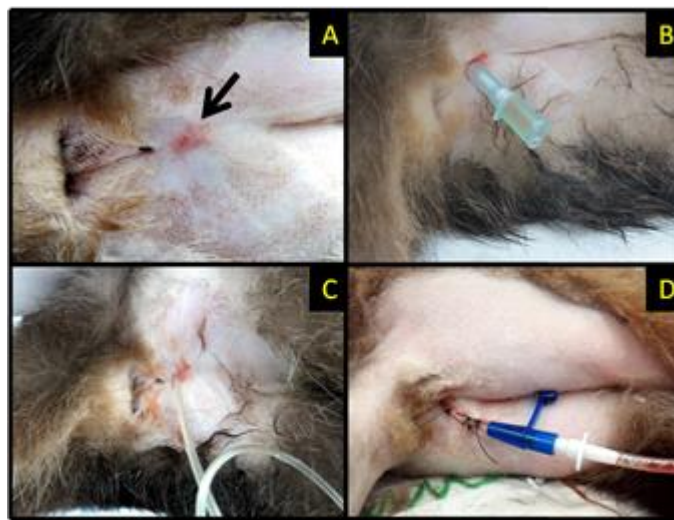


Figura 1: Imagem da região perineal de um felino macho após estenose de uma uretostomia. Em A: pequeno orifício remanescente da uretostomia (seta). B: sondagem realizada com o auxílio de um catéter endovenoso 22G. C: passagem da sonda após a abertura do orifício feita com o catéter. D: fixação da sonda na pele com pontos simples separados e fio Náilon 2-0.

Após estabilização anestésica do paciente e seu posicionamento na mesa, aplicou-se uma sutura em bolsa de fumo com fio inabsorvível sintético 2-0 ao redor do ânus para evitar contaminação do campo cirúrgico durante o procedimento. Iniciou-se a criação de uma nova uretostomia com uma incisão retangular em torno do orifício uretral sondado (figura 2A). Promoveu-se a divulsão do tecido subcutâneo e muscular ao redor da uretra remanescente, sempre tracionando-a. Em seguida, uma tesoura foi inserida na pequena abertura uretral prolongando a incisão para uma nova uretostomia (figura 2B). A nova sutura envolvendo a mucosa uretral e a pele foi feita com pontos padrão simples separado e fio de náilon 2-0 (figura 2C, 2D e figura 3A).

Em seguida, a vesícula urinária foi comprimida para esvaziamento o que ocorreu pela nova fístula, sem dificuldade ou obstrução. A sutura ao redor do ânus também foi removida após o término da cirurgia.

No pós-operatório o animal foi medicado com enrofloxacina na dose de 5mg/kg uma vez ao dia por 10 dias, e meloxicam 0,1mg/kg uma vez ao dia por 4 dias. Foi exigido que o animal usasse o colar elisabetano até a retirada dos pontos.

Após 13 dias, a cicatrização estava completa (figura 3B). A proprietária relatou melhora progressiva do animal, e a resolução do quadro de disúria e polaciúria.



Figura 2: Imagens do transoperatório para a abertura de uma nova uretostomia em um gato macho. Em A: incisão retangular ao redor do orifício estenosado sondado. B: inserção de uma tesoura de metzembraum na uretra e ampliação da incisão. C: início da fixação da mucosa uretral na pele com pontos simples separados e fio de náilon 2-0. D: Uretostomia após o término da sutura, notar o diâmetro da nova fistula.



Figura 3: Imagem da região perineal de um gato macho após a nova cirurgia de uretostomia. Em A: Uretostomia no pós operatório imediato. B: Uretostomia treze dias após a cirurgia, na seta a nova fistula.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Embora a urterostomia perineal tenha um baixo índice de estenose (8,9,10) a técnica e a habilidade no primeiro procedimento são importantes para evitar esse tipo de complicação (8).

Os cuidados pós-operatórios como o uso do colar elisabetano (10) evitam que o animal tenha acesso à ferida evitando inflamações prolongadas e até uma retração exagerada. O animal em questão possuía um histórico de ter removido o colar e os pontos após a primeira cirurgia, fato que não ocorreu depois da segunda intervenção, já que o animal retornou com a ferida totalmente cicatrizada e com todos os pontos.

A estenose após a uretostomia é uma possível complicação, que pode comprometer a saúde do paciente, mas é passível de ser evitada promovendo-se uma grande fístula no momento da primeira cirurgia. Por isso, no primeiro procedimento deve-se ressaltar que a retração cicatricial sempre ocorre e que a realização de um segundo procedimento, além de mais difícil pela perda da anatomia local, oferece mais risco para o animal que chega debilitado para o procedimento.

Com este caso, pode-se concluir que o sucesso da uretostomia perineal em gatos depende de vários fatores, dentre eles a habilidade e a técnica do cirurgião bem como a importância dos cuidados pós-operatórios.

REFERÊNCIAS

1. Balbinot ZDP, Viana JA, Bevilaqua PD, Silva PSA. Distúrbios urinários do trato inferior de felinos: caracterização de prevalência e estudos de casos-controle em felinos no período de 1994 a 2004. *Rev Ceres*. 2006;310:653-61.
2. Nelson WR, Couto GC. *Medicina interna de pequenos animais*. Rio de Janeiro: Elsevier; 2010.
3. Lima RE, Reis JC, Almeida EL, Teixeira MN, Rego EW, Carneiro AS, et al. Avaliação clínica e laboratorial em gatos domésticos com doença do trato urinário inferior submetidos a uretostomia. *Cienc Vet Trop*. 2007;10:62-73.
4. Buffington TCA, Chew DJ, Dibartola SP. Doenças do trato urinário inferior em gatos. In: Slatter D. *Manual de cirurgia dos pequenos animais*. 3a ed. São Paulo: Manole; 2007. p.1651-60.
5. Oliveira JLP. Uretrostomia perineal em felinos: revisão. *Clin Vet*. 1999;4:38-42.
6. Corgozinho BK, Souza MJH. Conduas na desobstrução uretral. In: Souza MJH. *Coletâneas em medicina e cirurgia felina*. Rio de Janeiro: LF Livros; 2003.
7. Bjorling DE. Uretra. In: Slatter D. *Manual de cirurgia de pequenos animais*. 3a ed. São Paulo: Manole; 2007. p.1638-50.
8. Bass M, Howard J, Gerber B. Retrospective studies of indications for and outcome of perineal urethrostomy in cats. *J Small Anim Pract*. 2005;5:227-31.
9. Smith CW, Weigel RM, Smith AR. Perineal urethrostomy in cat. *Feline Pract*. 1991;3:20-3.
10. Corgozinho KB. Avaliação clínica dos gatos submetidos à técnica de uretostomia perineal [dissertação]. Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2006.

Recebido em: 21/08/2016**Aceito em: 11/08/2017**

EXUGUNLATION FOLLOWED BY FRACTURE AND AVULSION OF THE DISTAL PHALANX IN MARE

Joandes Henrique Fonteque¹
Anderson Fernando de Souza²
Jackson Schade³
Thiago Rinaldi Muller¹
Martielo Ivan Gehrcke¹

ABSTRACT

This is a case report that describes a severe condition of exungulation with distal phalanx avulsion in a mare, Quarter Horse of nine years old, attended at the Veterinary Hospital (HCV) from the Santa Catarina State University (CAV/UDESC), Lages, SC, Brazil. The animal showed exungulation of the right hindlimb due to transportation trauma and presented with severe lameness. All radiographs demonstrated osteoproliferative reaction in the proximal and middle phalanges and absence of the distal phalanx and the alar cartilage and severe peripheral soft tissue swelling. Due to the extensive injury with severe involvement of the distal phalanx and poor prognosis euthanasia was recommended and performed.

Keywords: lameness, hoof avulsion, horse, trauma.

EXUNGULAÇÃO SEGUIDA DE FRATURA E AVULSÃO DA FALANGE DISTAL EM UMA ÉGUA

RESUMO

Este é um relato de caso que descreve uma condição grave de exungulação com avulsão da falange distal em uma égua, Quarto de Milha, de nove anos de idade, atendida no Hospital Veterinário (HCV) da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UDESC), Lages, SC, Brasil. O animal apresentou exungulação no membro pélvico direito, decorrente de trauma durante o transporte, apresentando intensa claudicação. Nas radiografias obtidas observaram-se reação osteoproliferativa nas falanges proximal e média e ausência de grande parte da falange distal e da cartilagem alar e aumento de volume dos tecidos moles. Devido à extensa lesão com grave comprometimento da falange distal e prognóstico ruim, recomendou-se a eutanásia.

Palavras-chave: claudicação, avulsão do casco, equino, trauma.

EXUNGULACIÓN SEGUIDA DE FRACTURA Y AVULSIÓN DE LA FALANGE DISTAL EN UNA YEGUA

RESUMEN

Se trata de un caso clínico que describe una condición seria de la exungulación com avulsión de la falange distal em una yegua Cuarto del Milla de nueve años de edad que fue atendida en

¹ Departamento de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages, SC.

² Acadêmico de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), Clínica Médica de Grandes Animais, Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC). Contato principal para correspondência.

³ Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages, SC.

El Hospital Veterinario (HCV) de la Universidad del Estado de Santa Catarina (CAV/UEDESC), Lages, SC, Brasil. El animal mostro exungulación de la extremidad posterior derecha, debido a un traumatismo durante el transporte, con una marcada claudicación. Las radiografías mostraron reacción osteoproliferativa en las falanges proximal y medial y carecen de la mayor parte de la falange distal y del cartílago alar, también se evidencia aumento de volumen de los tejidos blandos. Debido a La extensa lesión com deterioro severo de la falange distal y mal pronóstico, se recomienda la eutanasia.

Palabras-chave: claudicación, avulsión del casco, caballo, el trauma.

INTRODUCTION

The distal portion of the equine limb is a structure adapted to receive enormous mechanical tasks with great flexibility associated and considerable resistance, however is not free from receiving damage by traumatic events (1). Injuries can be associated with anatomical factors such as its distally location and functional factors in which a small area is available to bear a heavy load and also being able to perform exercise, rising the mechanical demand considerably, along with the constant contact with the environment (2). Often the surface that the equine perform activities is not adequate, which gives it a much greater potential for serious injury compared to a natural environment (3).

Avulsions of the hoof wall are rare events that seriously undermine athletic and functional performance of the animals. Avulsion may be complete where the corneum stratum is completely separate from subcorneum stratum or incomplete when the some wall tissue remains intact (4). The structures that can suffer damage from exugulation also involve the coronary band and distal ends of the tendons, ligaments and deeper structures of the hoof capsule may compromise the distal phalanx (4). Apart from acute cases of traumatic origin mainly leading to complete avulsion of the hoof capsule, chronic processes can also follow this outcome, as in laminitis, so that ischemic processes lead to an infarct of dermal blades, causing destabilization of the distal phalanx and in some cases culminates in the complete separation of these structures (4,5).

The establishment of the prognosis is related to the degree of involvement of structures, and in situations of extensive injuries to bone tissues, readily protrudes to an unfavorable condition. However, in situations where there is a significant loss of germinal tissue the digit has the ability to complete regeneration of structures, albeit more slowly than other tissues, when properly treated is established for a sufficiently long period, since, due to the location of the lesion, the establishment of infectious processes is an aggravating factor (6,7). In cases where there is a broad involvement of distal structures, being practically impossible to return the minimum support conditions, euthanasia is more applicable instead of clinical management (4,8).

The objective of this paper is to describe a case of exungulation with partial loss of the distal phalanx and the alar cartilage of the right hindlimb in a Quarter Horse resulting from trauma, addressing issues related to the diagnosis and the most appropriate clinical management.

CASE REPORT

A Quarter Horse mare of nine years of age was presented to the Veterinary Hospital of the University of the State of Santa Catarina (UEDESC) Agroveterinary Sciences Center (CAV), presenting with complete avulsion of the hoof of the right hindlimb and swelling of the distal aspect of the limb. In the anamnesis the owner reported that 25 days prior to presentation the equine was transported to an equestrian event (rodeo), when by transposing a road bump caused

the animal to scare suffering trauma to the right hindlimb inside the truck. The next day the animal was primed and performed activities in the event. Since then the limb was presented with a progressive increase in swollen in the coronary band region. Over the days the owner noticed the presence of pus in the site. After seven days of the incident was noticed exungulation of the affected limb. The limb remained enlarged and with edema and a presented serosanguinous exudates. In the first week the owner treated with penicillin G benzathine (40.000 UI/kg, IM, three times every 48 hours) and flunixin meglumine (1.1 mg/kg, IV, SID). Topical treatment was performed with iodine application on the wound. The owner proceed with administration of corticosteroids (flumetazona) for five days and antibiotic (florfenicol) for six days.

Physical examination showed hyperthermia (39°C) and tachycardia (50 bpm) and loss of function in the right hindlimb with the presence of granulation tissue at the distal end of the limb region with absence of the hoof and continuous bleeding (Figure 1A). Upon physical examination of the locomotor system it was identified lameness grade of IV (I-IV) with diffuse bleeding from the lamellar corium. The limb was distally swollen from the tarsal joint to its most distally aspect, with positive Godet sign, and had increased temperature and palpation sensitivity. As the animal had increased pain sensitivity in the injured limb making impossible to carry out a more detailed physical examination, sedation was performed, using 0.5 mg/kg of xylazine at 10 % intravenous and epidural morphine at a dose of 0.1 mg/kg diluted in 20 ml saline solution for 120 seconds. After 15 minutes of epidural administration the animal allowed manipulation and proper positioning to perform the radiographic examination. Orthogonal radiographs of the distal region of the right hindlimb was obtained showing marked swelling of soft tissues in the region was obtained. The distal phalanx showed morphological changes and reduced dimensions. There was a complete oblique fracture of the body of distal phalange with severe proliferative lytic mixed reaction in the lateral plantar process indicating chronic process. The fractured bone fragment and the hoof were not identified. There was mild periosteal reaction in dorsal edges of the first and second phalanx and the presence of periarticular osteophytes on the distal edge of the second phalange with swelling of adjacent soft tissues (Figure 1, B and C). The diagnosis was confirmed and determined as complete transverse fracture of body of distal phalange with the absence of the fractured fragment of osteomyelitis process and avulsion of the hoof.

As a supplementary analgesic medication was used at a dose of 25 mg/kg dipyrone intravenously associated with flunixin meglumine at a dose of 1.1 mg/kg intravenously and euthanasia was indicated due to the poor prognosis of the animal.

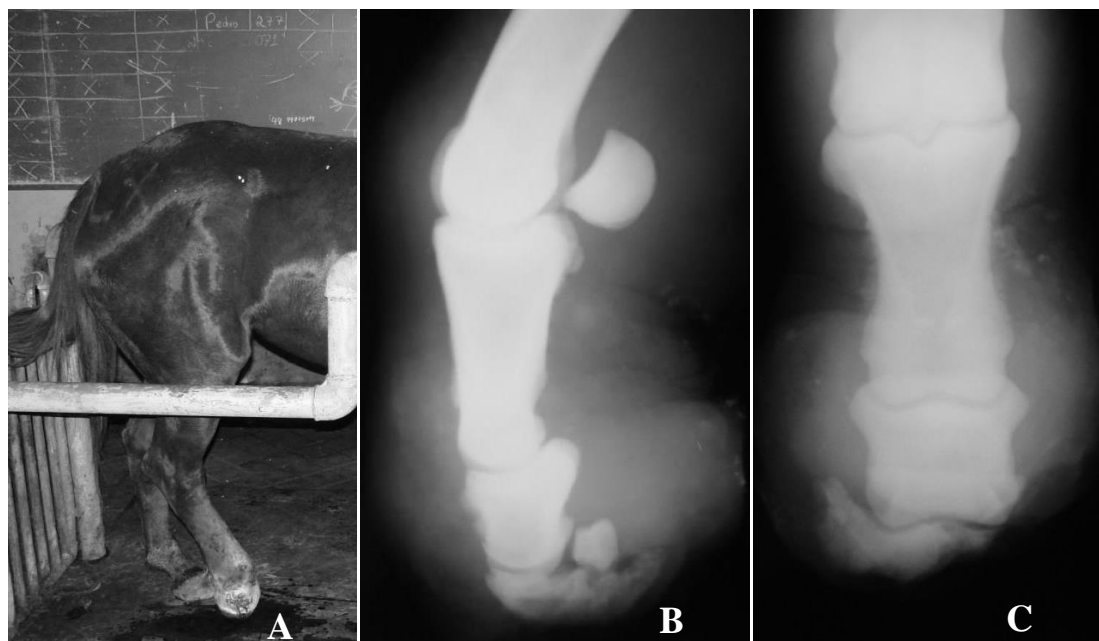


Figure. 1. (A) Quarter Horse mare of nine-year-old presenting total hoof capsule avulsion in the right hindlimb. (B) Lateromedial view showing severe soft tissue swelling and loss of the third phalanx. Periosteal reaction is identified in the cranial aspect of the second and first phalanx. (C) Dorsoplantar view of the same limb described in "B". Note the lack of the medial aspect of the alar process.

DISCUSSION

Although the diagnosis of complete avulsion of the hoof case can be obvious, the investigation of the involvement of deeper structures should be observed since the depth of the lesion is directly related to prognosis (4). Obtaining radiographs is extremely important to know the conditions of the distal phalanx, navicular bone and the distal epiphysis of the middle phalanx. Special appreciation to the affections of the hoof is needed due to their structural and functional peculiarities and the degree of contamination, which is usually high (2).

The process of regeneration of corneal sheath differs from that observed in other body surfaces (6). Loss of tissue of the hoof and sole are contoured for local epithelialization, dermic-like, with homogeneous epithelial layer surrounding the edges. In the formation of a new hoof wall, the epithelium is restored by progressive growth of the hoof wall from the coronary band for a distal direction (9).

In the case where there is destruction of tissue beyond the coronary band, tissue which will cover the whole area may be laminated from both sources - dermic and coronary - resulting in bad appearance end (10). Thus, complete avulsions with involvement of skin and coronary band often promote the formation of persistent defects in the hoof. Debridement of the underlying granulation tissue and reconstruction of the coronary band, drainage and washing of synovial compartments when affected, and bandages may be necessary until all infectious complications are resolved (2). The decision to perform the treatment in case of complete avulsion should be applied only after economic factors evaluation and severity of clinical signs (8).

Young (11) obtained good results in the treatment of three cases of partial avulsion using debridement and frequent dressing and delivery of oral supplementation of methionine and biotin. Heart bar shoe are also useful in supporting the patient in the weight distribution. Nunes et al. (12) reported a case of complete avulsion with similar results with footbath solution of potassium permanganate and nitrofurazone topical dressings were prepared with sugar. To cushion the impact and to facilitate locomotion dressing with cotton as also performed. Barreira

et al. (13) described a case of total avulsion of the hoof with significant impairment of dermal lamellar tissue and the distal phalanx in the horse showed remarkable recovery after combination treatment with conventional cell therapy.

The animal was presented with considerable time elapsed since the trauma, with the absence of the third phalanx, establishment of an intense inflammatory, hemorrhagic and infectious process, an alternative to consider would be the amputation of digit, a controversial action between professionals and is sometimes applied, but with numerous subsequent disorders such as prolonged decubitus leading to myositis and peripheral nerve compression, support laminitis in the contralateral limb, and successive injuries to the surgical stump. Invariably the implementation of any therapy aiming to regenerating the corneal sheath would not be successful in this case since the absence of the distal phalanx.

CONCLUSION

The exungulation are rare conditions, and it should be part of the list of diseases of the equine locomotor system in which the veterinarian is required to provide much attention. Therapeutic protocols can be established even when prognostic is reserved, since that the sooner the injury is identified, planning the therapy in order to stabilize the condition to avoid consequences resulting from an erroneous or even nonexistent care. However when faced with conditions where there is severe damage to the deep structures of the hull, as presented, subsequent complications promote a painful survival, euthanasia can be the most appropriate clinical management.

REFERENCES

1. Kainer RA, Fails AD. Functional anatomy of the equine musculoskeletal system. In: Baxter GM. Adams and Stashak's lameness in horses. 6th ed. Iowa: Wiley-Blackwell; 2011. p.3-72.
2. Céleste CJ, Szöke MO. Management of equine hoof injuries. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2005;21(1):167-90. doi:10.1016/j.cveq.2004.11.009.
3. Moyer W. Hoof wall defects: chronic hoof wall separations and hoof wall cracks. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2003;19(2):463-77. doi:10.1016/S0749-0739(03)00003-8.
4. Baxter GM, Stashak TS. Avulsion injuries of the hoof. In: Baxter GM. Adams and Stashak's lameness in horses. 6th ed. Iowa: Wiley-Blackwell; 2011. p.530-4.
5. Pollitt CC. Basement membrane pathology: a feature of acute equine laminitis. *Equine Vet J.* 1996;28(1):38-46. doi: 10.1111/j.2042-3306.1996.tb01588.x.
6. Fessler JF. Hoof injuries. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 1989;5(3):643-64.
7. Gresti AD, Zani DD, D'Arpe L, Scandella M. A singular case of traumatic total hoof capsule avulsion. *Equine Vet Educ.* 2008;20(8):406-10. doi: 10.2746/095777308X332240.
8. Thomassian A. *Enfermidades dos Cavalos.* 4a ed. São Paulo: Varela; 2005. p.178-9.
9. Pollitt CC. Anatomy and physiology of the inner hoof wall. *Clin Tech Equine Pract.* 2004;3(1):3-21. doi:10.1053/j.ctep.2004.07.001.

10. Parks AH. Equine foot wounds: general principles of healing and treatment. In: Proceedings of the 45th Annual Convention American Association of Equine Practitioners; 1999; Albuquerque, New Mexico. Albuquerque: AAEP; 1999. p.180-7.
11. Young JH. Hoof wall avulsion: three case reports. J Equine Vet Sci. 1988;8(6):420-3. doi:10.1016/S0737-0806(88)80090-X.
12. Nunes DB, Ferreira CS, Mello GS, Moya GB. Relato de caso - Exungulação em equino. In: Anais da 7a Conferência Anual ABRAVEQ; 2006; São Paulo. São Paulo: ABRAVEQ; 2006.
13. Barreira APB, Abreu RAR, Abreu RR, Lessa DAB, Bacelar DTL, Silva Junior H, et al. Association of conventional and stem cell therapy in a total hoof avulsion case. In: Proceedings of the 11th World Congress of WEVA; 2009; Guarujá. Guarujá: WEVA; 2009.

Recebido em: 11/07/2016

Aceito em: 12/08/2017

CARACTERIZAÇÃO DO SISTEMA DE PRODUÇÃO CAPRINO E OVINO NA REGIÃO SUL DO ESTADO DO MARANHÃO, BRASIL

Aldivan Rodrigues Alves¹
Marcio da Silva Vilela²
Maria Verônica Meira de Andrade¹
Liduina da Silva Pinto³
Djonata Brito de Lima²
Lailson Lucas Lopes Lima²

RESUMO

Objetivou-se caracterizar o sistema de produção da ovinocaprinocultura desenvolvido na região sul do estado do Maranhão, Brasil. Foram realizadas entrevistas aos produtores utilizando-se questionários para caracterização das propriedades rurais relacionadas aos indicadores físicos, sociais, financeiro, dados produtivos e para avaliar os diversos aspectos do sistema de alimentação. O estudo compreendeu a criação de um banco de dados, para realização de análise tabular associada ao estudo descritivo, agrupando-se todas as propriedades visitadas. As propriedades têm em média 146 hectares com um rebanho médio de 46 e 51,4 cabeças de ovinos e caprinos, respectivamente. Apresentaram semelhança nos aspectos sociais, infraestrutura e sistema de manejo com características de atividade de subsistência e têm a produção de carne como produto principal, com demanda de assistência técnica e baixo nível tecnológico. A base alimentar dos animais consiste no pasto nativo associado ao pasto cultivado com fornecimento de concentrado sem considerar os aspectos nutricionais.

Palavras-chave: caprinos, ovinos, sistemas de produção.

CHARACTERIZATION OF THE GOAT AND SHEEP PRODUCTION SYSTEM IN THE SOUTH REGION OF THE STATE OF MARANHÃO, BRAZIL

ABSTRACT

We aimed to characterize the goat and sheep productive systems developed in the southern of Maranhão, Brazil. Interviews were conducted with producers using questionnaires to characterization the properties related to indicators to physical, social, financial, productive data and to explain various aspects of the feeding system. The study involved the creation of a database for conducting tabular analysis associated with the descriptive study, grouping all the farms visited. The properties have an average of 146 hectares area with a cattle average of 46 and 51.4 head of sheep and goats, respectively. Showed similarities in the social aspects, infrastructure and management system with characteristics of subsistence activity and the meat is the main product, with demand of technical assistance and low technological level. The base feeding of animals consists in the native pasture associated with cultivated pasture with supply of concentrated without considering the nutrition aspects.

Keywords: goats, sheep, productive systems.

¹ Diretoria de Desenvolvimento ao Ensino, Instituto Federal do Maranhão - Campus Caxias. Rodovia MA 349, Km 02, Gleba do Paraíso, Povoado Lamego, Zona Rural - Caxias -MA, CEP: 65.600-992. Brasil. Contato correspondência.

² Diretoria de Desenvolvimento ao Ensino, IFMA-Campus São Raimundo das Mangabeiras. Zootecnia.

³ Discente da Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Letras, UEMA/Caxias.

CARACTERIZACIÓN DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE GANADO CAPRINO Y OVINO EN LA REGIÓN SUR DEL ESTADO MARANHÃO, BRASIL

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue caracterizar el sistema de producción de ganado ovino y caprino en la región sur del estado de Maranhao, Brasil. Se realizaron entrevistas a los productores por medio de cuestionarios para caracterizar las propiedades rurales relacionados con los indicadores físicos, sociales, datos financieros y productivos para explicar los diversos aspectos del sistema de alimentación. El estudio implicó la creación de una base de datos para la realización de análisis tabular asociada con el estudio descriptivo, agrupando todas las granjas visitadas. Las propiedades tienen un promedio de 146 hectáreas con un rebaño promedio de 46 y 51,4 cabezas de ganado ovino y caprino, respectivamente. Ellos fueron similares en los ámbitos social, infraestructura y sistema de gestión con características de la actividad de subsistencia y tienen la producción de carne como producto principal, con la demanda de servicios y de bajo nivel tecnológico. La base de la alimentación de los animales consiste en pastos nativos asociados con la pastura cultivada con suministro de concentrado sin tener en cuenta los aspectos nutricionales.

Palabras clave: cabras, ovelhas, sistemas de producción.

INTRODUÇÃO

A ovinocaprinocultura fornece aos produtores rurais proteína de alto valor biológico e renda, resultando em avanço econômico e social das regiões, garantindo a permanência do homem no campo e diminuindo a superpopulação nas cidades que gera mão-de-obra ociosa e aumento da pobreza. Segundo o IBGE (1) do efetivo nacional de **ovinos e caprinos** correspondente a 16,8 e 9,2 milhões de cabeças, respectivamente, aproximadamente 232 mil ovinos estão no Maranhão o que representa apenas 1,4% e um pouco mais para espécie caprina com 385 mil ou 4,2% do total. Estes dados demonstram uma importante capacidade de expansão da exploração da ovinocaprinocultura no estado podendo tornar-se uma das potencialidades da produção pecuária a exemplo da bovinocultura de corte.

De modo geral a exploração desta atividade em toda região nordeste baseia-se em sistemas extensivos caracterizados pelo uso excessivo da pastagem nativa e uso reduzido de técnicas de manejo que envolve os aspectos reprodutivos, sanitários e principalmente alimentar o que resulta em baixos índices produtivos. Gonçalves et al. (2) enfatizam por exemplo que dentre os principais fatores que limitam o aumento da produtividade e da oferta de leite caprino é a nutrição e a alimentação dos rebanhos.

Com o intuito de possibilitar o estudo de grande grupo de fatores ao mesmo tempo e de forma coerente, tem sido proposto considerar o sistema de produção o qual envolve o sistema de alimentação, composto por dois subsistemas: decisional e o biotécnico. O subsistema decisional é o que “dirige” o sistema de produção, seu elemento fundamental é o proprietário ou pessoa responsável pelas tomadas de decisões (3). O subsistema biotécnico é constituído pelo rebanho e pastagens (parte biológica do sistema) que determinam as respostas aos alimentos consumidos (4), podendo sofrer influência do meio ambiente. O elo de ligação entre estes dois subsistemas são as práticas realizadas pelo homem. Há uma hierarquia, onde o subsistema decisional é superior ao subsistema biotécnico. Este enfoque possibilita acessar as estratégias de alimentação a partir da análise das práticas de alimentação do rebanho realizadas pelo produtor.

Além do mais conhecer os alimentos que fazem parte da dieta dos animais nestes sistemas é fundamental para melhorar a produtividade e o custo/benefício ao longo do ano, pois os

alimentos possuem características particulares e interações complexas que refletem diretamente na produção animal, além disso, a utilização racional dos alimentos evita o uso de nutrientes em excesso melhorando a lucratividade, competitividade e sustentabilidade da atividade. Apesar da utilização de concentrado pelos produtores, seu uso consiste apenas no fornecimento de concentrados prontos onde, geralmente, cada ingrediente é fornecido isoladamente, sem maiores preocupações com o atendimento das exigências nutricionais por categoria (animais em fases de crescimento, lactação, reprodução, etc.) (5).

Objetivou-se com este estudo caracterizar o sistema de produção quanto aos aspectos sociais, físicos e de manejo alimentar da ovinocaprinocultura desenvolvido na região sul do estado do Maranhão, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido na região da chapada, Sul do Maranhão (6). O clima dessa área é classificado como quente e úmido, com duas estações bem definidas, uma chuvosa e outra seca. A temperatura média anual da região é em torno de 26 °C, com amplitude anual inferior a 5°C, que caracteriza o regime térmico da região com pequena variação estacional durante o ano (7). O cerrado com os seus grupos (Cerradão, Campo Cerrado e Parque) constituem a vegetação dessa região (8).

A inexistência de uma listagem representativa dos criadores de caprinos e ovinos tornou impossível a amostragem aleatória. Assim, utilizou-se a amostragem probabilística por conveniência para selecionar os produtores, mediante levantamento prévio, levando-se em consideração o tamanho da propriedade, o tempo dedicado a ovinocaprinocultura e o número de animais que caracterizam os sistemas de alimentação desenvolvidos. Foram selecionadas 11 propriedades no município de São Raimundo das Mangabeiras, as propriedades foram distribuídas equitativamente em cada um dos quatro pontos cardinais (norte, sul, leste e oeste) e região central.

Foram realizadas entrevistas aos proprietários ou responsáveis pela atividade utilizando-se um questionário global (estruturado), denominado questionário 1, aplicado uma única vez, para caracterização das propriedades relacionadas aos indicadores físicos, sociais, financeiro/empréstimos e dados produtivos, com duração média de aplicação de trinta a setenta minutos. Outro questionário (estruturado e semiestruturado), questionário 2, também foi aplicado para avaliar os diversos aspectos que norteiam os sistemas de alimentação adotados pelos ovinocaprinocultores, aplicado com periodicidade mensal por 6 meses, com duração média de aplicação de vinte a quarenta minutos.

Para ambos os questionários as entrevistas foram realizadas pela mesma equipe previamente treinada com igual sistemática, evitando-se, assim, erros de interpretação. Durante a aplicação do questionário 2 nas questões/variáveis semiestruturadas, esta foi realizada de forma semidireta em que apenas lançava-se uma questão e deixava-se o produtor discorrer sobre o assunto, segundo a sua lógica, sem interferências excessivas do entrevistador (9), utilizando-se um questionário guia para obter informações não “viciadas”.

Para análise dos aspectos globais foram utilizadas 40 questões/variáveis sendo: para caracterização dos aspectos sociais foram utilizadas 12 questões: GF = grau de formação do proprietário; EC = estado civil; F= filhos; QF = quantidade de filhos; CPRT = condição do produtor em relação ao uso da terra; RE = residência; CRE = condição de residência; ATIV = atividades; TREI = treinamentos; AT = assistência técnica; ASSO = associado; COOP = cooperado. Para os aspectos físicos/infraestrutura foram 11 questões: AF = área da propriedade; AP = área destinada a pecuária; AL = área destinada a lavoura; DC = distância do centro urbano; DA = disponibilidade de água; QA = qualidade da água; EE = disponibilidade de fonte de energia; INS = instalações; TINS = tipo de instalações; INSC = instalações separadas por categoria; IPPV= instalações que permite práticas veterinárias. Quanto aos aspectos

econômicos de financiamentos 3 questões: FINAN = financiamento; FON = fonte/tipo de financiamento e ROA = recursos de outras atividades. Por fim os aspectos produtivos com 14 questões: L = lavouras; DL = destino do produto das lavouras; F1 = feijão; M = milho; A = arroz; MA = macaxeira; CA = cana; MAN = mandioca; FR = fruticultura; B = bovinos; C = caprinos; O = ovinos; OU = outros animais e APT = aptidões das criações).

Foi considerado como “fase de alimentação” período (mês) no qual não há alteração nas práticas de alimentação: tipo e quantidade de alimentos volumosos e/ou concentrados, mudança de área de pastejo e ração de fornecimento de concentrado (kg/animal/dia). A partir do estudo das fases de alimentação foram verificadas as variáveis referentes à base alimentar volumosa e suplementar ao longo dos meses que buscou identificar aquelas com potencial para explicar de forma satisfatória a diversidade de sistemas de alimentação.

Nos dados gerados a partir das informações das variáveis explicativas da diversidade das características das propriedades relacionadas aos indicadores físicos, sociais, financeiro/empréstimos, dados produtivos e das estratégias de alimentação foi aplicada uma análise descritiva por meio de Planilhas Base de Dados desenvolvidas no Excel 2010.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 11 propriedades apenas uma é exclusiva produtora de ovinos (9%), das restantes quatro criam ovinos e caprinos (36%), simultaneamente, e seis exclusivamente caprinos (55%). De modo geral as propriedades produtoras de ovinos e caprinos na região sul do Maranhão têm em média 146 hectares (variando de 50 a 421 hectares), distantes aproximadamente 40 km dos centros urbanos e com um rebanho médio de 46 e 51,4 cabeças de ovinos e caprinos, respectivamente, sendo encontrados produtores com rebanhos variando de 15 a 90 cabeças.

Verificou-se que as propriedades que tiveram uma diferenciação expressiva em relação às demais, principalmente, pelas características físicas AF (área da propriedade) e AP (área destinada a pecuária) com maior AF e AP, apresentaram menor relação entre a quantidade de animais por área com 0,14 animais por hectare, mostrando uma subutilização de áreas que poderiam ser melhores trabalhadas para o desenvolvimento da ovinocaprinocultura, resultados que corroboram com os encontrados por Costa et al., (5), com relação à caracterização do sistema de produção da ovinocaprinocultura na região do Cariri Paraibano, ao afirmarem que os produtores de ovinos e caprinos com maior área disponível além de água e área construída nas propriedades são os que mais subutilizam os recursos das propriedades e seus respectivos potenciais.

Aspectos fundamentais foram comuns a todas as propriedades estudadas como a disponibilidade de água doce e provenientes de riachos, apenas uma propriedade possui açude como fonte de reservatório para água. Este fato deve-se a grande riqueza de recursos hídricos do Maranhão que tem como rios principais o rio das Balsas, Gurupi, Itapecuru, Mearim, Parnaíba, Pindaré, Tocantins, Turiaçu (10).

De acordo com Faria et al. (11), em estudo realizado para levantamento do perfil da ovinocaprinocultura desenvolvida no semiárido mineiro, as fontes de água de superfície (rios, córregos, açudes, nascente e minas) eram mais utilizadas no Norte do Estado, enquanto os poços rasos e artesianos mais comuns no Nordeste, corroborando com Alencar et al. (12) que encontraram como principal meio utilizado para captar e reservar a água utilizada na produção de caprinos e ovinos no sertão do estado de Pernambuco os poços e/ou açudes (83% dos produtores).

Foi observada em 90% das propriedades a presença de instalações/aprisco para os animais, sendo deste percentual 80% do tipo “faxina” caracterizada pela construção com varas provenientes de fontes arbóreas da própria propriedade, dentre o principal material utilizado destaca-se as varas de bambu, e apenas 30% permitem divisórias por categoria, mas 40%

permitem práticas veterinárias. Vieira et al. (13) realizando estudos em área semiárida, no município de São Miguel do Tapuio - Piauí, também destacam o uso deste tipo de aprisco.

Outros aspectos comuns, entre as propriedades, foram a participação do núcleo familiar, assim como a falta de qualquer treinamento e assistência técnica voltada à produção de ovinos e caprinos. Segundo Medeiros (14), o cenário da caprinocultura no semiárido nordestino, caracteriza-se dentre diversos fatores pela deficiência de assistência técnica; baixo nível de organização; deficiência de tecnologias para nutrição e acabamento dos animais; inadequação do sistema de manejo e falta de análise econômica nos diversos sistemas de produção. Bandeira (15) afirma que a caprinocultura do Estado da Paraíba apresenta-se com um registro promissor de 93,3% dos produtores que têm acesso à assistência técnica, sendo que 76,8% ocorre semanal ou quinzenalmente.

Aspectos importantes como participação em cooperativas (COOP), associação (ASSO) e financiamento foi mencionado apenas por um produtor dentre os 11 avaliados, indicando reduzido número de produtores com estas práticas organizacionais. Para Costa (16) o Brasil vive um cenário de muitas transformações, no setor de exploração de pequenos ruminantes, entre eles destacam-se a incorporação de novas formas de organização da produção, a articulação entre os produtores com novas formas de cooperação econômica e tecnológica, assim como novos arranjos, contratos e acordos interempresas, como forma de estabelecer uma coordenação técnica das atividades produtivas, para aproveitar as oportunidades de aprendizado e acúmulo de capacitações na interação entre os envolvidos.

Um percentual de 54,5% apresentam características bem relevantes para conhecimento do sistema de exploração da ovinocaprinocultura na região estudada, apresentam ensino fundamental completo, associados a uma exploração mista com a presença também da exploração de bovinos (B) e ovinos (O). Alves (17) observou que um dos entraves para o desenvolvimento da ovinocaprinocultura em algumas regiões do Nordeste, deve-se, além da questão cultural, ao baixo nível educacional dos produtores, que geralmente ocasiona resistência a inovações, insuficiente capacitação técnica, gerencial e capacidade de organização, e conseqüentemente, baixo dinamismo e competitividade. Este grupo apresenta ainda semelhança quanto à residência (RE) em que moram ou na cidade ou na cidade e no campo, associado também ao desenvolvimento de outras atividades (ATIV) não ligadas a caprinocultura, mas sim a atividades desenvolvidas nos centros urbanos. Esses resultados corroboram com Porto et al. (18) ao caracterizarem o perfil de ovinocaprinocultores no centro norte baiano que observaram elevado número de produtores que possuem, além da produção de animais, outra fonte de recursos que também contribuem na renda da propriedade, como: benefícios oriundos do Programa Bolsa Família (37%) e aposentadorias (14%), comerciantes (10%) e funcionários públicos que representaram 15% que dos que mencionaram possuir fonte de renda complementar.

O sistema de manejo da criação tem influência direta no desempenho animal, pois determina o tempo de pastejo, (de acordo com a Tabela 1). Verificou-se variação no tempo de pastejo de 6 a 24 horas, mas o principal sistema de manejo, adotado por 40% dos entrevistados, é o Sistema 2 com um tempo de pastejo de 8 horas diária. Costa et al. (5) verificaram predominância das explorações extensivas, sem uso de técnicas de manejo e praticamente sem nenhuma escrituração zootécnica ao caracterizarem o sistema de produção ovino e caprino no Cariri Paraibano - Brasil. No presente estudo não foi encontrado nenhum produtor que realize a prática de escrituração zootécnica, mas o sistema tradicional representou apenas 10% de utilização (Tabela 1).

Não há separação entre machos e fêmeas, sendo que 40% dos produtores adotam o Sistema 2, com 9 horas de pastejo e caracterizado pelo pastejo no período diurno e estabulação dos animais no período noturno. A exploração de ovinos e caprinos em 100% é destinada para corte (APT), fato este que justifica a não utilização do manejo separado por sexo. Para Alencar et al. (12) a separação dos animais de um rebanho em lotes de acordo com a idade e sexo, no

semiárido do Pernambuco foi de apenas 20,8% dos rebanhos. Os autores afirmam que, além de facilitar o manejo a separação por idade e sexo, também previne ocorrências indesejáveis como coberturas e disseminação de doenças.

Tabela 1. Tipos de manejo de criação adotados para reprodutores e matrizes praticados pelos criadores de ovinos e caprinos na região das Chapadas - MA.

Sistemas de Manejo das Criações	Descrição do sistema	Percentual
Sistema 1	Extensivo característico	10%
Sistema 2	Pastejo das 08:00h as 17:00	40%
Sistema 3	Pastejo das 10:00h as 17:00	20%
Sistema 4	Pastejo das 11:00h as 18:00	20%
Sistema 5	Pastejo das 12:00h as 18:00	10%
	TOTAL GERAL	100%

A tabela 2 apresenta os sistemas de manejo adotado para os animais jovens, em que 60% dos ovinocaprinocultores permanecem com os animais até 20 dias no curral de manejo, tendo estes, acesso a mãe no período noturno e apenas 10% que manejam os animais jovens diretamente com os adultos desde os primeiros dias de vida. Dwyer (19) ao determinarem alguns fatores que causam a mortalidade em pequenos ruminantes que ocorre, principalmente, logo após o parto e pode se estender até o desmame, concluíram que além do consumo insuficiente de colostro, e à hipotermia, está a predação. Dessa maneira, a permanência dos animais no curral de manejo nos primeiros dias de vida pode evitar a mortalidade por predadores e pela utilização de práticas profiláticas para redução de doenças.

Tabela 2. Tipos de manejo de criação para animais jovens praticados pelos criadores de ovinos e caprinos na região das Chapadas - MA.

Sistemas de manejo Criações	Descrição do sistema	Percentual utilizável
Sistema 1	Manejados juntamente com o rebanho adulto desde o 1º dia de vida	10%
Sistema 2	Até 10 dias de vida confinados e acesso a mãe no período noturno e após juntamente com o rebanho adulto	20%
Sistema 3	Até 15 a 20 dias de vida confinados e acesso a mãe no período noturno e após juntamente com os adultos	60%
Sistema 4	Até 30 dias de vida confinados e acesso a mãe no período noturno e após juntamente com o rebanho adulto	10%
	TOTAL GERAL	100%

Com relação à base da alimentação volumosa dos ovinos e caprinos encontrou-se a utilização do pastejo direto em pasto nativo ou pasto nativo associado ao pasto cultivado com percentuais de 10 e 90%, respectivamente. A utilização das pastagens cultivadas, devido à alta produção obtida, permite a menor utilização dos pastos nativos (20).

Apenas 20% afirmaram utilizar o feno e 10% a silagem na alimentação dos seus animais, embora a fenação e a silagem sejam processos simples de conservação de alimentos, podendo ser fornecidos aos animais quando da indisponibilidade de pasto nativo ou cultivado, bem como do concentrado, práticas ainda pouco utilizadas.

Analisando o percentual de caprinocultores que utilizam suplementação alimentar, verificamos que 70% destes fazem uso do concentrado ou suplemento volumoso. Os principais

alimentos concentrados utilizados pelos produtores são: palhada de arroz/cuíim; milho moído; farelo de Soja; mandioca; feijão, milho moído e milho com sabugo desintegrado. De acordo com Lima et al. (20) os concentrados possuem de 85 a 95% de MS e a sua fração energética compreende o amido, os açúcares mais simples e as gorduras, apresentando em geral mais de 65% de NDT. Eles podem ser divididos em concentrados protéicos e energéticos, quando possuem quantidade maior ou menor que 20% de proteína, respectivamente. Os alimentos protéicos compreendem os farelos e farinhas de cereais (com 20 a 30% de proteínas). Em geral, são usados os coprodutos das agroindústrias e da extração de óleo comestível.

Dos ovinocaprinocultores entrevistados nenhum indicou o oferecimento com base na categoria animal, responderam apenas que fornecem a vontade ou em quantidade estabelecida aleatoriamente sem qualquer base de referência nutricional, corroborando com Costa et al. (5) ao afirmarem que apesar da utilização de concentrados pelos produtores, seu uso consiste apenas no fornecimento de concentrados prontos sendo, geralmente, cada ingrediente fornecido isoladamente, sem maiores preocupações com o atendimento das exigências nutricionais por categoria (animais em fases de crescimento, lactação, reprodução, etc.).

Dos caprinocultores, 100% dos entrevistados afirmaram que fornecem sal mineral aos animais, sendo em torno de 80% do sal mineral fornecido, constituído de uma mistura de sal comum com núcleos comerciais prontos misturados na própria propriedade; 10% para sal mineral comprado pronto e 10% apenas fornecem sal comum. Os minerais são imprescindíveis para os animais por participarem como componentes estruturais dos tecidos, por atuarem nos fluidos corporais como eletrólitos para manutenção do equilíbrio ácido-básico, da pressão osmótica e da permeabilidade das membranas celulares (21).

Verificou-se neste trabalho que como categoria há apenas uma fase de alimentação “fase longa” que caracteriza o sistema de alimentação e quatro tipos de sequências de fases (Figura 1), predominando a sequência B representada pela utilização do pasto (nativo ou nativo+cultivado) com suplementação (concentrado e/ou volumoso), esta sequência é realizada por 64% dos produtores.

As sequências A e D que juntas representam apenas 18% de utilização são aquelas representadas pela ausência de alterações no manejo alimentar evidenciando que há pouca reatividade do produtor, ponto importante a ser destacado no sistema de alimentação, pois esta reatividade segundo Roehsig (22) indica a frequência e intensidade de alteração nas práticas de alimentação, ou seja, qual o momento em que o indivíduo irá começar a agir frente a um problema. Sistemas produtivos pouco reativos são caracterizados pela ausência de planejamento estratégico no uso de suplementação, seja esta volumosa ou concentrada, e que contribuem para a baixa produtividade dos rebanhos caracterizando-os como sistemas típicos de exploração sem ou com baixo nível tecnológico e ao mesmo tempo sistemas mais reativos demonstram maior nível de planejamento estratégico, mas vale ressaltar que neste trabalho ainda foram encontrados diversos vários entraves no sistema de alimentação dentre eles o fornecimento de concentrado sem considerar nenhum aspecto nutricional como mencionado anteriormente.

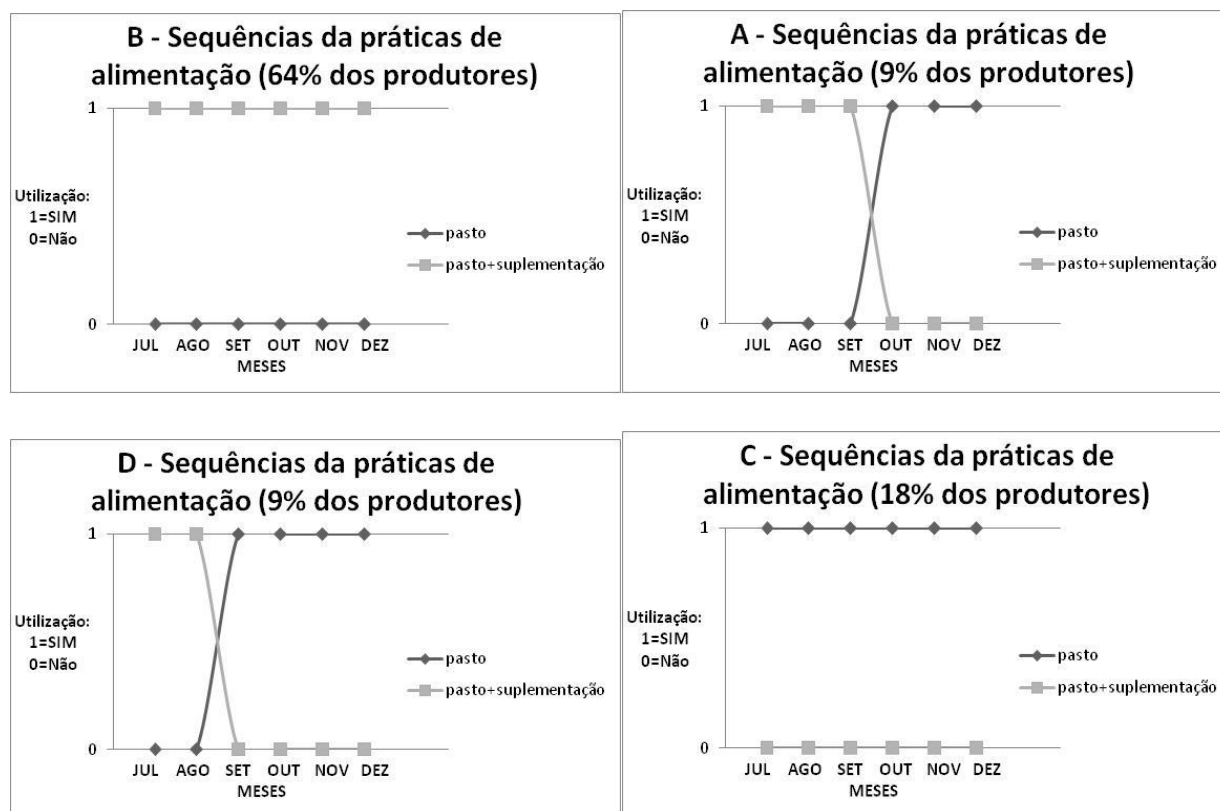


Figura 1. Tipos de sequências das práticas de alimentação, com base na fonte principal de alimento, em propriedades que exploram a ovinocaprinocultura na região das Chapadas - MA. A = sequência que utiliza o pasto (nativo ou nativo+cultivado) com transição para pasto com suplementação (Supl.); B = sequência que utiliza apenas o pasto (nativo ou nativo+cultivado) com suplementação (Supl.); C = sequência que utiliza apenas o pasto (nativo ou nativo+cultivado); D = sequência que utiliza o pasto (nativo ou nativo+cultivado) com suplementação (Supl.) e com transição para apenas o pasto.

Ainda na Figura 1 observa-se que estes problemas acontecem principalmente no mês de setembro, seja em sua proximidade ou distanciamento, mês que inicia o processo de queda na disponibilidade de forragem corroborando com as afirmações dos entrevistados os quais afirmam que os principais fatores que interferem na mudança do sistema de alimentação são os fatores climáticos associados à disponibilidade ou indisponibilidade de pastagem, seja ela nativa ou cultivada. Além disso, a indisponibilidade de grãos, em alguns casos produzidos na propriedade e o preço dos alimentos concentrados está entre os mais citados como agentes que interferiram nos seus graus de reatividade.

CONCLUSÃO

O sistema de produção de ovinos e caprinos na região sul do estado do Maranhão apresenta características típicas desta exploração comuns na região nordeste, sendo desenvolvida como atividade de subsistência, com demanda de assistência técnica especializada e com baixo nível tecnológico do ponto de vista nutricional.

A base alimentar dos ovinos e caprinos consiste no pasto nativo associado ao pasto cultivado com fornecimento de concentrado sem considerar os aspectos nutricionais, sendo influenciados pelos aspectos climáticos e de mercado (disponibilidade e preço).

REFERÊNCIAS

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estatísticas sobre pecuária, rebanho e produção [Internet]. Rio de Janeiro: IBGE; 2009 [cited 2016 Jan 9]. Available from: www.sidra.ibge.gov.br.
2. Gonçalves AL, Lana RP, Vieira RAM, Henrique DS, Mancio AB, Pereira JC. Avaliação de sistemas de produção de caprinos leiteiros na região sudeste do Brasil. *Rev Bras Zootec*. 2008;37:366-76.
3. Ingrand S, Cournut S, Dedieu B, Antheaume F. La conduite de la reproduction du troupeau de vaches allaitantes: modélisation des prises de decision. *INRA Prod Anim*. 2003;16:261-8.
4. Cournut S. Le fonctionnement des systèmes biologiques pilotés: simulation à événements discrets d'un troupeau ovin conduit en 3 agnelages en 2 ans [these]. Lyon: University Claude Bernard; 2001.
5. Costa RG, Almeida CC, Pimenta Filho EC, Holanda Junior EV, Santos NM. Caracterização do sistema de produção caprino e ovino na região semi-árida do estado da Paraíba, Brasil. *Arch Zootec*. 2008;57:195-205.
6. Leal MP. Novo zoneamento do estado do Maranhão. São Luís: SUDEMA; 1972.
7. Embrapa. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. Levantamento exploratório: reconhecimento de solos do estado do Maranhão. Rio de Janeiro: Embrapa/SNLCS; 1986. v. 2. (Boletim de pesquisa; nº 35).
8. Secretaria de Planejamento (Maranhão). Marco de referência do programa: as áreas de intervenção. São Luís; 1984.
9. Damasceno JC, Macombe C, Moinet MH, Pailleux JY, Cournut S, Dedieu B. Ver des projets d'élevage raisonnés en commun? Analyse de 12 démarches de commercialisation associant de petits groupes d'élevage laitiers. In: Procédures dans 12èmes Rencontres Recherches Ruminants; Paris; 2005. Paris; 2005. p.212.
10. Francisco WCE. Aspectos Naturais do Maranhão [Internet]. Brasil Escola; 2016 [cited 2016 Jun 10]. Available from: <http://brasilecola.uol.com.br/brasil/aspectos-naturais-maranhao.htm>
11. Faria GA, Morais OR, Guimarães PHS. Análise da ovinocaprinocultura no Norte e Nordeste de Minas Gerais. Belo Horizonte: SEBRAE-MG, FAEMG, EMATER; 2004.
12. Alencar SP, Mota RA, Coelho MCOC, Nascimento SA, Abreu SRO, Castro RS. Perfil sanitário dos rebanhos caprinos e ovinos no sertão de Pernambuco. *Cienc Anim Bras*. 2010;11:131-40.
13. Vieira FJ, Santos LGP, Barros RFM, Araújo JLL. Quilombola of macacos community, São Miguel do Tapuio City, Piauí State: history, use and conservation of plant resources. *Funct Ecosystems Communities*. 2008;2:81-7.

14. Medeiros JX. Situação atual das cadeias produtivas. Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Coordenação Geral de Programa de Pesquisa em Agropecuária e Biotecnologia; 2001. (Reunião técnica. Apoio à cadeia produtiva da ovinocaprinocultura brasileira- relatório final).
15. Bandeira DA. 2005. Características sanitárias e de produção da caprinocultura nas microrregiões do Cariri do Estado da Paraíba [tese]. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco; 2005.
16. Costa AD. Nível tecnológico, rentabilidade e cadeia produtiva da ovinocaprinocultura de corte no Estado do Ceará [dissertação]. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará; 2007.
17. Alves LR. APL da caprinovinocultura da região central de Cabugi do Rio Grande do Norte [trabalho de conclusão de curso]. Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2005.
18. Porto LLMA, Salum WB, Alves C. Caracterização da ovinocaprinocultura de corte na região do Centro Norte Baiano. *Rev Bras Gest Desenvol Reg.* 2013;9:281-96.
19. Dwyer CM. Genetic and physiological determinants of maternal behavior and lamb survival: implications for low-input sheep management. *J Anim Sci.* 2008;86:259-70.
20. Lima GFC, Silva JGM, Nobre FV, Barreto HFM. Produção estratégica de alimentos para a pecuária familiar no semiárido: alternativas para a formulação de rações na própria fazenda. Natal: EMPARN; 2009.
21. Underwood EJ, Suttle NF. The mineral nutrition of livestock. 3th ed. Midlothian: CABI; 1999.
22. Roehsig L. 2006. Análise das estratégias de alimentação de vacas leiteiras a partir das práticas adotadas pelo produtor [dissertação]. Maringá: Universidade Estadual de Maringá; 2006.

Recebido em: 17/09/2016

Aceito em: 28/05/2017

UTILIZAÇÃO DA ULTRASSONOGRAFIA TRANSABDOMINAL PARA AUXILIO PROPEDEÚTICO EM EQUINOS COM SÍNDROME CÓLICA: RELATO DE CASOS

Carlos Henrique do Amaral¹
Daniel Capucho de Oliveira¹
Peterson Triches Dornbush²
Ivan Deconto³
Tilde Rodrigues Froes³

RESUMO

O abdome agudo na espécie equina é considerado uma emergência, sendo de grande importância a determinação precoce da necessidade ou não da intervenção cirúrgica como medida terapêutica. Os objetivos dessa descrição de casos foram: identificar quais os achados ultrassonográficos (US) que auxiliam na determinação do paciente clínico ou cirúrgico, qual a possibilidade de identificação da causa da cólica e expor as dificuldades de execução da técnica. Foi realizado um estudo prospectivo observacional para análise ultrassonográfica transabdominal em 16 equinos com sinais de dor abdominal aguda. Um aparelho portátil de alta resolução, acoplado a um transdutor convexo multifrequencial de 2,5 a 5,0 MHz foi utilizado. Como resultados verificou-se que o exame US transabdominal contribuiu para a determinação da conduta a ser adotada em todos os casos. Propiciando o diagnóstico final, detectando achados sugestivos de processo obstrutivo ou descartando-o. Os achados importantes para tomada de decisão e que indicam processo obstrutivo foram: a identificação de anormalidades na topografia intestinal, alterações de motilidade e grau de distensão intestinal, principalmente em intestino delgado, alterações no conteúdo intraluminal e em alguns casos do espessamento de parede intestinal. A atitude do animal em resposta a dor, como agitação/excitação, tremores musculares e eventualmente o tipo de conteúdo intraluminal são alguns fatores que podem prejudicar a análise. Concluiu-se que o exame US transabdominal auxilia na determinação da próxima conduta a ser adotada, cirúrgica ou clínico dos animais com síndrome cólica.

Palavras-chave: abdome agudo, processos obstrutivos, diagnóstico ultrassonográfico.

USING TRANSABDOMINAL ULTRASOUND AS SUPPORT DIAGNOSIS IN EQUINE WITH COLIC SYNDROME: CASES REPORTS

ABSTRACT

The acute abdomen in the equine species is considered an emergency. In these cases, it is of great importance the early determination of whether or not a surgical intervention is needed. The aims of this cases descriptions were to identify which sonographic findings help to differ the clinical or surgical patient, to define which lesions can be diagnosed sonographically and to determine the difficulties of the exam. A cross-sectional study was conducted. Sixteen horses with signs of acute abdominal pain were evaluated by means of transabdominal ultrasonography. Ultrasound examination was performed using a portatil high resolution machine with a 2.5 to 5,0MHz, multifrequencial convex probe. All abdominal cavity was examined using the starndart ultrasound techninque previous reported. Ultrasound contributed to determine the therapeutic approach in all cases, helping in final diagnosis, and detecting findings of gastrointestinal obstructive process or excluded. The mainly findings in detecting

¹ Mestre pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias – UFPR.

² Prof. Adjunto Departamento de Medicina Veterinária – UFPR.

³ Prof(a). Associado. Departamento de Medicina Veterinária – UFPR.

obstructive intestinal process are abnormalities in intestinal topography, pattern of motility and diameter distension, predominantly in small intestine, different intraluminal content and in some cases thickening of intestinal wall. The attitude of the animal in response to pain, agitation/excitement, muscle trembling and sometimes changes in the type of intraluminal content, were factors that interfered in the images. We concluded that transabdominal ultrasonography can assist in determining the next conduct to be adopted, surgical or clinical therapeutics in horses with colic syndrome.

Keywords: acute abdomen, obstructive processes, sonographic diagnosis.

USO DEL ULTRASONIDO TRANSABDOMINAL COMO APOYO DIAGNÓSTICO EN EQUINOS CON SÍNDROME CÓLICO: SÉRIE DE 16 CASOS

RESUMEN

El abdomen agudo en la especie equina se considera una emergencia y en esos casos es de gran importancia determinar precozmente si una intervención quirúrgica será necesaria o no. Los objetivos al describir esta serie de casos fueron: identificar los hallazgos ultrasonográficos importantes para determinar si los casos eran clínicos o quirúrgicos; verificar la posibilidad de identificar la causa del cólico; y exponer las dificultades al realizar el examen ultrasonográfico en esos casos. De forma prospectiva, fueron incluidos 16 equinos con signos de dolor abdominal agudo. Para el examen ultrasonográfico transabdominal (USTA) fue usado un transductor convexo multifrecuencial de 2,5 a 5,0 MHz acoplado a un ecografo portátil de alta resolución. Fue verificado que el USTA contribuyó para determinar la conducta a ser adoptada en todos los casos; permitió llegar a un diagnóstico final; y permitió detectar hallazgos sugestivos de proceso obstructivo e descartar obstrucción. Los hallazgos importantes para tomar decisiones y que indicaron procesos obstructivos fueron: identificación de anomalías en la topografía intestinal, alteraciones de motilidad y distensión intestinal, principalmente en intestino delgado, alteraciones en el contenido intraluminal y, en algunos casos, espesamiento de la pared intestinal. La actitud del animal en respuesta al dolor, como agitación/excitación, temblores musculares y, eventualmente, el tipo de contenido intraluminal, son algunos factores que pueden perjudicar el examen. Concluimos que el USTA auxilia a determinar si la próxima conducta a ser adoptada en equinos con síndrome cólica será clínica o quirúrgica.

Palabras-clave: Abdomen agudo, procesos obstructivos, diagnóstico ultrasonográfico.

INTRODUÇÃO

A síndrome cólica é caracterizada por dor abdominal aguda e pode ser resultado de qualquer alteração abdominal seja ela de origem no trato gastrointestinal ou não, apresentando alta taxa de mortalidade na espécie equina (1). A cólica na espécie equina é considerada emergência, sendo assim, é importante determinar a necessidade ou não de um procedimento cirúrgico como método terapêutico. A decisão pode ser tomada mais facilmente quando se tem um diagnóstico da causa da cólica; no entanto, o diagnóstico específico nem sempre é possível e a utilização de sinais clínicos inespecíficos é muitas vezes necessária para se tomar a decisão (2).

Baseado na anamnese, sinais clínicos e exame físico, os cavalos com cólica são usualmente divididos em dois grupos, clínico ou cirúrgico, e tal classificação reflete a opção terapêutica imediata do paciente (1,3). A literatura recente descreve o exame ultrasonográfico abdominal como mais uma opção no manejo emergencial do paciente com síndrome cólica, sendo um protocolo de avaliação rápido e não-invasivo (3,4,5).

A literatura reconhece a utilidade da ultrassonografia transabdominal em casos de cólica (3,4,5), sabe-se que a sensibilidade da técnica não é muito alta para a determinação do diagnóstico final. A importância do exame ultrassonográfico reside então na detecção de alterações que suportem a melhor decisão terapêutica para o paciente (3,6).

Os objetivos desse estudo foram: avaliar quais os achados ultrassonográficos que auxiliam na diferenciação do paciente clínico ou cirúrgico. Verificar como a ultrassonografia auxilia na identificação da localização da lesão nas diferentes porções do trato gastrointestinal e descrever as principais dificuldades da realização e interpretação do exame nesses animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo prospectivo observacional conduzido de entre maio de 2012 e setembro de 2013. Os critérios de inclusão foram: equinos de qualquer raça, porte ou idade, apresentando quadro de dor abdominal encaminhados para o serviço de grandes animais do Hospital Veterinário - UFPR. Foram excluídos do estudo animais que não permitiram a realização do exame ultrassonográfico de forma completa, quer seja por dor severa, inquietação e difícil contenção (mesmo com o auxílio do tronco); ou ainda cavalos nos quais não foi determinado o diagnóstico final.

O diagnóstico final foi obtido por meio de laparotomia exploratória nos casos cirúrgicos e melhora dos sinais clínicos apresentados após terapia medicamentosa (sendo esses acompanhados por uma semana) ou exame necroscópico.

Para realização dos exames foi utilizado o aparelho de ultrassonografia portátil Esaote Mylab 30 equipado com transdutor convexo 2,5-5,0 MHz. O transdutor era multifrequencial sendo que durante o exame ajustava-se a melhor frequência, ganho, profundidade e zona de foco para otimizar a qualidade da imagem, de acordo com a estrutura que estava sendo avaliada e o porte do animal. A obtenção das imagens foi realizada por um único observador, esse com treinamento prévio para realização do exame ultrassonográfico em equinos e também para atendimento dos casos de cólica. Para tal, o pelo dos animais foi molhado com álcool.

As avaliações ultrassonográficas seguiram como referencia topográfica e análise das estruturas o método sugerido por Amaral e Froes (7). As estruturas identificadas nas diferentes janelas ultrassonográficas previamente estabelecidas foram: estômago, intestino delgado (ID) e intestino grosso (IG): cólon maior (ventral direito, ventral esquerdo, dorsal esquerdo e dorsal direito). As características do trato gastrointestinal avaliadas foram: diâmetro/ grau de distensão, característica do conteúdo intraluminal, motilidade (ausente, normal, hipomotilidade ou hiperomotilidade), progressão da ingesta (motilidade progressiva ou não progressiva), espessura da parede e alterações topográficas baseadas nas janelas ultrassonográficas indicadas por Amaral e Froes (7). Buscou-se ainda a identificação dos rins. A pesquisa de líquido livre também foi realizada, sendo avaliada quantidade (visualizado em janelas não habituais), característica ecográfica: anecóico, hipocóico ou hiperecóico, bem como a presença ou ausência de ecos puntiformes ou lineares flutuantes no líquido livre.

RESULTADOS

Dos 16 animais avaliados ultrassonograficamente, dois receberam tratamento clínico e 14 receberam tratamento cirúrgico. As causas de cólicas após a elucidação diagnóstica dos 16 animais, o método diagnóstico, as principais características ecográficas e a utilidade da ultrassonografia para esses casos estão dispostos na Tabela 1. Não foi possível completar a avaliação ultrassonográfica em três equinos por motivo de agitação/excitabilidade, os quais foram excluídos.

Tabela 1. Descrição da etiologia, da forma de contribuição diagnóstica da ultrassonografia transabdominal, das principais características ultrassonográficas e do método de elucidação diagnóstica dos 16 cavalos do estudo.

Método terapêutico	N.	Contribuição US	Característica US	Forma elucidação
<i>Cirúrgico</i>				
CE§ em cólon maior	1	P e D	Identificação do CE *	Laparotomia
CE§ em cólon menor	2	P	Sinais de obstrução +	Laparotomia
Ruptura Intestinal	2	P e D	Grande quantidade de LP ecogênico e heterogêneo	Necrópsia
Destroflexão cólon maior	1	P	Sinais de obstrução +	Laparotomia
Compactação cólon maior	6	P	Sinais de obstrução +	Laparotomia
Vólvulo intestinal	1	P e D	Espessamento de alça, atonia e dilatação anecóica. Grande quantidade de LP	Laparotomia
Torção de cólon	1	P e D	Espessamento da parede de cólon, dilatação fluida intraluminal	Laparotomia
<i>Total</i>	14			
<i>Não cirúrgico</i>				
Sobrecarga gástrica	2	P	Exclusão de sinais de obstrução	Acompanhamento
<i>Total</i>	16			

LEGENDA: CE§ Corpo estranho. P e D (positiva e diagnóstica): auxiliou na indicação da cirurgia e elucidação da causa; P: auxiliou na indicação ou não da laparotomia; *Imagem ultrassonográfica característica de estrutura hiperecólica produtora de forte sombreamento acústico posterior. + Sinais de obstrução do TGI sem comprometimento vascular: alças de intestino delgado distendidas (mais que o normal) visualizadas em topografia não habitual (deslocadas cranialmente e/ou dorsalmente), com distúrbio importante da motilidade (hipomotilidade, atonia ou hipomotilidade sem progressão do conteúdo) e conteúdo hipoecogênico a anecóico.

As características ultrassonográficas das alterações específicas do intestino delgado e grosso (ID e IG) como alterações de motilidade, grau de distensão, característica do conteúdo intraluminal para as diferentes enfermidades diagnosticadas estão representadas na Tabela 2. Pode-se notar que a motilidade do intestino delgado (ID) é mais variável, sendo identificados padrões de hipomotilidade, hiperomotilidade não progressiva e atonia. Somente em um animal (1/16) a motilidade de ID estava normal, sendo que nesse caso a causa de cólica foi sobrecarga gástrica.

Tabela 2. Descrição das características ultrassonográficas como motilidade, grau de distensão e característica do conteúdo intraluminal (ID e IG) correlacionados as causas de cólicas diagnosticadas, dos 16 cavalos do estudo.

Diagnóstico (16)	Motilidade ID	Motilidade IG	Grau de distensão ID	Conteúdo Intraluminal ID
<i>CE em CMa</i>	Hipomotilidade	Hipomotilidade	Aumentado	Anecóico com EF
<i>CE em CMe</i>	Hipermotilidade NP	Hipomotilidade	Normal	Anecóico com EF
<i>CE em CMe</i>	Hipomotilidade	Hipomotilidade	Aumentado	Anecóico com EF
<i>Ruptura de reto</i>	Hipomotilidade	Atonia	Normal	Anecóico com EF
<i>Ruptura de flexura pélvica</i>	Hipomotilidade	Hipomotilidade	Normal	Hipoecóico
<i>Destroflexão de CMa</i>	Hipomotilidade NP	Hipomotilidade	Normal	Hipoecóico e anecóico com EF
<i>Compactação de CMa- CDD</i>	Hipermotilidade NP	Hipomotilidade	Normal	Hipoecóico
<i>Compactação de CMa - CDD</i>	Atonia	Hipomotilidade	Normal	Anecóico com EF
<i>Compactação de CMa - CDD/CT</i>	Atonia	Hipomotilidade	Aumentado	Anecóico
<i>Compactação de CMa -CDD/CT</i>	Atonia	Hipomotilidade	Aumentado	Anecóico
<i>CMa -Compactação de flexura pélvica</i>	Hipermotilidade NP	Hipomotilidade	Aumentado	Anecóico com EF
<i>CMa Compactação de flexura pélvica</i>	Hipermotilidade	Hipomotilidade	Normal	Hipoecóico
<i>Vólvulo de ID</i>	Atonia	Hipomotilidade/ Atonia	Aumentado	Hipoecóico
<i>Torção de CMa</i>	Hipomotilidade	Hipomotilidade	Aumentado	Anecóico com EF
<i>Sobrecarga gástrica</i>	Hipomotilidade	Hipomotilidade	Normal	Hiperecóico
<i>Sobrecarga gástrica</i>	Normal	Hipermotilidade *	Normal	Hiperecóico

LEGENDA: CE - corpo estranho; CMa - cólon maior; CMe - cólon menor; CVD - cólon ventral direito; CDD - cólon dorsal direito; CT - cólon transversal; CVD - cólon ventral direito; ID - intestino delgado; IG - intestino grosso. NP – Não progressiva; EF – Ecos flutuantes; *Administração de medicação laxante.

A motilidade do intestino grosso (IG) em suas diferentes porções apresentou-se alterada em todos os pacientes, tendo como característica predominante a hipomotilidade. A hipomotilidade associada à atonia (em algumas regiões) foi verificada em dois animais (2/16), um deles apresentando ruptura de reto e o outro vólvulo do ID. A hipermotilidade do IG foi identificada em somente um animal (1/16), o qual teve o diagnóstico final de sobrecarga gástrica.

Quanto ao grau de distensão do ID verificou-se que em sete animais as alças estavam distendidas, em nove as alças estavam com distensão dentro dos padrões de normalidade

(Tabela 2). Um dado que foi interpretado paralelamente ao grau de distensão foi o tipo de conteúdo intraluminal do ID. Para esse dado ultrassonográfico ressalta-se que o padrão de normalidade ecogênico só foi identificado nos casos de sobrecarga gástrica (2/16), os quais também apresentavam motilidade normal. Nos demais pacientes (14/16) nos quais a causa de dor abdominal foi quadro obstrutivo, o conteúdo aparentava hipocóico ou anecóico com ecos flutuantes (Figura 1).

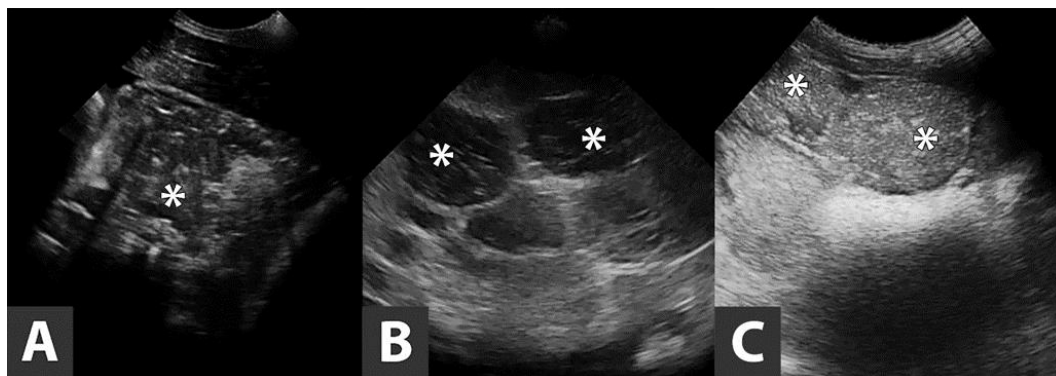


Figura 1. Diferentes conteúdos em alça de intestino delgado de equinos. Imagens realizadas na janela ultrassonográfica cinco (7). A- Alça de intestino delgado com conteúdo mucoso/gasoso e contraída (asterisco). B- Segmentos de alças de intestino delgado em corte transversal com conteúdo anecóico com ecos puntiformes em suspensão (asteriscos) caracterizando processo obstrutivo mais longo em tempo de ocorrência. C- Alças de intestino delgado em corte transversal com conteúdo hiperecótico (asteriscos) de um animal saudável.

Em relação à avaliação ultrassonográfica da parede intestinal em apenas quatro pacientes foi observado espessamento da parede do intestino em diferentes segmentos: dois no IG (corpo estranho em cólon maior e torção de cólon maior), um em ID (vólvulo de intestino delgado) e um com espessamento em ID e IG (ruptura intestinal – de reto).

Em todos os animais foi possível a identificação do estômago. Apenas dois animais apresentaram a distensão gástrica além dos padrões de normalidade, com o estômago sendo identificado em sete espaços intercostais (EIC) (7). O diagnóstico final desses pacientes foi sobrecarga gástrica e compactação de cólon maior. O rim direito foi visualizado em todos os animais. Já o rim esquerdo não foi visualizado em três dos 16 animais.

O líquido peritoneal foi identificado em oito dos 16 animais (50%). Sendo que as janelas ultrassonográficas nas quais foram frequentemente visualizados foram as janelas 5, 6 e 9 citadas por Amaral e Froes (7), respectivamente 40%, 33,3% e 20%. O líquido apresentava característica anecóica em seis dos animais, e nos pacientes que apresentaram ruptura do trato gastrointestinal (2/16), foi possível identificar estruturas ecogênicas livres (conteúdo alimentar) como mostrado na Figura 2.

Destaca-se entre os achados ultrassonográficos a alteração topográfica das estruturas abdominais, observada em 11 dos 16 animais. As alterações topográficas são detectadas quando uma estrutura é identificada em uma janela ultrassonográfica não habitual. A Tabela 3 demonstra o tipo e as frequência desses deslocamentos. Dos cinco pacientes em que pelo exame ultrassonográfico não foi constatado alteração topográfica, dois casos foram de sobrecarga gástrica, dois de ruptura intestinal e um caso de destroflexão de cólon maior.

Tabela 3. Descrição das alterações topográficas detectadas nos casos de cólica atendidos (16) baseados nos padrões de normalidade pré-estabelecidos das janelas por Amaral e Froes (7) para avaliação ultrassonográfica transabdominal de equinos.

Janela Ultrassonográfica	Frequência	Descrição da alteração
1*	20% (4/16)	Visualização de alças de ID
2	20% (3/16)	Não visualização do rim esquerdo
5	46,67% (8/16)	Visualização vesícula urinária
6*	33,33% (6/16)	Visualização de alças de ID
9	33,33% (5/16)	Visualização da vesícula urinária

*Regiões de predileção para detecção de alteração topográfica das alças de intestino delgado.

O ID foi passível de visualização em todos os animais avaliados. As alterações de conteúdo e motilidade do intestino delgado foram mais facilmente observadas nas janelas 4, 5 e 9 denominadas por Amaral e Froes (7), sendo que em 81,25% dos animais (13/16) foi possível observar alterações nessas regiões, as quais estão descritas na Tabela 2. Nos dois casos de compactação da flexura pélvica foi possível observar que as alças de ID estavam deslocadas para as regiões 1, 6 e 9 sendo visualizadas em pequena quantidade na região 5 (7).

Dos 16 animais avaliados, três apresentaram quadro de obstrução secundária a ingestão de corpo estranho (sacolas plásticas). Em um foi possível a detecção de corpo estranho localizado no cólon ventral direito, identificado como uma estrutura contínua de superfície hiperecótica e irregular produtora de forte sombreamento acústico posterior (Figura 3)

Como dificuldades percebidas durante a execução do exame verificaram-se: a movimentação/inquietação do animal (mesmo estando contido adequadamente no tronco), frequência respiratória elevada e tremores musculares. Alguns desses fatores dificultaram a avaliação ultrassonográfica dos pacientes e foram os responsáveis pela não conclusão do exame em três animais (e conseqüentemente foram excluídos).

Outra dificuldade encontrada durante a interpretação das imagens ultrassonográficas diz respeito ao reconhecimento de qual estrutura está sendo visualizada quando a mesma não apresenta seu aspecto normal. O principal exemplo é a dificuldade de diferenciação entre o cólon e as alças de ID nos casos de cólica em que havia acúmulo de fluido no intestino grosso (Figura 4).

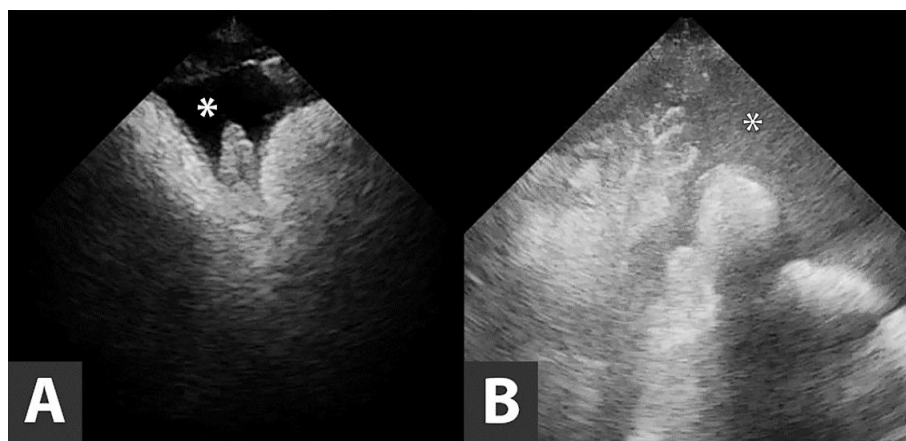


Figura 2. Característica ultrassonográfica do líquido peritoneal em equinos (com abdome agudo) com e sem ruptura do trato gastrointestinal. Imagens realizadas na porção ventral do abdome. A- líquido peritoneal de característica anecótica visibilizado entre as saculações do cólon ventral (asterisco). B- Líquido peritoneal em grande quantidade de característica ecogênica heterogênea em um caso de ruptura (asterisco).

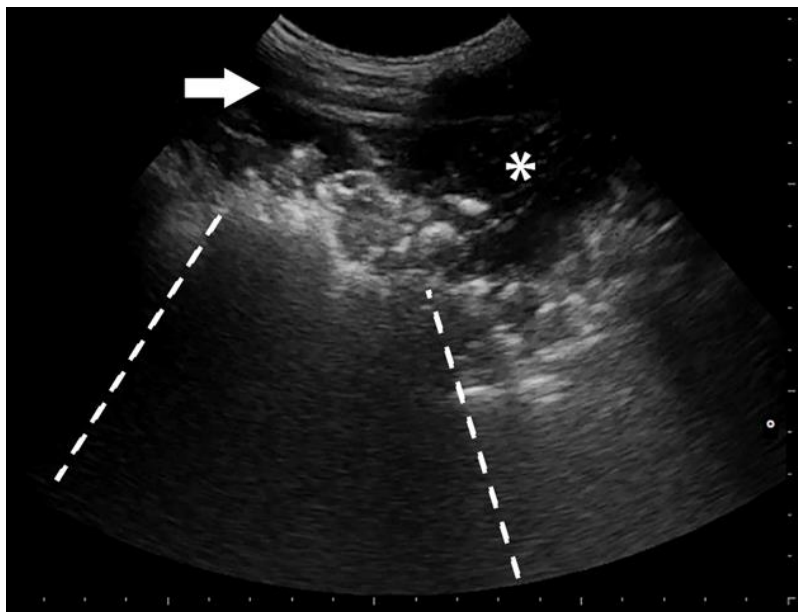


Figura 3. Identificação de corpo estranho em cólon ventral direito em equino com síndrome cólica. Parede intestinal (seta branca), presença de conteúdo líquido anecóico (asterisco), visualização de corpo estranho irregular (sacola), formador de sombra acústica posterior (tracejado).

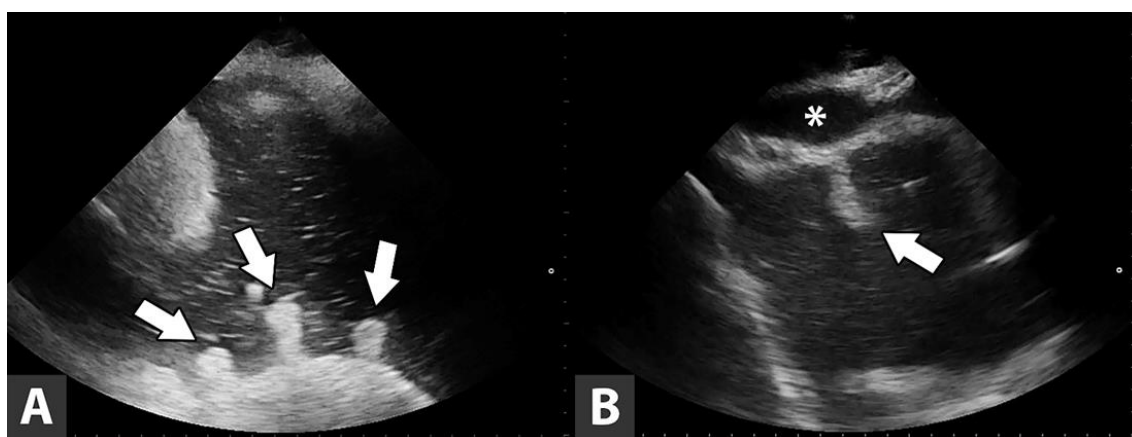


Figura 4. Visualização de cólon ventral direito com conteúdo líquido em seu interior em equino com abdome agudo. A –Identificação das pregas da parede do cólon (setas brancas) o que auxilia na diferenciação do intestino delgado. B- Características da saculações do cólon ventral (seta branca) e fluido intraluminal (asterisco).

DISCUSSÃO

A ultrassonografia transabdominal em equinos é mais uma ferramenta a ser utilizada como método diagnóstico em casos de cólica (3,4,8). Percebe-se com esses casos, assim como em outros estudos, que a técnica não é sempre capaz de assegurar a conclusão diagnóstica quanto à etiologia do problema, porém auxilia com informações que ajudam na decisão da próxima conduta diagnóstica e terapêutica a ser adotada. Importante salientar que esse é um papel fundamental das modalidades imagiológicas, que muitas vezes devem ser utilizadas dessa maneira, com o intuito principal de se adotar planejamentos diagnósticos e terapêuticos futuros, e não somente como método que irá elucidar o diagnóstico final (4,6,8,9).

Dos casos cirúrgicos, 12 foram quadros obstrutivos. Nesses pacientes os achados ultrassonográficos mais significativos foram dilatação intraluminal do intestino delgado, alteração no padrão de motilidade e eventualmente espessamentos da parede do trato gastrointestinal. Pode-se notar que mesmo nos casos de obstruções intestinais (7/12), a dilatação

intraluminal intestinal como achado isolado deve ser interpretado com cautela, nunca devendo ser interpretado de forma isolada. O tempo do processo obstrutivo e a sua gravidade determinam a quantidade de retenção fluida que gera a distensão intraluminal. Esse fator já foi discutido em pequenos animais com obstruções no intestino delgado, sendo necessárias mais de 24 horas de obstrução para que ocorra um aumento significativo de conteúdo intraluminal, ressalta-se que essa comparação deve ser feita com cautela devido as diferenças entre espécies (10,11).

O grau de distensão intestinal é considerado por alguns autores (8) como fator preditivo para alterações presentes no intestino delgado. Porém, esse tipo de alteração também pode ocorrer secundário a alterações presentes no intestino grosso (3), assim como observado em seis dos 16 casos aqui apresentados, os quais se tratavam de alterações obstrutivas do cólon maior e cólon menor. Nesses pacientes a distensão do intestino delgado é resultado da compressão externa pelo cólon deslocado/distendido, impossibilitando a evolução aboral do conteúdo intestinal (12).

Outro achado ultrassonográfico em alguns dos cavalos com obstrução intestinal foi a alteração topográfica de alças de intestino delgado (Tabela 3), causando a visualização de segmentos intestinais em regiões que esses não são habitualmente encontrados. Para que possamos identificar essa alteração é necessário conhecer as regiões nas quais cada órgão deve ser visibilizado, o que se torna mais fácil realizando o exame ultrassonográfico de maneira sistemática (7).

Baseado no padrão pré-determinado (7), nas janelas ultrassonográficas 1 e 6 não é comum a identificação de alças de intestino delgado (7), porém as mesmas foram identificadas nessas janelas em oito pacientes com quadros obstrutivos aqui apresentados. O deslocamento de delgado foi mais marcante nos casos de compactação da flexura pélvica (2/16). Tais alterações topográficas provavelmente decorrem da grande distensão da flexura pélvica que se situa na porção caudoventral do abdome esquerdo e conseqüentemente desloca o intestino delgado cranialmente. Esse fator contribuiu para maior dificuldade de visualização do intestino delgado na janela ultrassonográfica 5, na qual geralmente as alças são visíveis (7).

Outra característica importante observada nas obstruções do TGI foi a alteração de motilidade (Tabela 2), podendo estar aumentada ou reduzida nas porções de intestino delgado ou grosso. Apesar da hiperomotilidade ou hipomotilidade ser evidenciada nos casos obstrutivos, não se pode esquecer que outras doenças podem gerar essas alterações, como as sobrecargas gástricas, enterites e colites (1,10,13), portanto essa característica também não deve ser interpretada de forma isolada.

A hiperomotilidade é um sinal mais específico quando não se tem progressão do conteúdo intestinal, sendo um alerta para a pesquisa de processos obstrutivos. Geralmente a causa da obstrução é encontrada adjacente e aboral a essa região de hiperomotilidade, fato esse bem conhecido também em cães e gatos (10,11). Acredita-se que a alteração da motilidade (principalmente no intestino delgado) correlaciona-se à gravidade e ao tempo do processo obstrutivo. Quanto maior a duração do processo maior o grau de dilatação intestinal e menor a motilidade, podendo chegar a casos de atonia (3,8).

Se compararmos as alterações de motilidade nos pacientes com obstrução (13 animais), nota-se que a hiperomotilidade foi evidenciada somente nos segmentos de intestino delgado (4/16). A resposta do intestino grosso às alterações obstrutivas correlaciona-se mais a hipomotilidade (12/16) e atonia (2/16). Nos casos de sobrecarga gástrica (2/16) observou-se um paciente com hipomotilidade e outro com hiperomotilidade do intestino grosso. A hipomotilidade pode ser uma resposta fisiológica do quadro clínico (13), já no caso de hiperomotilidade apresentado no estudo foi considerada iatrogênica, devido à administração de laxativos.

A característica do conteúdo do intestino delgado também deve ser avaliada em conjunto as descrições supracitadas de dilatação, motilidade e topografia. Percebemos uma mudança da característica normal do conteúdo intraluminal do intestino delgado (hiperecólico) para

conteúdo hipocóico a anecóico (com ou sem ecos puntiformes e/ou lineares em suspensão) nos casos de obstrução intestinal (Figura 1). Tal alteração provavelmente é um reflexo da diminuição da motilidade e do aumento da secreção em decorrência aos processos obstrutivo e inflamatório respectivamente (13,14).

As alterações da espessura da parede do intestino delgado ou grosso foram detectadas em 4/16 animais; nos casos de torção de cólon maior (1/16), vólvulo intestinal (1/16), ruptura intestinal (1/16) e corpo estranho em cólon maior (1/16). Correlaciona-se esse achado ultrassonográfico aos quadros obstrutivos nos quais havia um fator etiológico relacionado a inflamação ou alteração vascular (isquemia ou edema/congestão) da parede (8,15). Os casos de obstrução estrangulante usualmente causam alterações mais importantes de perfusão da parede e em menor tempo (13). Apesar do espessamento da parede intestinal ter sido observado apenas nos casos obstrutivos, é importante lembrar que quadros inflamatórios não-obstrutivos, como enterite proximal ou colite, também podem gerar espessamento da parede intestinal (16).

Apesar da evidência de espessamento da parede no caso de torção de cólon maior (1/16), tal alteração somente ocorrerá nos casos em que existir comprometimento vascular. O diagnóstico dessa situação não deve então ser baseado na expectativa de se detectar o espessamento da parede, mas sim na visualização do cólon dorsal esquerdo não saculado na porção ventral do abdome (Figura 5), ao invés do padrão normal do cólon ventral esquerdo, o qual apresenta saculações na parede (17,18,19).

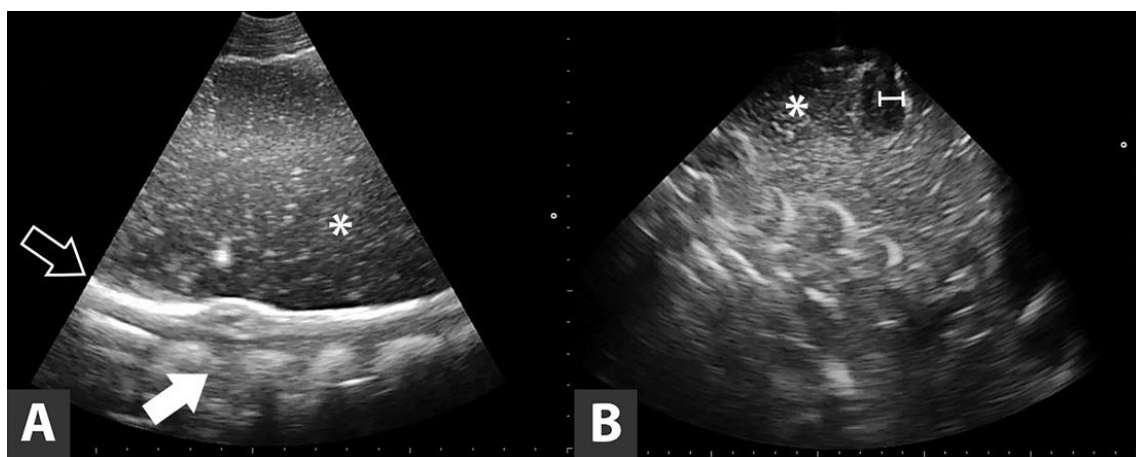


Figura 5. Imagem de torção de cólon maior (180°) em equino com abdome agudo. Imagem obtida da porção ventral da cavidade abdominal. A- Inversão do posicionamento topográfico normal do cólon. Visibiliza-se o cólon ventral esquerdo de característica saculada dorsalmente ao cólon dorsal esquerdo de parede lisa (seta preta) (Asterisco), conteúdo fluido intraluminal no interior do cólon dorsal (Asterisco). Saculações do cólon ventral esquerdo invertido (Seta branca). B – Em outra janela ultrassonográfica visibiliza-se imagem de espessamento da parede do cólon ventral esquerdo (marcador linear), conteúdo fluido intraluminal no cólon ventral esquerdo, parede intestinal espessada (Asterisco).

Assim como descrevemos anteriormente, a ultrassonografia transabdominal em muitas situações auxilia na determinação da conduta e não exatamente na elucidação diagnóstica (6,15). A conclusão diagnóstica baseada somente nos achados da imagem foi possível em tres pacientes: dois casos de ruptura intestinal e um caso de corpo estranho. Dos dois casos de corpo estranho, em somente um caso a técnica permitiu a visualização da imagem clássica de estrutura hiperecótica produtora de forte artefato de sombreamento acústico posterior (Figura 3) (11). Acreditamos que a posição do corpo estranho (cólon ventral) e a dilatação intraluminal adjacente por fluido facilitaram a visualização do material nesse paciente.

A literatura descreve que as dificuldades enfrentadas para a detecção do corpo estranho ou mesmo enterólito, quando localizado em porções de cólon, correlaciona-se a própria característica de conteúdo intraluminal e a distensão gasosa, que gera artefatos de reverberação

(9,20). Sabe-se que a identificação de corpo estranho em porções de cólon menor não é possível pela metodologia transabdominal devido à impossibilidade de se visualizar esse segmento quando realizado o exame ultrassonográfico dessa forma. Se houver essa suspeita a técnica ultrassonográfica transretal é a mais recomendada (9,20).

Outro parâmetro avaliado durante o exame ultrassonográfico foi a pesquisa e caracterização da quantidade e ecogenicidade do líquido peritoneal em diferentes janelas abdominais. Tal dado auxiliou na estimativa subjetiva do grau de inflamação ou mesmo na identificação de casos suspeitos de ruptura do trato gastrointestinal. Nos casos de ruptura (2/16) identificou-se grande quantidade de líquido em diferentes janelas ecográficas, além de espessamento e aumento de ecogenicidade do mesentério. O líquido apresentava característica hipocóica com alta celularidade, além de grandes partículas sobrenadantes que representavam provavelmente conteúdo alimentar (Figura 2) (7,9,20). Apesar das características descritas a coleta do líquido e sua análise laboratorial são importantes para a confirmação desse diferencial diagnóstico (6).

Em pacientes com cólica a pesquisa do rim esquerdo é importante não somente para a avaliação da arquitetura renal, mas para a exclusão de possíveis casos de encarceramento nefroesplênico (7,9,20). Sabe-se, porém, que apesar da visualização do rim esquerdo descartar um encarceramento nefroesplênico, a não visualização desse órgão não significa um caso positivo de encarceramento nefroesplênico. O rim esquerdo pode não ser identificado ultrassonograficamente em cavalos saudáveis (7,9,20), assim como ocorreu em tres dos pacientes desse estudo.

Nos dois animais em que a terapia clínica foi adotada, a decisão foi suportada pelo fato de não haver sinais ultrassonográficos sugestivos de um processo obstrutivo intestinal. Ambos apresentavam quadro clínico de sobrecarga gástrica, entretanto apenas um deles apresentou o estômago maior que o padrão de normalidade durante a avaliação ultrassonográfica. Isso se deve provavelmente ao fato de que o outro animal no momento do exame ultrassonográfico já havia sido suportado com os procedimentos emergenciais e sondagem nasogástrica, o que fez com que o estômago voltasse à distensão normal.

As limitações referem-se ao número de pacientes inseridos nessa descrição e a predominância de casos cirúrgicos. Todavia, os relatos dos casos aqui discutidos demonstram a aplicabilidade da ultrassonografia transabdominal na rotina de atendimentos de cavalos com síndrome cólica, auxiliando na diferenciação dos casos cirúrgicos e não-cirúrgicos.

Resumindo, os sinais indicativos de processo obstrutivo correspondem a alterações topográficas dos segmentos de intestino delgado aliados ao grau de distensão e alterações no padrão de motilidade. Bem como as alterações na predominância do tipo de conteúdo do intestino delgado e eventualmetne espessamentos da parede intestinal.

CONCLUSÃO

O exame ultrassonográfico transabdominal em equinos pode ser utilizado como mais uma ferramenta para auxiliar na definição de conduta clínica versus cirúrgica em equinos com síndrome cólica.

Aprovado pelo Comitê de Ética para uso de animais (CEAU/UFPR) registrado 029/2012.
Apio e financiamento: Agência: Capes - bolsista de mestrado.

REFERÊNCIAS

1. Allan D Jr, Tyler DA. Pathophysiology of acute abdominal disease. In: White NA. The equine acute abdomen. Philadelphia: Lea and Febiger; 1990. p.65-87.

2. White NA. Epidemiology and etiology of colic. In: White NA. The equine acute abdomen. Philadelphia: Lea and Febiger; 1990. p.49-64.
3. Becati F, Pepe M, Gialletti R, Cercone M, Bazzica C, Mannarone S. Is there statistical correlation between ultrasonographic findings and definitive diagnosis in horses with acute abdominal pain? *Equine Vet J*. 2011;39:98-105.
4. Freeman S. Ultrasonography of the equine abdomen: findings in the colic patient. In *Pract*. 2002;24:262-71.
5. Barton MH. Understanding abdominal ultrasonography in horses: which way is up? *Compend Contin Educ Vet*. 2011;33:1-6.
6. Reeves MJ, Curtis CR, Salman MD, Stashak TS, Reif JS. Multivariable prediction model for the need for surgery in horses with colic. *Am J Vet Res*. 1991;52:1903-7.
7. Amaral CH, Froes TR. Avaliação ultrassonográfica transabdominal do trato gastrintestinal de equinos: nova abordagem. *Semina Cienc Agrar*. 2014;35:1881-94.
8. Busoni V, Busscher V, Lopez D, Verwilghen D, Cassart D. Evaluation of a protocol for fast localized abdominal sonography of horses (FLASH) admitted for colic. *Vet J*. 2011;188:77-82.
9. Scharner D, Ritting A, Gerlach K. Ultrasonography of the abdomen in the horse with colic. *Clin Tech Equine Pract*. 2002;1:118-24.
10. Garcia DAA, Froes TR, Vilani RGD, Guérios SD, Obladen A. Ultrasonography of small intestinal obstructions: a contemporary approach. *J Small Anim Pract*. 2011;52:484-90.
11. Riedesel EA. The small bowel. In: Thrall DE. *Textbook of veterinary diagnostic radiology*. 6th ed. St. Louis: Elsevier; 2013. p.789-809.
12. Hardy J. Specific diseases of the large colon. In: White NA, Moore, JN, Mair TS. *The equine acute abdomen*. 2nd ed. Jackson: Tenton Newmedia; 2008. p.627-47.
13. Blikslager AT. Pathophysiology of gastrointestinal disease: obstruction and strangulation. In: White NA, Moore, JN, Mair TS. *The equine acute abdomen*. 2nd ed. Jackson: Tenton Newmedia; 2008. p.99-115.
14. Thomasian A. *Afeções do aparelho digestório*. 4a ed. São Paulo: Varela; 2005. p.265-416.
15. Klohnen A, Vachon AM, Fischer Jr AT. Use of diagnostic ultrasonography in horses with signs of acute abdominal pain. *J Am Vet Med Assoc*. 1996;209:597-601.
16. Cohen ND, Carter GK, Mealey RH, Taylor TS. Medical management of right dorsal colitis in 5 horses: a retrospective study (1987-1993). *J Vet Intern Med*. 1995;9:272-6.
17. Jones SL, Davis J, Rowlingson K. Ultrasonographic findings in horses with right dorsal colitis: Five cases (2000-2001). *J Am Vet Med Assoc*. 2003;222:1248-51.

18. Pease AP, Scrivani PV, Erb HN, Cook VL. Accuracy of increased large-intestine wall thickness during ultrasonography for diagnosing large-colon torsion in 42 horses. *Vet Radiol Ultrasound*. 2004;45:220-4.
19. Abutarbush SM. Use of ultrasonography to diagnose large colon volvulus in horses. *J Am Vet Med Assoc*. 2006;228:409-13.
20. Freeman S. Diagnostic ultrasonography of the mature equine abdomen. *Equine Vet Educ*. 2003;15:319-30.

Recebido em: 07/07/2016

Aceito em: 18/06/2017

LASERTERAPIA PARA TRATAMENTO DE TENDINOPATIA INDUZIDA EM RATOS WISTAR: ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO

Maria Verônica de Souza¹

Júlio Crepaldi²

Thayne de Oliveira Silva³

Mariana Brettas Silva³

Gabriel Barbosa de Melo Neto⁴

José do Carmo Lopes Moreira⁵

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos da laserterapia na lesão do tendão calcâneo comum de ratos Wistar. Foram utilizados 12 ratos machos adultos, distribuídos aleatoriamente em dois grupos (L=laser e C=controle). Todos foram submetidos à tendinopatia unilateral (escolha aleatória) mediante compressão transversal do tendão (10 segundos) com pinça *Halstead* mosquito, assim como escarificações (com bisturi). Após 24 horas da indução da lesão os animais do grupo L receberam laser (904 nm/3 J/cm²/9s) por 20 dias. Os do grupo C foram manipulados como se fossem receber a radiação. Após 3, 7, 14 e 21 dias da realização da lesão, três ratos de cada grupo foram submetidos à eutanásia, e os tendões obtidos para análise histomorfométrica. As amostras foram processadas como de rotina e os fragmentos corados com hematoxilina-eosina, tricrômico de Masson e Picrosirius Red. Os dados foram analisados por ANOVA, a 5% de probabilidade e análise de regressão. Não houve diferença entre grupos nem entre tempos para as características hemorragia, angiogênese, espessamento do epitendão. Independente do tratamento ocorreu diminuição ($p=0,0129$) da formação de aderência fibrinosa (do 3º ao 21º dias). Por outro lado, a avaliação morfométrica revelou maiores ($p=0,0120$) quantidades de fibroblastos no grupo que recebeu laserterapia, não havendo efeito de tempo. Avaliação semiquantitativa, revelou maiores ($p=0,0000$) quantidades de fibroblastos no grupo tratado, porém nessa análise, a quantidade dessas células aumentou com o tempo ($p=0,0001$) em ambos os grupos. Diferentemente, ANOVA revelou redução do infiltrado inflamatório do 3º ao 21º dia em ambos os grupos (histologia: $p=0,0003$; morfometria: $p=0,0000$). Embora não tenha ocorrido diferença entre grupos na quantidade de fibras colágenas (I e III), a morfometria revelou que os ratos do grupo L apresentaram maiores ($p=0,0096$) quantidades de fibras colágenas do que do grupo C. Para essa característica, não ocorreu efeito do tempo, ainda que tenha sido observada maior ($p=0,0000$) organização da deposição de colágeno (7º dia). A quantidade de fibras colágenas determinada por histologia revelou efeito apenas do tempo ($p=0,0005$), independente do tratamento, ocorrendo aumento dessa variável até o 14º dia, com posterior redução. A laserterapia iniciada 24 horas após indução cirúrgica de lesão no tendão calcâneo de ratos Wistar apresenta a vantagem de aumentar em qualidade e quantidade as fibras colágenas, assim como os fibroblastos, células fundamentais na síntese dos colágenos.

Palavras-chave: tendão de Aquiles, laser de baixa potência, reparação tendínea.

¹ Professora de Clínica Médica, Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário, s/n, Viçosa, MG, 36570-000, Brasil. Correspondência: msouza@ufv.br, msouzavet@gmail.com.

² Graduando em Medicina Veterinária, Departamento de Veterinária, UFV, Viçosa, MG. julio.crepaldi@ufv.br.

³ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Departamento de Veterinária, UFV, Viçosa, MG. thayne.mvet@yahoo.com.br, mbrettass@gmail.com.br.

⁴ Médico Veterinário, Programa de Residência em Medicina Veterinária, Departamento de Veterinária, UFV, Viçosa, MG. gabrielveterinario@yahoo.com.br.

⁵ Médico, Prevent – Laboratório de Anatomia Patológica e Citopatologia, Rua Benjamin Araújo, 56, sala 110, Centro, 36570-000, Viçosa, MG. tmjc@terra.com.br

LASER THERAPY FOR TREATMENT OF TENDINOPATHY INDUCED IN WISTAR RATS: AN HISTOMORFOMETRIC STUDY

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of laser therapy in tendinopathy of Achilles tendon of Wistar rats. Thus, 12 adult male rats which were divided into two groups (L=laser and C=control) were used. All animals were submitted to unilateral tendinopathy (random selection) by transverse compression of the tendon (10 seconds) with Halsted forceps, as well as 10 scarifications (using a scalpel). After 24 hours of induction of lesion all animals of Group L received laser (904 nm/3 J/cm²/ 9 s) for 20 days, while Group C were handled as if they would receive radiation. After 3, 7, 14 and 21 days lesion induction, three rats from each group were euthanized, and the tendons obtained for histomorphometric analysis. The samples were processed as routine and the sections stained with hematoxylin-eosin, Masson's trichrome and Picrosirius Red. Data were analyzed by ANOVA, at 5% probability and regression analysis. No differences between groups neither between time for hemorrhage characteristics, angiogenesis, thickening of epitendon. Independently of the treatment there was a decrease ($p=0.0129$) of fibrinous adhesion (3rd to 21st day). On the other hand, morphometric analysis revealed higher ($p=0.0120$) amounts of fibroblasts cells in the group receiving laser therapy, with no effect of time. Semiquantitative assessment also showed higher ($p=0.0000$) amounts of fibroblasts cells in the treated group, but in this analysis, the number of fibroblasts increased with time ($p=0.0001$) in both group. In contrast, ANOVA revealed a reduction of the inflammatory cells from 3rd to 21st day in both groups (histology: $p=0.0003$; morphometry: $p=0.0000$). Although there was no difference between groups in the amount of collagen type I and III, morphometry revealed that the rats of group L showed higher ($p=0.0096$) amounts of collagen fibers than group C. For this characteristic, there was no effect of time, even though it was observed higher ($p=0.0000$) organization of collagen deposition on day 7. The amount of collagen fibers determined by histology revealed only the effect of time ($p=0.0005$), regardless of treatment, with an increase in this variable until the 14th day, with further reduction. Laser therapy initiated 24 hours after surgical induction of tendinopathy in the Achilles tendon of rats has the advantage of increasing quality and quantity collagen fibers, as well as the fibroblasts cells, which are fundamental on the synthesis of collagen.

Keywords: Achilles tendon, low-level laser therapy, tendon healing.

TERAPIA CON LÁSER PARA TRATAMIENTO DE TENDINOPATIA INDUCIDA EN RATAS WISTAR: ESTUDIO HISTOMORFOMÉTRICO

RESUMEN

La finalidad de ese estudio fue evaluar los efectos del láser en la lesión del tendón calcáneo común de ratas Wistar. Fueron utilizadas 12 ratas machos adultos, distribuidos al azar en dos grupos (L=láser y C=control). Todos fueron sometidos a tendinopatía unilateral (selección aleatoria) por la compresión transversal del tendón (10 segundos) con una pinza Halstead-Mosquito, y escarificación (con bisturí). Después de 24 horas de la inducción de la lesión los animales del grupo L recibieron láser (904 nm/3J/ cm²/9s) durante 20 días. Los tendones del grupo C fueran manejados como si recibiera la radiación. Después de 3, 7, 14 y 21 días de realización de la lesión, tres ratas de cada grupo fueron sacrificadas, y los tendones obtenidos para análisis histomorfométrico. Las muestras fueron procesadas como de rutina y los fragmentos se tiñeron con hematoxilina-eosina, tricrómico de Masson y Picrosirius Red. Los datos fueron analizados por ANOVA, con una probabilidad de 5%, además de análisis de

regresión. No hubo diferencias entre los grupos o tiempos para las variables hemorragia, angiogénesis, engrosamiento del epitendón. Independientemente del tratamiento se redujo ($p=0,0129$) la formación de adherencia fibrinosa (del 3^o al 21^o días). Por otra parte, la evaluación morfométrica mostró cantidades más altas ($p=0,0120$) de los fibroblastos en el grupo que recibió el tratamiento con láser, sin efecto del tiempo. Evaluación semicuantitativa reveló mayor ($p=0,0000$) cantidad de fibroblastos en el grupo tratado, pero en esa análisis la cantidad de esas células aumentó con el tiempo ($p=0,0001$) en ambos grupos. En contraste, ANOVA reveló reducción del infiltrado inflamatorio entre el 3^o y el 21^o días, en ambos grupos (histología: $p=0,0003$; morfometría: $p=0,0000$). Aunque no hubo diferencias entre grupos en la cantidad de fibras de colágeno (I y III), la morfometría reveló que las ratas del grupo L presentaron mayores cantidades ($p=0,0096$) de fibras de colágeno. Para esa variable no hubo efecto del tiempo, a pesar de que se observó mayor ($p=0,0000$) organización de la deposición de colágeno (7^o día). La cantidad de fibras de colágeno determinados por histología reveló efecto del tiempo ($p=0,0005$), independientemente del tratamiento, con aumento de esa variable con 14^o día, con posterior reducción. La terapia con láser iniciada 24 horas después de la inducción quirúrgica de lesión en el tendón calcáneo común de ratas Wistar presenta la ventaja de aumentar la calidad y la cantidad de fibras de colágeno y fibroblastos, que son células fundamentales en la síntesis de colágeno.

Palabras clave: tendón de Aquiles, láser de baja potencia, reparación del tendón.

INTRODUÇÃO

Há alguns anos, o termo tendinopatia passou a ser utilizado para substituir o amplamente utilizado, tendinite. Isso se deve ao fato de que durante uma lesão tendínea ocorre um processo degenerativo, além do inflamatório (1,2). O quadro clínico, amplamente conhecido, se caracteriza por dor, aumento de volume e comprometimento da locomoção. Atletas são comumente afetados pela enfermidade, tendo em vista a predisposição a diferentes fatores, tais como, sobrecarga e esforço repetitivo, que podem culminar com a afecção e, portanto, o desempenho atlético (2). Medeiros e Segatto (3) relatam o quadro em indivíduos sedentários, decorrente do sobrepeso, postura inadequada, etc. O processo de reparação normalmente é longo.

Um tratamento é considerado eficiente quando ocasiona diminuição da inflamação e proporciona a reparação dos tecidos (4). Portanto, os anti-inflamatórios não esteroidais são tradicionalmente utilizados na fase inicial da lesão tendínea, quando a existência de inflamação é visível macroscopicamente, cujo período de permanência varia de 2 horas (5) a algumas semanas (6). Entretanto, essas drogas possuem efeitos colaterais como úlceras gástricas, acometimento da função renal e bloqueio da agregação plaquetária (7), de forma que existe uma busca incessante pela descoberta de uma terapia que seja eficiente e que acelere o processo de reparação tendínea. Uma terapia alternativa é a laserterapia, que além de efeito anti-inflamatório/analgésico, pode facilitar a neovascularização (8), aumentar a síntese do colágeno (9), o que, consequentemente, deve favorecer a recuperação do tendão (10). O presente estudo parte da hipótese de que o tratamento com laser arseneto de gálio em lesão induzida experimentalmente em tendão calcâneo comum de ratos Wistar.

MATERIAL E MÉTODOS

Essa pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso Animal (Protocolo 108/2011). Foram utilizados 12 ratos adultos, (*Rattus norvegicus*, linhagem Wistar), machos, com idade entre 12 e 14 semanas. Durante uma semana os ratos foram alojados em gaioleiros individuais, cuja finalidade foi se adaptarem às condições de temperatura (aproximadamente 26°C), e aos fotoperíodos de 12 horas diárias. Os animais se movimentaram livremente dentro da gaiola, e receberam ração comercial e água *ad libitum*.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos (L e C) contendo 12 ratos em cada um deles, sendo três tendões em cada momento estudado. O grupo L foi composto por ratos submetidos à laserterapia durante o processo de reparação tendínea até o 20º dia, enquanto que os do grupo C foram apenas manipulados como se fossem receber a radiação, porém o equipamento permaneceu desligado. A identificação dos animais foi realizada por meio de sequência numérica localizada na cauda, de acordo com o grupo a que pertenciam.

A escolha de qual tendão calcâneo comum seria submetido à tendinopatia unilateral foi aleatória. Para o procedimento cirúrgico, os ratos foram mantidos em jejum alimentar (2 horas), e hídrico (1 hora) antes do início da anestesia. A região plantar do membro pélvico escolhido ao acaso, foi tricotomizada, e os animais colocados em câmara de indução onde receberam isoflurano (5% em 2 L de O₂) durante aproximadamente 2 minutos. Em seguida foram retirados da câmara e posicionados na mesa cirúrgica, onde permaneceram recebendo isoflurano (3% em 1,5 L de O₂) até finalização do procedimento cirúrgico.

Após antisepsia local (iodo-povidine tópico a 1%), os animais foram posicionados em decúbito ventral, sendo então realizada incisão cutânea longitudinal (1,5 cm) na região plantar do membro pélvico direito ou esquerdo, utilizando lâmina de bisturi. Na sequência foi realizada divulsão roma do tecido subcutâneo e exposição do tendão calcâneo comum. A tendinopatia foi feita na região média situada entre a junção miotendínea e a inserção do tendão no osso calcâneo conforme descrito por Silva et al. (11), mediante realização de compressão transversal de toda a espessura do tendão durante 10 segundos com pinça *Halstead* mosquito hemostática, assim como 10 escarificações das fibras do tendão, em sentido próximal, utilizando lâmina de bisturi nº 11. Foi realizada a sutura de pele utilizando Nylon 3-0, padrão contínuo (*Wolff*).

Depois de finalizada a cirurgia, com os animais ainda sob efeito anestésico, foi administrada dose única do antibiótico enrofloxacina (40 mg/kg, via intramuscular), e do analgésico morfina (3 mg/kg, via subcutânea). Esse último foi repetido a cada 6 horas, totalizando duas aplicações. Finalmente, os ratos foram acomodados em aquecedores (aproximadamente 27°C) até recuperação anestésica. As feridas foram limpas diariamente com gaze e água corrente.

Os animais do grupo L receberam laser de baixa potência, arseneto de gálio (GaAs). A aplicação foi realizada com a caneta posicionada em um único ponto, no modo pulsátil por 9 segundos/dia, utilizando o aparelho laserpulse (Ibramed Indústria Brasileira de Equipamentos Médicos Ltda, Amparo, SP, Brasil), comprimento de onda 904 nm, densidade de energia de 3 J/cm² e potência máxima de 100 mW/cm². O tratamento foi iniciado 24 horas após induzida a lesão, sendo aplicado diariamente durante 20 dias. Para o procedimento, os animais foram imobilizados manualmente e posicionados em decúbito ventral. O aparelho foi colocado perpendicular à lesão, sendo a radiação feita sempre no mesmo horário, observando um intervalo de 24 horas entre as aplicações. Óculos de proteção foram utilizados contra a radiação emitida.

Fragmentos de tendões foram obtidos durante as fases inflamatória e proliferativa do processo de reparação tendínea. Três ratos de cada grupo foram aleatoriamente eutanasiados 3,

7, 14 e 21 dias após realização da tendinopatia, utilizando tiopental sódico (100 mg/kg, via intraperitoneal). Uma vez realizada a exposição do tendão calcâneo comum, foi avaliada a existência ou não de aderência entre o tendão e a pele e/ou tecidos adjacentes. Na sequência, os tendões foram obtidos desde a junção miotendínea até a inserção no osso calcâneo, e colocado em formol tamponado a 10%, onde permaneceram por 48 horas. As amostras foram processadas como de rotina para análise histomorfométrica. Foram realizados cortes longitudinais (4 µm de espessura), que foram corados pelas técnicas de hematoxilina-eosina (HE), tricrômico de Masson e Picrosirius Red. As análises foram conduzidas as cegas, por três avaliadores.

A caracterização celular e organização da matriz tendínea foram determinadas nos cortes corados com HE. A avaliação foi de acordo com critérios definidos por Orhan et al. (12), sendo realizadas discretas alterações, no que se refere a nomenclatura usada para as variáveis estudadas. As características avaliadas foram formação de aderências fibrinosa, quantidade e organização das fibras colágenas, espessamento do epitendão, angiogênese, densidade do infiltrado inflamatório e quantidade de fibroblastos. Hemorragia, caracterizada pela presença de hemácias, foi averiguada utilizando o sistema de pontuação mencionado por Eliasson et al. (13), com modificações nos escores adotados, os quais oscilaram de 0 a 4, sendo 0: ausente, 1: discreta, 2: moderada, 3: moderada a intensa e 4: intensa.

A avaliação do infiltrado inflamatório, angiogênese, quantidade de fibroblastos, assim como total e tipos (I ou III) de fibras colágenas foi determinada por morfometria. Foram obtidas 10 fotomicrografias de cada lâmina, que foram escolhidas aleatoriamente. As imagens foram colocadas sob uma grade com 400 interseções confeccionada no programa Power Point. O experimento foi instalado no delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos (grupos L e C) e três repetições (animais), avaliados aos 3, 7, 14 e 21 dias após a indução da lesão. Seguindo a recomendação da comissão de ética, a quantidade de ratos estabelecida por grupo foi à mínima necessária para a condução do experimento, determinada por profissional da área de estatística. De forma que, o número de animais possibilitou a realização de análises inferenciais com número adequado de graus de liberdade para o resíduo da análise de variância (ANOVA). Os resultados também foram avaliados por análise descritiva, com apresentação dos valores médios e desvios padrão. Teste F (ANOVA) a 5% de probabilidade foi utilizado para verificação do efeito dos tratamentos nas variáveis avaliadas. Também foi feita análise de regressão para as características aderência fibrinosa, quantidade de infiltrado inflamatório, fibras colágenas, fibroblastos e organização do tecido conjuntivo. Para essas análises foi utilizado o software Statistica 12, 2013 (www.statsoft.com).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve infecção nem deiscência da ferida cirúrgica, o que se deve ao adequado procedimento de antisepsia adotado durante todo o experimento. As áreas lesionadas e sadias foram facilmente identificadas utilizando os corantes previamente utilizados. Essas áreas variaram de tamanho e predominância das características estudadas, conforme a fase em que se encontrava o fragmento avaliado, ou seja, na inflamatória ou proliferativa. As áreas lesionadas foram mais acentuadas na periferia do tendão. Considerando a observação geral dos cortes histológicos em ambos os grupos, no 3º dia depois de induzida a lesão, ocorreu discreta hemorragia, com moderada a intensa aderência, caracterizada pela presença de fibrina. Também ocorreu espessamento do epitendão. Infiltrado inflamatório, composto praticamente por polimorfonucleares foram observados em quantidades superiores aos demais tempos avaliados (Figura 1a), enquanto no 21º dia, foi observada uma menor quantidade (Figura 1b). Nesse tempo de observação, existia discreta quantidade de fibroblastos com núcleos arredondados (células blásticas). Neoformação vascular, desorganização tecidual e falta de paralelismo das fibras colágenas também foram encontrados.

As características histológicas observadas na biopsia realizada três dias após a tendinopatia são compatíveis com tecido de granulação em fase inicial que, de acordo com Van Schie et al. (14), é composto particularmente por elevado número de fibroblastos arredondados, infiltrado inflamatório, sem que se observe distribuição regular das células ou de arranjo longitudinal dos elementos fibrilares. Esses autores avaliaram o tendão do músculo flexor digital superficial de equinos.

Amostras avaliadas após a primeira semana, ainda possuía discreta hemorragia, assim como epitendão espesso, devido ao acúmulo local de células inflamatórias. A quantidade de leucócitos se manteve moderada, havendo grande quantidade de neutrófilos. Por outro lado, não houve alteração nas características angiogênese e quantidade de fibroblastos. Fibras colágenas não apresentavam ainda o paralelismo entre elas. Depois de passadas duas semanas após indução da tendinopatia, havia grande quantidade de fibroblastos arredondados (Figuras 1c,d), aumento da neovascularização, discreta quantidade de células inflamatórias e de organização das fibras colágenas. Finalmente, na terceira semana havia sinal de remodelação tecidual, a qual esteve caracterizada pela redução das células inflamatórias, com moderada organização e paralelismo das fibras colágenas (Figuras 1e,f), além de maior quantidade de fibroblastos em formato fusiforme. Esses achados aos 21 dias são compatíveis com um tecido em fase mais avançada de reparação.

Os valores médios e desvios padrão por grupo e por tempo da avaliação semiquantitativa das características histológicas, assim como quantitativa das morfométricas estão apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3. Não houve diferença ($p=0,1156$) entre grupos, nem entre tempos ($p=0,1795$) para a característica hemorragia. Discreta quantidade de hemácias extravasadas foi observada em ambos os grupos no 3^o e 7^o dias. Na segunda semana o grupo L apresentou discreta hemorragia, enquanto no grupo C esse achado esteve ausente.

Na terceira semana já não havia hemorragia no grupo L, porém no grupo C esse achado ocorreu de forma discreta (Tabela 1). Apesar de a hemorragia ser indicativa de lesão tecidual, não foi suficiente grave para prejudicar o processo de reparação tendínea. Eliasson et al. (13) observaram intensa hemorragia em análise histológica realizada no tendão calcâneo comum transecionado, de ratos submetidos ao exercício físico caminhada (30 minutos/dia). De acordo com os autores, a presença da hemorragia indicou maior dano tecidual no grupo exercitado em comparação com o grupo que permaneceu em repouso. Por outro lado, avaliação biomecânica demonstrou que a hemorragia não foi prejudicial, uma vez que os tendões que demonstraram maior sangramento apresentaram melhor ($p=0,04$) elasticidade, e mais elevado pico de força ($p<0,0001$) para ocorrer ruptura, os quais indicam adequado reparo tecidual.

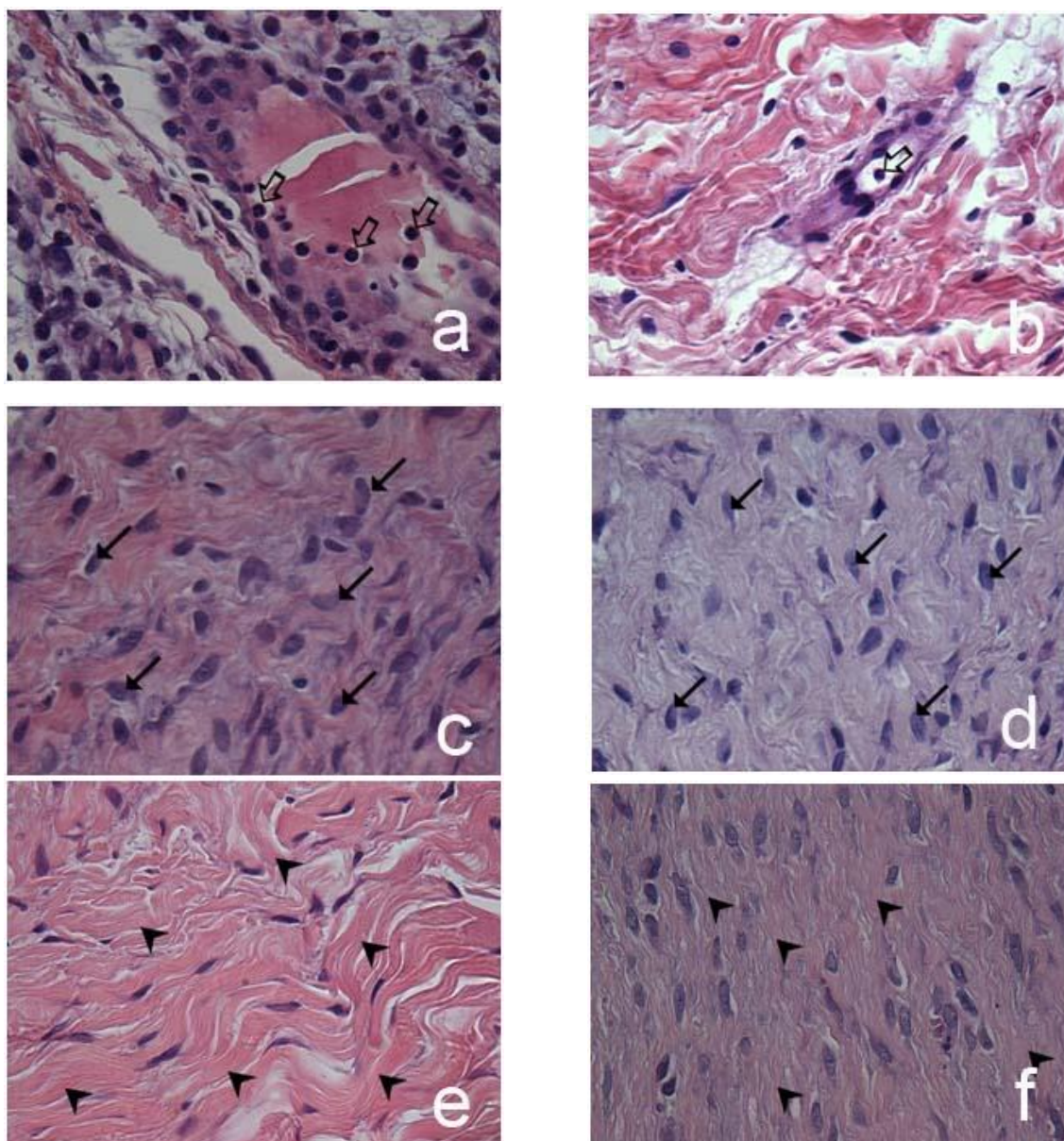


Figura 1. Fotomicrografias do tendão calcanear de ratos Wistar submetido à tendinopatia induzida, no grupo tratado (L) ou não (C) com laserterapia. Infiltrado inflamatório, com polimorfonucleares (seta vazada) observados no 3^o (a), e 21^o dias no grupo tratado (b). Nessa última figura também se observa discreto grau de hemorragia. Proliferação fibroblástica (setas) acentuada no 14^o dia ocorreu em ambos os grupos, L (c) e C (d). Feixes de fibras colágenas organizadas (cabeça de seta) foram verificados no 21^o dia, tanto no grupo L (e) como no C (f). HE; 400x.

Ambos os grupos apresentaram redução ($p=0,0129$) da aderência fibrinosa nos tempos avaliados, independente do tratamento. No 3^o dia de pós-operatório, essa característica variou de moderada a intensa, com diminuição no 7^o dia em ambos os grupos. Porém nos tendões dos ratos tratados e avaliados no 14^o dia foi constatado aumento da formação da aderência, diferentemente do observado no grupo C, que apresentou redução nesse tempo de avaliação. Por outro lado, o oposto ocorreu no 21^o dia, onde os tendões dos ratos do grupo L manifestou redução da aderência fibrinosa, enquanto os do grupo C aumentou da mesma (Tabela 1). Análise de regressão demonstrou redução dessa característica (Figura 2a) nos tempos avaliados. De acordo com Abate et al. (15), esse achado é frequentemente observado entre tendão e paratendão na fase aguda da tendinopatia. Na realidade, além de células inflamatórias

originadas da periferia tecidual, a formação de aderências também está relacionada com fatores como migração extrínseca de fibroblastos (16,17).

Tabela 1. Valores médios e desvios padrão para escores da avaliação semiquantitativa das características hemorragia, formação de aderência fibrinosa, espessamento do epitendão, quantidade de fibras colágenas, proliferação fibroblástica e infiltrado inflamatório, realizada em diferentes momentos do processo de reparação tendínea.

Variáveis	Tempo (dias)				Média±DS
	3	7	14	21	
Hemorragia					
Laser	1.00±0.00	0.33±0.58	0.33±0.58	0.00±0.00	0.42±0.51
Controle	1.33±0.58	1.00±1.00	0,00±0,00	0.67±1.50	0.75±0.87
Aderência Fibrinosa					
Laser	3.67±0.58	1.67±1.15	2.33±0.58	1.67±0.58	2.33±1.07
Controle	3.33±1.15	3.00±1.00	1.33±0.58	2.00±1.00	2.42±1.16
Espessamento do Epitendão					
Laser	0.33±0.58	0.67±0.58	0.00±0.00	0.67±1.15	0.42±0.67
Controle	2.00±0.00	0.00±0.00	0.67±1.15	0.33±0.58	0.75±0.97
Quantidade de Fibras colágenas					
Laser	0.33±0.58	1.00±0.00	2.33±1.15	1.67±0.58	1.33±0.94
Controle	0.00±0.00	1.67±0.58	1.67±0.58	1.67±0.58	1.25±0.87
Proliferação Fibroblástica*					
Laser	1.33±0.58	1.00±0.00	3.00±0.00	2.00±0.00	1.83±0.83A
Controle	0.33±0.58	0.33±0.58	1.00±0.00	1.33±0.58	0.75±0.62B
Infiltrado inflamatório					
Laser	2.67±0.58	2.00±0.00	1.67±0.58	1.00±0.00	1.83±0.72
Controle	2.33±0.58	1.67±0.58	1.33±0.58	0.67±0.58	1.50±0.8

Na coluna, A diferente de B pelo teste F ($p < 0,01$)*.

Tabela 2. Valores médios e desvios padrão para escores da avaliação semiquantitativa das características angiogênese e organização do tecido conjuntivo, realizada em diferentes momentos do processo de reparação tendínea.

Variáveis	Tempo (dias)				Média±DS
	3	7	14	21	
Angiogênese					
Laser	1.33±0.58	1.00±0.00	1.67±0.58	1.67±0.58	1.42±0.51
Controle	1.33±0.58	1.33±0.58	2.33±0.58	1.33±0.58	1.58±0.67
Organização do Tecido Conjuntivo					
Laser	0.33±0.58	1.67±0.58	1.67±0.58	2.33±0.58	1.50±0.90
Controle	0.00±0.00	0.00±0.00	2.33±0.58	2.33±0.58	1.17±1.27

Tabela 3. Valores médios e desvios padrão para escores da avaliação quantitativa das características colágeno tipo I e III, angiogênese, fibras colágenas, fibroblastos e infiltrado inflamatório, realizada em diferentes momentos do processo de reparação tendínea.

Variáveis (%)	Tempo (dias)				Média±DS
	3	7	14	21	
Colágeno I					
Laser	0,00±0,00	0,00±0,00	2,00±3,46	0,63±1,10	0,66±1,77
Controle	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Colágeno III					
Laser	22,83±14,70	37,72±22,28	30,65±7,10	38,15±24,18	32,34±16,96
Controle	12,94±1,20	43,78±38,87	44,61±9,44	29,80±20,31	32,78±23,39
Angiogênese					
Laser	1,21±0,38	0,99±0,41	1,66±1,37	1,50±1,20	1,34±0,86
Controle	1,35±0,94	1,22±0,69	2,15±0,54	1,56±0,29	1,57±0,67
Fibras Colágenas*					
Laser	40,01±8,67	40,01±8,67	38,98±14,37	34,33±18,49	40,54±13,07 ^a
Controle	12,69±1,74	21,46±9,90	39,36±4,82	28,47±18,93	25,50±13,85
B					
Fibroblastos*					
Laser	2,97±0,41	2,06±0,42	3,29±2,78	2,39±0,35	2,68±1,32A
Controle	1,10±0,70	1,19±0,32	1,85±1,37	1,19±0,37	1,33±0,76B
Infiltrado Inflamatório**					
Laser	0,78±0,33	0,38±0,16	0,18±0,11	0,02±0,03	0,34±0,34
Controle	0,64±0,10	0,37±0,14	0,12±0,05	0,00±0,00	0,28±0,27

Na coluna, A diferente de B pelo teste F ($p<0,05$)* ;($p<0,01$)**.

O espessamento do epitendão não diferiu ($p=0,2453$) entre grupos nem tempos ($p=0,1459$). Contudo, os animais que receberam laser apresentaram menor espessamento em relação ao grupo controle, que foi de discreta no 3º dia, e respectivamente, discreta a moderada e ausente no 7º e 14º dia. Por outro lado, no 21º dia da avaliação voltou a se manifestar de discreta a moderada (Tabela 1), o que pode estar relacionada com a intensidade do processo inflamatório. O espessamento do epitendão também foi observado por Orhan et al. (12) em estudo com tendinopatia induzida no tendão calcâneo comum de ratos tratados com ondas de choque, sendo maior ($p=0,03$) no grupo tratado em relação ao controle. Por outro lado, os tendões dos animais tratados apresentaram maior ($p=0,028$) resistência biomecânica, sendo necessária maior força para que ocorresse a ruptura dos mesmos.

A quantidade do infiltrado inflamatório não diferiu ($p=0,1220$) entre grupos, porém foi diferente entre os tempos ($p=0,0003$). Ainda assim, os tendões tratados apresentaram maior densidade de células inflamatórias em todos os tempos estudados (Tabela 1). Análise de regressão revelou decréscimo dessa característica em todos os tempos avaliados (Figura 2b) durante o processo de reparação tendínea. Resultado semelhante foi obtido na avaliação morfométrica, onde ambos os grupos apresentaram maior quantidade do infiltrado inflamatório no 3º dia após indução da lesão (Figura 2c), e menor quantidade no 21º dia (Tabela 3). Ainda que a o processo inflamatório seja um evento benéfico em debelar a ação do agente agressor (18), a sua permanência pode ser prejudicial ao tecido lesionado, podendo inclusive estimular a formação de fibrose (19). Sabe-se que as células inflamatórias são fontes de fatores de crescimento que atuam na reparação tecidual (20,21). O fator de crescimento transformante beta (TGF- β), por exemplo, pode estimular de forma excessiva a produção de colágenos pelos fibroblastos (22), embora seja essencial na melhoria das forças mecânicas, por reduzir a expressão gênica do pró-colágeno tipo III e elevar a do tipo I (23).

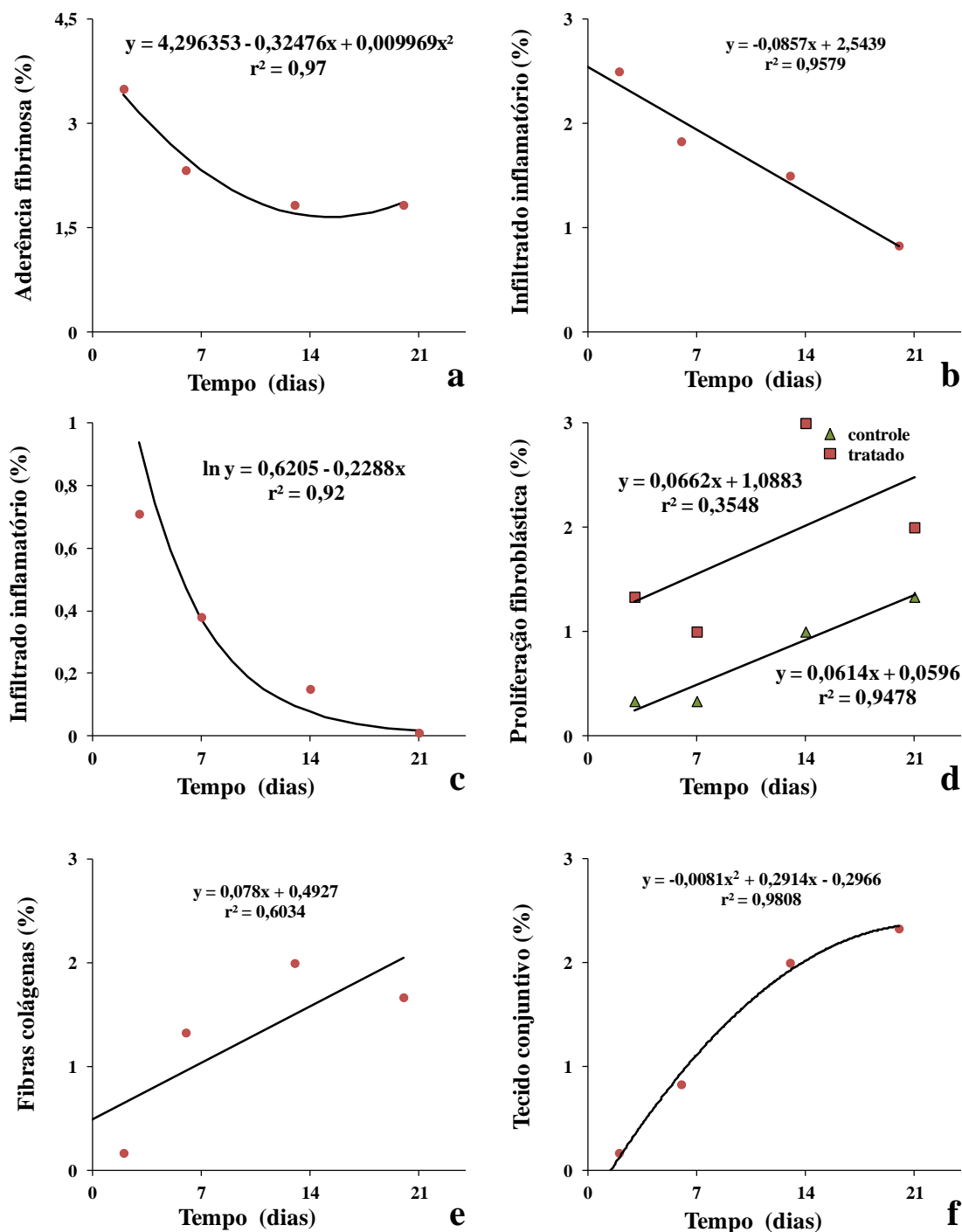


Figura 2. Estimativa da aderência fibrinosa (a), densidade do infiltrado inflamatório resultante da análise histológica (b) e da morfométrica (c), quantidade de fibras colágenas (e) e organização do tecido conjuntivo (f) em função do tempo. Com respeito à proliferação fibroblástica (d), essa estimativa ocorreu em cada grupo, também em função do tempo.

O início do tratamento logo após 24 horas de induzida a tendinopatia foi necessário uma vez que a terapia com laser deve iniciar nas primeiras horas depois de ocorrida uma lesão tendínea, tendo em vista os prováveis efeitos anti-inflamatório e analgésico. A diminuição do infiltrado inflamatório no grupo de animais tratados não foi observada no presente estudo, apesar desse fato ter sido previamente mencionado 14 e 21 dias após tratamento com laser de baixa potência em tendão calcâneo comum de ratos, com lesão induzida por trauma (4). Essa

provável ação na redução do processo inflamatório seria resultantes da diminuição na expressão de mediadores pró-inflamatórios como, por exemplo, a ciclooxigenase 2, o TGF- β e da interleucina 6 (24). Também pode está relacionada com o aumento da expressão da interleucina 10 (25), citocina considerada essencial pela sua ação anti-inflamatória, produzida particularmente por células do sistema imune, como macrófagos, linfócitos, etc.

A angiogênese é importante na oxigenação tecidual, já que favorece a nutrição e a remodelação tendínea. Tecidos bem vascularizados podem se recuperar rapidamente, mas quando pouco irrigados, o processo de reparação é mais lento, aumentando assim a possibilidade de recidiva da lesão (10). Entretanto, apesar da importância da angiogênese, espera-se que ocorra uma posterior redução da mesma durante a reparação de tendões, conforme mencionado por Nakamura et al. (26). A persistência da vascularização pode ocasionar em uma recuperação tendínea mais lenta e de forma inadequada (10). No presente estudo, considerando os momentos avaliados, a característica angiogênese não diferiu entre grupos ($p=0,4950$) e nem entre tempos ($p=0,3862$), embora o grupo C tenha apresentado angiogênese mais pronunciada na maioria dos tempos avaliados. Os grupos se comportaram de forma semelhante, havendo uma redução da angiogênese uma semana após a indução da lesão, com posterior elevação (14 dias). Finalmente, aos 21 dias essa característica voltou a reduzir (Tabela 3). Resultados semelhantes foram observados na avaliação histológica (Tabela 2).

Salate et al. (8) relataram estímulo à angiogênese resultante do tratamento com laser de baixa potência (2,5 e 10 J; 660 nm/10 s) durante as fases inflamatória e proliferativa do processo de reparação do tendão calcâneo comum de ratos Wistar submetido a ruptura parcial. De acordo com os autores, no 4º dia depois de iniciado o tratamento ocorreu maior ($p<0,01$) quantidade de vasos no grupo tratado com a dose de energia de 10 J, em comparação com o grupo tratado com 2,5 J, o que sugere que a angiogênese é dose-dependente. Esse fato pode explicar a ausência de diferença entre grupos no presente estudo para neovascularização tecidual, a qual poderia estar relacionada com a dose de 3 J adotada. Entretanto, a dose de energia foi baseada na recomendada pela Associação Mundial para Terapia com Laser, quando se emprega um comprimento de onda de 904 nm, para tratamento de tendão calcâneo comum (27). Ainda que haja essa recomendação da associação, com relação ao tempo de aplicação e tipo de afecção, existe variação da dose usada em diversos estudos.

Proliferação fibroblástica, um dos efeitos atribuídos à laserterapia, foi mais acentuada ($p=0,0096$) no grupo submetido ao tratamento ($2,68\pm 1,32$), quando comparado com o grupo controle ($1,33\pm 0,76$), porém não houve efeito do tempo. Em ambos os grupos essa característica se apresentou inicialmente de forma crescente, com quantidade máxima no 14º dia de realizada a tendinopatia, porém no grupo tratado houve redução dos fibroblastos no 21º dia, enquanto no grupo controle houve uma elevação (Tabela 3). Avaliação histológica confirmou que os animais do grupo L apresentaram maior ($p=0,0000$) quantidade de fibroblastos em função dos tempos avaliados (Tabela 1). Adicionalmente, essa característica se manifestou de forma crescente ($p=0,0001$) em ambos os grupos em função do tempo (Figura 2d). O laser de baixa potência favorece a indução da atividade mitótica dos fibroblastos, que estimulam a produção do fator de crescimento fibroblástico básico, importante para a proliferação e diferenciação celular (28). Salate et al. (8) observaram alinhamento fibroblastos de melhor qualidade no grupo de ratos tratado com laser (660 nm; 2,5 J e 10 J/3, 5 ou 7 dias), cuja terapia foi iniciada seis horas após indução de lesão no tendão calcâneo utilizando guilhotina. Essas células são fundamentais para deposição e remodelação da matriz extracelular (29), assim como para a síntese do colágeno. Segundo Pires et al. (24), durante regeneração tecidual, os fibroblastos aparecem na fase proliferativa e sua redução deve ocorrer de forma gradativa, conforme observado no presente estudo. Essa posterior diminuição é desejável, pois uma atividade fibroblástica exagerada pode comprometer o processo de reparação tendínea.

Considera-se o aumento na deposição de fibras colágenas como efeito positivo ocasionado pela laserterapia (9,25,30), uma vez que está associado com proliferação de

fibroblastos (31), células responsáveis pela síntese de colágeno (22). As amostras coradas com HE revelaram na análise morfométrica, no decorrer do tempo, que a laser a base de GaAs estimulou ($p=0,0096$) de forma mais acentuada a produção de fibras colágenas em relação ao grupo controle. O aumento dessas fibras no 3º e 7º dias após iniciada a terapia foi de $40,01\pm 8,67$ e $48,85\pm 12,31$, respectivamente. Por outro lado, na segunda semana o grupo controle foi o que apresentou maior ($p=0,0096$) quantidade de fibras colágenas ($39,36\pm 4,82$). Enquanto na terceira semana os animais do grupo L voltaram a apresentar maiores quantidades ($p=0,0096$) dessas fibras ($34,33\pm 18,49$) (Tabela 3). De forma semelhante, a avaliação histológica evidenciou uma deposição significativa ($p=0,0005$) das fibras colágenas em função dos tempos avaliados (Figura 2e), onde essa deposição de fibras colágenas aumentou ($p=0,0005$) do 3º ao 14º dias em ambos os grupos, com posterior redução no grupo tratado, se mantendo constante no grupo controle (Tabela 1). Adicionalmente, foi observado maior ($p=0,0009$) organização do tecido conjuntivo no 7º dia, em ambos os grupos, segundo análise de regressão dessa característica em função do tempo ($p=0,0000$), uma vez que não houve diferença ($p=0,1220$) entre grupos (Figura 2f).

Apesar da elevada quantidade de fibras colágenas no grupo tratado com laserterapia, não houve diferença ($p=0,2274$) entre os grupos e tempos ($p=0,5077$) quando as fibras colágenas tipo I foram quantificadas na coloração de Picrosirius Red. Entretanto, essas fibras foram observadas a partir da segunda semana no grupo tratado, permanecendo no 21º dia (Tabela 3). O comportamento das fibras colágenas do tipo III foi bastante variável, embora também não tenha ocorrido diferença ($p=0,9581$) entre grupos nem entre tempos ($p=0,2588$) na quantidade dessas fibras, sendo possível observá-las no 3º dia da avaliação, quando foi encontrada uma quantidade de $12,94\pm 1,20$ e $22,83\pm 14,70$, nos grupos C e L, respectivamente. Nesse tempo as fibras se apresentavam desorganizadas e com feixes separados. Na primeira semana, os animais do grupo C apresentaram maior ($p=0,9581$) quantidade ($43,78\pm 38,87$), que foi mantida na segunda semana ($44,61\pm 9,44$). Entretanto, três semanas após indução da lesão, o grupo L apresentou maiores ($p=0,9581$) valores ($38,15\pm 24,18$) dessa característica, sendo bastante inferior ($29,80\pm 20,31$) no grupo C (Tabela 3).

Embora não significativo ($p=0,5077$), o aumento da quantidade de colágeno tipo I depois de três semanas de indução da lesão tendínea nos ratos tratados com laserterapia é um achado benéfico. Barbosa et al. (32) não encontraram diferença entre grupos tratados com laserterapia (7 J/cm^2) utilizando diferentes comprimentos de onda 660 nm ou 830 nm na quantidade de fibras colágenas tipo I e III no tendão calcâneo comum de ratos Wistar submetido à tenotomia parcial. Por outro lado, a associação da terapia com plasma rico em plaquetas revelou maior ($p<0,05$) quantidade de fibras colágenas tipo I em avaliação realizada 13 dias após tratamentos. Além disso, a associação do laser de baixa potência com o componente rico em plaquetas resultou em menor ($p<0,05$) quantidade das fibras colágenas do tipo III. Ainda no estudo desses pesquisadores, um achado interessante foi o fato do grupo de animais tratados com laserterapia apresentarem maior ($p<0,05$) quantidade de ambas as fibras, quando comparados com os tratados apenas com plasma rico em plaquetas. Esses resultados sugerem que o plasma rico em plaquetas, quando utilizado isoladamente, não apresenta uma resposta tão satisfatória quanto quando associado à terapia com laser. Os dados obtidos por esses autores não corroboram os encontrados no presente estudo, o que pode ser devido à dose de energia utilizada, comprimento de onda, mas, particularmente, com a quantidade de pontos de aplicação, que no estudo desses autores foram três, com duração de 20 segundos cada, enquanto na presente pesquisa foi utilizado apenas um ponto, com duração de 9 s. Futuros estudos devem considerar essas variáveis e, quem sabe a associação do laser com a terapia regenerativa.

A coloração Picrosirius Red permitiu avaliar facilmente a área lesionada, que se caracterizou, na maioria dos tempos e em ambos os grupos, por fibras colágenas do tipo III, que foram identificadas na coloração esverdeada, e se encontravam emaranhadas com as do tipo I, coradas em amarelo ou vermelho. Portanto, independentemente do grupo, houve elevação da

quantidade de fibras colágenas tipo III já na primeira semana, o que já era esperado, pois esse tipo de fibras deve predominar nas primeiras semanas da reparação tendínea (33), tendo em vista a sua função em manter a estrutura do tendão (32). Apesar da importância da elevação precoce do colágeno tipo III logo depois de ocorrida lesão tendínea, é necessária redução gradual dessas células, já que se trata de um colágeno menos elástico (23,34) em comparação ao colágeno tipo I. Porém essa redução não foi observada no presente estudo, possivelmente pelo tempo em que a estrutura tendínea precisa para se recuperar que pode levar até meses, conforme mencionado por Laraia et al. (18). Portanto, seria interessante investigar o processo de reparação tendínea em ratos Wistar em períodos superiores a três semanas. Por outra parte, não pode ser descartada a possibilidade de que a associação da laserterapia com atividade física pudesse ocasionar resultados diferentes. De acordo com Silva (35), que realizou um estudo com tendão calcâneo comum de ratos Wistar, uma melhor resposta ao tratamento com laser de baixa potência GaAs (3 J e 904 nm) é observada quando realizado em conjunto com o exercício excêntrico, caminhada em esteira e em declive, iniciando 24 horas após indução da tendinopatia. O autor relata que essa associação de tratamentos é fundamental para a síntese do colágeno, por favorecer a atividade fibroblástica, entre outros benefícios na estrutura e resistência do tendão. Essa associação de tratamento ainda merece ser melhor investigada.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que a laserterapia aplicada na dose de energia e comprimento de onda mencionados, iniciada 24 horas após indução da lesão cirúrgica do tendão calcâneo comum de ratos Wistar, promove aumento na qualidade e quantidade de fibras colágenas, assim como de fibroblastos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela concessão da bolsa de iniciação científica e suporte financeiro. Agradecimento também a CAPES e FAPEMIG pelos auxílios nos trabalhos científicos.

REFERÊNCIAS

1. Warden SJ. Animal models for the study of tendinopathy. *Br J Sports Med.* 2007;41(4):232-40.
2. Andres BM, Murrell GAC. Treatment of tendinopathy: what works, what does not and what is on horizon. *Clin Orthop Relat Res.* 2008;466(7):1539-54.
3. Medeiros UVD, Segatto GG. Lesões por esforços repetitivos (LER) e distúrbios osteomusculares (Dort) em dentistas. *Rev Bras Odontol.* 2012;69(1):49-54.
4. Fillipin L, Mauriz JL, Vedoveli K, Moreira AJ, Zettler ZG, Lech O, et al. Low-level laser therapy (LLLT) prevents oxidative stress and reduces fibrosis in rat traumatized Achilles tendon. *Lasers Surg Med.* 2005;37(4):293-300.
5. Wang JH-C. Mechanobiology of tendon. *J Biomech.* 2006;39(9):1563-82.
6. Dahlgren LA. Pathobiology of tendon and ligament injuries. *Clin Tech Equine Pract.* 2007;6(3):168-73.

7. Souza MV, Pinto JO. Association between nonsteroidal anti-inflammatory drugs and gastric ulceration in horses and ponies. In: Jianyuan C. Peptic ulcer disease. Rijeka: Intech; 2011. p.463-86.
8. Salate ACB, Barbosa G, Gaspar P, Koeke PU, Parizotto NA, Benze BG, et al. Effect of In-Ga-Al-P Diode laser irradiation on angiogenesis in partial ruptures of Achilles tendon in rats. *Photomed Laser Surg.* 2005;23(5):470-5.
9. Moreira FF, Oliveira ELP, Barbosa FS, Silva JG. Laserterapia de baixa intensidade na expressão de colágeno após lesão muscular cirúrgica. *Fisioter Pesqui.* 2011;18(1):37-42.
10. Pufe T, Petersen WJ, Mentlein R, Tillmann BN. The role of vasculature and angiogenesis of degenerative tendons disease. *Scand J Med Sci Sports.* 2005;15(4):211-22.
11. Silva MO, Costa MBM, Borges APB, Dornas RF, Moreira JCL, Souza MV. Indução de tendinopatia em ratos Wistar: modelo experimental. *Rev Acad Cienc Agrar Ambient.* 2013;11(3):275-82.
12. Orhan Z, Ozturan K, Guven A, Cam K. The effect of extracorporeal shock waves on a rat model of injury to tendo Achillis: a histological and biomechanical study. *J Bone Joint Surg Br.* 2004;86(4):613-8.
13. Eliasson P, Andersson T, Aspenberg P. Achilles tendon healing in rats is improved by intermittent mechanical loading during the inflammatory phase. *J Orthop Res.* 2012;30(2):274-9.
14. Van Schie HT, Bakker EM, Jonker AM, Van Weeren PR. Computerized ultrasonographic tissue characterization of equine superficial digital flexor tendons by means of stability quantification of echo patterns in contiguous transverse ultrasonographic images. *Am J Vet Res.* 2003;64(3):366-75.
15. Abate M, Gravare-Silbernagel K, Siljeholm C, Di Lori A, De Amicis D, Salini V, et al. Pathogenesis of tendinopathies: inflammation or degeneration? *Arthritis Res Ther.* 2009;11(3):1-15.
16. Sharma P, Maffulli N. Tendon injury and tendinopathy: healing and repair. *J Bone Joint Surg Am.* 2005;87(1):187-202.
17. James R, Kesturu G, Balian G, Chhabra AB. Tendon: biology, biomechanics, repair, growth, factors and involving treatment options. *J Hand Surg Am.* 2008;33A(1):102-12.
18. Laraia SEM, Silva IS, Pereira DM, Reis FA, Almeida P, Leal Júnior ECP, et al. Effect of low-level laser therapy (660 nm) on acute inflammation induced by tenotomy of Achilles tendon in rats. *Photochem Photobiol.* 2012;88(6):1546-50.
19. Pohlers D, Brenmoehl J, Loffer I, Muller CK, Leipner C, Schultze-Mosgau S, et al. TGF- β and fibrosis in different organs molecular pathway imprints. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1792(8):746-56.
20. McGrath MH. Peptide growth factors and wound healing. *Clin Plast Surg.* 1990;17(3):421-32.

21. Branton MH, Kopp JB. TGF- β and fibrosis. *Microbes Infect.* 1999;1(15):1349-65.
22. Klein MB, Yalamanchi N, Pham H, Longaker MT, Chang J. Flexor tendon healing *in vitro*: effect of TGF- β on tendon cell collagen production. *J Hand Surg Am.* 2002;27(4):615-20.
23. Marcos RL. Efeito do laser de baixa potência (810 nM) na tendinite induzida por colagenase em tendão calcâneo de ratos [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2010.
24. Pires D, Xavier M, Araujo T, Silva Júnior JA, Aimbire F, Albertini R. Low-level laser therapy (LLLT; 780 nm) acts differently on mRNA expression of anti- and pro-inflammatory mediators in an experimental model of collagenase-induced tendinitis in rat. *Lasers Med Sci.* 2011;26(1):85-94.
25. Xavier M, de Souza RA, Pires VA, Santos AP, Aimbire F, Silva JA Jr, et al. Low-level light-emitting diode therapy increases mRNA expressions of IL-10 and type I and III collagens on Achilles tendinitis in rats. *Lasers Med Sci.* 2014;29(1):85-90.
26. Nakamura K, Kitaoka K, Tomita K. Effect of eccentric exercise on healing process of injured patellar tendon in rats. *J Orthop Sci.* 2008;13(4):371-8.
27. Bjordal JM, Lopes-Martins RAB, Joensen J, Couppe C, Ljunggren AE, Stergioulas A, et al. A systematic review with procedural assessments and meta-analysis of low level laser therapy in lateral elbow tendinopathy (tennis elbow). *BMC Musculoskelet Disord.* 2008;9(75):1-15.
28. Lins RDAU, Dantas EM, Lucena KCR, Catão MHCV, Granville-Garcia AF, Carvalho Neto LG. Efeitos bioestimulantes do laser de baixa potência no processo de reparo. *An Bras Dermatol.* 2010;85(6):849-55.
29. Lui PPY, Cheuk YC, Hung LK, Fu SC, Chan KM. Increased apoptosis at the late stage of tendon healing. *Wound Repair Regen.* 2007;15(5):702-7.
30. Guerra FR, Vieira CP, Almeida MS, Oliveira LP, Aro AA, Pimentel ER. LLLT improves tendon healing through increase of MMP activity and collagen synthesis. *Lasers Med Sci.* 2013;28(5):1281-8.
31. Medrado ARAP, Pugliese LS, Reis SRA, Andrade ZA. Influence of low level laser therapy on wound healing and its biological action upon myofibroblasts. *Lasers Surg Med.* 2003;8(3):239-44.
32. Barbosa D, Souza RA, Carvalho WRG, Xavier M, Carvalho PK, Cunha CR, et al. Low-level laser therapy combined with platelet-rich plasma on the healing calcaneal tendon: a histological study in a rat model. *Lasers Med Sci.* 2013;28(6):1489-94.
33. Kajikawa Y, Morihara T, Sakamoto H, Matsuda K, Oshima Y, Yoshida A, et al. Platelet-rich plasma enhances the initial mobilization of circulation-derived cells for tendon healing. *J Cell Physiol.* 2008;215(3):837-45.

34. Barbato KBG. Efeito do uso de antiinflamatório e do exercício aeróbico sobre a regeneração tecidual e perfil biomecânico do tendão calcâneo de ratos após ruptura completa [tese]. Rio de Janeiro: Universidade do Estado do Rio de Janeiro; 2011.
35. Silva MO. Efeitos da laserterapia de baixa potência associada ou não a exercício excêntrico no tratamento de tendinopatia induzida do tendão calcâneo comum de ratos (*Rattus norvegicus*) [dissertação]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2013.

Recebido em: 11/07/2016

Aceito em: 21/06/2017

ANÁLISE COMPARATIVA DAS LEIS VIGENTES PARA A PRODUÇÃO ARTESANAL DE LEITE DE CABRA NO ESTADO DE SÃO PAULO

Elisângela Cristina Barroso Basilio¹

Mayara Gambellini Gonçalves²

Vando Edesio Soares³

RESUMO

A cabra tem acompanhado o homem desde os primórdios da humanidade, tendo sido o primeiro animal domesticado capaz de produzir alimentos. O principal produto da cabra é o leite, que pode ser consumido fluido ou transformado em queijos finos, manteiga, ricota, quefir, iogurte e outros. A legislação de Produção e o Beneficiamento, em Condições Artesanais, do Leite de Cabra e seus Derivados foi regulamentada pela Lei Estadual N.º 6.482 de 1989, sendo que no ano 2000 entrou em vigor a legislação de produtos artesanais de origem animal no Estado de São Paulo, regulamentado pela Lei N.º 10.507. Este estudo objetivou comparar as legislações vigentes no Estado de São Paulo para a produção artesanal de leite de cabra e para produtos artesanais de origem animal, com a finalidade de orientar o produtor rural sobre o melhor enquadramento que sua atividade deve ter no Sistema de Inspeção do Estado de São Paulo (SISP) de acordo com o volume e a industrialização de sua produção. A Lei n.º 6.482/1989 é específica para a produção artesanal de leite de cabra e seus derivados, mas limita o produtor rural a 500 litros por dia. Já a Lei n.º 10.507/2000 é mais abrangente, tendo critérios de registro e fiscalização mais rigorosos. Estudos como este, com possível aplicação prática, são de suma importância para maior compreensão e entendimento do produtor e médico veterinário responsável, apresentando os itens das Leis de forma clara e concisa.

Palavras-chave: leite de cabra, produção artesanal, legislação, estado de São Paulo.

COMPARATIVE ANALYSIS OF LAWS FOR THE PRODUCTION ARTESANAL GOAT'S MILK IN SÃO PAULO STATE

ABSTRACT

The goat has accompanied man since the dawn of humanity, it was the first domesticated animal capable of producing food. The main product is goat's milk, fluid that can be consumed or processed into fine cheeses, butter, cottage cheese, kefir, yogurt and others. The production of legislation and beneficiation in Handcrafted conditions, goat milk and its derivatives was regulated by State Law No. 6,482 of 1989, and in 2000 entered into force legislation handicraft products of animal origin in the State of São Paulo, regulated by Law No. 10,507. This study aimed to compare the laws in force in the State of São Paulo to the handmade production of goat milk and craft products of animal origin, in order to guide the farmers on the best framework that its activity should be in the Inspection System State of Sao Paulo (SISP) according to the volume and the industrialization of production. Law No. 6,482 / 1989 is specific to the production of handmade goat milk and its derivatives, but limits the farmers to 500 liters per day. Since Law No. 10,507 / 2000 is more comprehensive, with registration

¹ Médica Veterinária, Mestrando Produção Animal, Universidade Camilo Castelo Branco - UNICASTELO, Descalvado, SP. Correspondência.

² Biomédica, Mestranda do Programa de Microbiologia, área Industrial e Alimentos, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho – UNESP/Ibilce, São José do Rio Preto, SP.

³ Prof. Titular da Universidade Camilo Castelo Branco - UNICASTELO, Descalvado, SP. Coordenador de Mestrado Profissional em Produção Animal.

criteria and stricter supervision. Studies like this with possible practical application, are important to greater comprehension and understanding of the producer and the veterinarian responsible, presenting the items of the laws clearly and concisely.

Keywords: goat milk, craft production, legislation, state of Sao Paulo.

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LEYES PARA LA PRODUCCIÓN ARTESANAL DE LECHE DE CABRA EN SAO PAULO ESTADO

RESUMEN

La cabra ha acompañado al hombre desde los albores de la humanidad, fue el primer animal domesticado capaz de producir alimentos. El producto principal es la leche de cabra, el líquido que se puede consumir o transformada en quesos finos, mantequilla, requesón, el kéfir, yogur y otros. La producción de la legislación y de beneficio en condiciones artesanales, leche de cabra y sus derivados se rige por la Ley del Estado N° 6.482, de 1989, y en 2000 entró en vigor la legislación productos de artesanía de origen animal en el Estado de Sao Paulo, regulada por la Ley N° 10.507. Este estudio tuvo como objetivo comparar las leyes vigentes en el Estado de San Pablo a la producción artesanal de leche de cabra y de artesanía productos de origen animal, con el fin de orientar a los agricultores en el marco más adecuado que su actividad debe estar en el Sistema de Inspección Estado de Sao Paulo (SISP) de acuerdo con el volumen y la industrialización de la producción. Ley N° 6.482 / 1989 es específica para la producción de leche de cabra artesanal y sus derivados, pero limita los agricultores a 500 litros por día. Dado que la Ley N° 10.507 / 2000 es más completo, con criterios de registro y supervisión más estricta. Estudios como éste, con una posible aplicación práctica, son extremadamente importantes para una mayor comprensión y entendimiento del productor y el veterinario responsable, la presentación de los artículos de las Leyes de manera clara y concisa.

Palabras clave: leche de cabra, de producción artesanal, legislación, Estado de Sao Paulo.

INTRODUÇÃO

A cabra tem acompanhado o homem desde os primórdios da humanidade, tendo sido o primeiro animal domesticado capaz de produzir alimentos (1). Seu principal produto é o leite, que pode ser consumido fluido ou transformado em queijos finos, manteiga, ricota, quefir, iogurte e outros.

O leite de cabra é definido na legislação brasileira como o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de animais da espécie caprina sadios, bem alimentados e descansados (2). Sua composição varia de acordo com a raça, condições ambientais, estágio da lactação, alimentação, cuidados com o animal, ciclo estral, estado de saúde, idade e quantidade de leite produzido (3).

A exploração dos caprinos para leite apresenta-se em expansão, devido ao leite ser considerado um produto de alto valor nutritivo e à capacidade dos caprinos de se adaptar a condições criatórias variáveis (4). No Brasil, a caprinocultura conta com o incentivo de ações conjuntas de governos estaduais, instituições de pesquisa e criadores, atingindo uma produção estimada de leite de 21 milhões de litros e envolve, em grande parte, empresas de pequeno porte (5).

A produção e comercialização dos produtos artesanais de leite pode incrementar a geração de lucros nas micro e pequenas propriedades rurais. Nestas propriedades, a produção de leite de cabra e seus derivados é regulamentada por legislação específica. O produtor deve estar ciente

das exigências de cada legislação e escolher qual melhor atende suas necessidades, considerando a origem e o volume da matéria-prima e os produtos a serem comercializados.

A legislação de Produção e o Beneficiamento, em Condições Artesanais, do Leite de Cabra e seus Derivados foi regulamentada pela Lei Estadual N.º 6.482, de 5 de setembro de 1989 (6), sendo que no ano 2000 entrou em vigor a legislação de produtos artesanais de origem animal no Estado de São Paulo, regulamentado pela Lei N.º 10.507 de 01 de março de 2000 (7) sendo mais específica com relação as instalações e equipamentos.

A Lei N.º 6.482, de 05 de setembro de 1989 dispõe sobre a Produção e o Beneficiamento, em Condições Artesanais, do Leite de Cabra e seus Derivados. Já a Lei N.º 10.507, de 1.º de março de 2000 estabelece normas para a elaboração, sob a forma artesanal, de produtos comestíveis de origem animal e sua comercialização no Estado de São Paulo e dá providências correlatas.

Considerando a existência destas Leis no Estado de São Paulo, este estudo faz uma comparação dos pontos de acordo, desacordo e complementares das Leis para produção de leite de cabra, em escala artesanal, com a finalidade de orientar o produtor rural na escolha de qual legislação solicitar registro junto ao CIPOA – Centro de Inspeção de Produtos de Origem Animal, da CDA - Coordenadoria de Defesa Agropecuária, da SAA/SP - Secretaria de Agricultura e Abastecimento de São Paulo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi aplicada a este estudo uma pesquisa qualitativa, explicativa e documental, pela análise e comparação das legislações vigentes para a produção artesanal de leite de cabra e derivados, utilizando-se também artigos, leis e informações disponíveis na literatura. As Leis comparadas e discutidas neste estudo são a Lei nº 10507/2000 e Lei nº 6482/1989, que dispõe sobre a produção artesanal de leite e derivados. Seus decretos e resoluções foram citados e não especificados e discutidos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O produtor, ao escolher em qual Lei adequa-se sua produção artesanal de leite de cabra e derivados deverá considerar todos os pontos abordados na Lei, desde a matéria-prima até a distribuição para comercialização.

Matéria-prima

O primeiro item considerado é a matéria-prima e quantidade desta que será utilizada. Se o objetivo do produtor rural for produção de leite integral pasteurizado de cabra, com volume inferior a 500 litros/dia, com produção de derivados e recebimento de matéria prima de terceiros, adequar-se-á na Lei n.º 6.482/1989. Porém, se o objetivo do produtor rural for a produção artesanal em pequena escala de produtos lácteos, com processamento de até 300 litros de leite diários, com matéria-prima de produção própria, podendo adquiri-la de terceiros até o limite de 50% da quantidade de matéria-prima de produção própria - desde que tenha comprovação de inspeção higiênico-sanitária por órgão oficial - enquadrando-se na Lei n.º 10.507/2000.

Contudo, se o objetivo do produtor for a produção de leite pasteurizado de cabra/outros em maior escala, com volume superior a 500 litros/dia, com produção de derivados e recebimento de terceiros, adequar-se-á na Lei nº 8.208/1992 (8), porém, deixará de ser considerado como produção artesanal, passando a classificar-se como produção industrial.

A Lei n.º 6.482/1989, em seu artigo 7, proíbe a mistura de leite de cabra com a de outras espécies para comercialização. Nas Leis 10.507 e 8.208, não consta esta informação, ausência

falha, uma vez que podem ocorrer misturas. O artigo 33 da referida Lei, menciona ainda as fraudes, adulterações e falsificações do leite de cabra, quando estes: sofrerem adição de água e de substâncias conservantes ou estranhas à sua composição, tiver sofrido subtração de seus componentes, estiver cru e for vendido como pasteurizado e estiver exposto de forma violável. Tais características, embora estejam descritas na Lei n.º 6.482, são critérios que devem ser seguidos e considerados em qualquer tipo de produção láctea, como garantia da qualidade do produto.

Rebanho

Nos termos do art. 2º da Lei n.º 6.482/89, os criadores de cabra deverão registrar seu rebanho na Secretaria de Estado da Agricultura, obrigando-os ao acompanhamento de Médico Veterinário para garantir higiene e sanidade dos animais, atualizando seus dados a cada 2 anos.

Em contrapartida, a Lei n.º 10.507/00 é vaga ao descrever que o controle sanitário dos rebanhos que gerem a matéria-prima para a sua produção, segue a orientação dos órgãos de defesa sanitária animal do Estado de São Paulo, sem especificá-las.

Produção

A Lei n.º 6482/89 estabelece os processos de beneficiamento do leite de cabra, dividindo-os em filtração, pasteurização, refrigeração, acondicionamento e outras práticas tecnicamente aceitáveis. Todo leite de cabra, destinado ao consumo, deve ser filtrado, antes de qualquer outra operação de beneficiamento. O filtro deve ser de fácil desmontagem, para completa higienização. No caso de pasteurização, permite-se o emprego de forma lenta e de curta duração, ficando proibida a repasteurização do leite de cabra, nos termos do art. 25 da Lei. Ademais, em seu art. 8º, afirma ser obrigatória a produção do leite de cabra em condições higiênicas, desde a fonte de origem, seja qual for a quantidade produzida e seu aproveitamento.

Já a Lei n.º 10507/00, não apresenta detalhadamente os quesitos de produção, exigindo apenas que a elaboração dos produtos seja realizada em estabelecimentos apropriados para este fim, ficando vedado o processamento em locais destinados à residência ou a outras atividades que prejudiquem o processamento de produtos comestíveis.

Registro

Dispõe a Lei n.º 10.507/00, em seu art. 9º, que o produtor rural processador artesanal de produtos de origem animal deverá registrar-se junto ao Centro de Inspeção de Produtos de Origem Animal (CIPOA), do Grupo de Defesa Sanitária Animal, da Coordenadoria de Defesa Agropecuária, da Secretaria de Agricultura e Abastecimento, exigindo ao produtor requisitos como: apresentação do requerimento dirigido ao CIPOA, comprovação da condição de produtor rural, atestados ou exames, a critério do CIPOA. Deste modo, o registro referente ao requerimento, terá validade de 1 ano, devendo a solicitação de renovação ser efetuada até 30 dias antes do seu vencimento.

Outrossim, nos termos do art. 10, o produtor artesanal deverá apresentar relatório mensal com os dados de produção, em conformidade com as normas estabelecidas pelo Centro de Inspeção de Produtos de Origem Animal, bem como manter livro para registro das informações, recomendações e visitas da fiscalização, efetuadas para controle higiênico-sanitário e tecnológico da produção.

Na Lei n.º 6482/89 a aplicação do registro se fará na conformidade e em obediência ao previsto nas normas técnicas a serem baixadas pela Secretaria de Agricultura, cabendo, portanto, ao médico veterinário responsável tomar ciência do disposto nas normas e aplique ao registro do produtor.

Comercialização

Nos termos da Lei n.º 10.507/00, o transporte e a armazenagem dos produtos deverão obedecer às condições estabelecidas em normas técnicas da Secretaria de Agricultura e Abastecimento.

Ademais, as embalagens e os rótulos dos produtos artesanais deverão conter: a) todas as informações preconizadas pelo Código de Defesa do Consumidor; b) a indicação de que é produto artesanal; c) o seu número de registro no Centro de Inspeção de Produtos de Origem Animal; d) a indicação "Serviço de Inspeção do Estado de São Paulo - SISP".

No que tange às normas referentes à comercialização do leite de cabra, a Lei n.º 6482/89 estabelece que o leite só poderá ser enviado a estabelecimento de comercialização após a pasteurização, devidamente embalado. É proibido o emprego de substâncias químicas para conservação do referido tipo de leite.

Outrossim, o art. 34 da Lei supracitada dispõe que, só será permitida a exposição à venda do leite de cabra e seus derivados nos estabelecimentos comerciais que disponham de sistema de refrigeração exclusivo à sua conservação ou com uma seção para esse fim, condicionada às peculiaridades da tecnologia específica para cada produto.

Por fim, fica proibida a abertura da embalagem do leite de cabra para venda fracionada do produto, salvo quando destinada ao consumo imediato nas leiterias, cafés, bares e outros estabelecimentos que sirvam refeições, nos termos da Lei n.º 6482/89. Portanto, observa-se que a Lei n.º 6482/89 é mais detalhada quanto às condições de comercialização comparada à Lei n.º 10.507/00. Contudo, esta especifica normas para rotulagem.

Fiscalização, Inspeção Sanitária e Multas

A Lei n.º 6482/89 é breve e concisa ao estabelecer que a propriedade rural, para efeito de aproveitamento do leite de cabra destinada a alimentação humana, será interditada quando se verificar qualquer surto de doença infecto contagiosa que justifique a medida. Apresentando-se mais específica e exigente, a Lei n.º 10.507/00, nos termos do art. 8º, delega a competência de fiscalização higiênico-sanitária e tecnológica dos produtos artesanais comestíveis à Coordenadoria de Defesa Agropecuária da Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Esta Lei preconiza também a possibilidade do Estado de São Paulo, pela Secretaria de Agricultura e Abastecimento, celebrar convênios com os Municípios que disponham de estrutura técnica e laboratorial, bem como com outras pessoas jurídicas de direito público capacitadas, delegando-lhes a fiscalização prevista, visando garantir os aspectos higiênico-sanitários, tecnológicos e o controle de qualidade dos produtos.

Os infratores desta lei, de seus regulamentos e demais normas dela decorrentes, ficam sujeitos à advertência, multa, apreensão ou condenação das matérias-primas, produtos, subprodutos e derivados de origem animal adulterados ou que não apresentam condições higiênico-sanitárias adequadas ao fim a que se destinam; suspensão das atividades, interdição total ou parcial do estabelecimento, cancelamento do registro quando há motivo de interdição.

Ressalta-se neste item, que, conforme dispõe o art. 7º da Lei n.º 7889/89, nenhum estabelecimento industrial de produtos de origem animal poderá funcionar no País sem que esteja previamente registrado no órgão competente para a fiscalização de sua atividade.

Análises

A Lei n.º 6482/89, estabelece, em seus artigos 28 e seguintes, que a análise do leite de cabra, seja qual for o fim a que se destine, abrangerá os caracteres organolépticos e as provas de precisão e/ou rotina. E, após as provas de rotina, para que o leite de cabra seja considerado

anormal ou fora do padrão, deverá ser submetido a, pelo menos, três provas de rotina, ou uma prova de rotina e uma de precisão. Para a determinação do padrão bacteriológico e das enzimas do leite, adotar-se-ão as provas de redutase, fosfatase, peroxidase, contagem microbiana e testes de presença de coliformes, devendo ser, para o leite pasteurizado, a prova de fosfatase negativa e a peroxidase positiva.

Considera-se leite de cabra impróprio para consumo "*in natura*", o que não satisfaz as exigências previstas para a sua produção e, ainda, que não atenda as exigências da lei. Outrossim, o leite de cabra para ser exposto ao consumo, deve satisfazer as exigências do leite integral.

No que tange a Lei n.º 10.507/00, estipula apenas que o Centro de Inspeção de Produtos de Origem Animal estabelecerá em regulamento, sem ônus para o produtor, as análises de rotina necessárias para cada produto processado.

Comparação

Na tabela 1, estão relacionados os itens descritos nas Leis, facilitando a visualização das exigências a sua interpretação pelo produtor.

Tabela 1. Comparação dos itens das Leis vigentes no Estado de São Paulo para produção artesanal de leite de cabra e derivados.

ITENS	Lei N.º 6.482 05 de setembro de 1989	Lei N.º 10.507 01 de março de 2000
DISPOSIÇÃO	Dispõe sobre a produção e o beneficiamento, em condições artesanais, do leite de cabra e derivados	Estabelece normas para a elaboração, sob a forma artesanal, de produtos comestíveis de origem animal
REGULAMENTAÇÕES	Resolução SAA N.º 93, de 14/10/1993	Decreto N.º 45.164, de 5/09/2000; Resolução SAA n.º 30, de 24/09/2001; Resolução SAA n.º 43, de 13/09/2010
MATÉRIA-PRIMA	Leite de cabra de produção própria, admitindo-se a utilização de matéria-prima adquirida de terceiros.	Matéria-prima de produção própria. Admite-se a utilização de matéria-prima adquirida de terceiros até o limite de 50% da quantidade de matéria-prima de produção própria.
QUANTIDADE	Quantidade que pode variar até 500 litros/dia e, ou, também elabore produtos derivados do leite.	Até 300 litros/dia (como matéria-prima para produtos lácteos)
PRODUTOS	Leite de cabra integral e pasteurizado e seus derivados	Produtos de origem animal
REBANHO	- Registro do rebanho na Secretaria de Estado da Agricultura, atualizando os dados a cada 2 anos. - Manutenção do estado sanitário do rebanho, com medidas profiláticas e terapêuticas.	Obrigatoriedade do controle sanitário dos rebanhos que gerem a matéria-prima para a sua produção, observando a orientação dos órgãos de defesa sanitária animal do Estado de São Paulo.

PRODUÇÃO	<ul style="list-style-type: none"> - Condições Higiênicas obrigatórias, independente da quantidade produzida e seu aproveitamento. - Para os leites de cabra provenientes de outros criadores, é obrigatória a retirada prévia de amostras de cada criador para fins de análise individual. - A ordenha deve ser feita diariamente com regularidade, e o leite deve ser passado por tela milimétrica, convenientemente limpa momentos antes do uso, para outro vasilhame previamente higienizado. - O leite de cabra só poderá ser retido na propriedade quando pasteurizado e refrigerado. 	<ul style="list-style-type: none"> - Elaboração dos produtos em estabelecimentos apropriados para este fim, ficando vedado o processamento em locais destinados à residência ou a outras atividades que prejudiquem o processamento de produtos comestíveis. - Leite de cabra provenientes de outros criadores que tenha comprovação de inspeção higiênico-sanitária por órgão oficial.
BENEFICIAMENTO E INDUSTRIALIZAÇÃO	<ul style="list-style-type: none"> - O uso de substâncias químicas para a conservação de leite de cabra é proibido. -O leite só poderá ser enviado a estabelecimento de comercialização, após a pasteurização, devidamente embalado. - É proibida a repasteurização do leite de cabra. 	<ul style="list-style-type: none"> - As instalações do estabelecimento processador artesanal de alimentos de origem animal observarão preceitos simplificados, no tocante à construção e aos equipamentos, estabelecidos em normas técnicas da Secretaria de Agricultura e Abastecimento.
PASTEURIZAÇÃO	<p>Permite-se os processos de pasteurização lenta e de curta duração.</p>	<p>O leite deverá ser pasteurizado sempre que normas higiênico-sanitárias e tecnológicas o exigirem, aceitando-se a pasteurização lenta.</p>
ENVASAMENTO	<ul style="list-style-type: none"> - Envasado em sistema automático ou semi automático. - Embalado em sacos plásticos deverá ser fechado por instrumento próprio, e se for embalado em garrafas plásticas terá uma terminação para fechamento adaptada de maneira inviolável. As embalagens não poderão ser reaproveitadas. 	<p>As embalagens e os rótulos dos produtos artesanais deverão conter todas as informações preconizadas pelo Código de Defesa do Consumidor; a indicação de que é produto artesanal; e o seu número de registro no Centro de Inspeção de Produtos de Origem Animal e a indicação "Serviço de Inspeção do Estado de São Paulo - SISP".</p>
TRANSPORTE	<p>Realizado mediante acondicionamento em caixas isotérmicas ou em cestas plásticas rigorosamente higienizadas que serão transportadas ao comércio distribuidor por meio de veículos dotados de carroceria isotérmica.</p>	<p>O transporte e a armazenagem dos produtos artesanais deverão obedecer às condições estabelecidas em normas técnicas da Secretaria de Agricultura e Abastecimento.</p>
ANÁLISES	<ul style="list-style-type: none"> - Características organolépticas e provas de precisão e /ou rotina, sendo submetido a, pelo menos, 3 (três) provas de rotina, ou 1 (uma) prova de rotina e 1 (uma) de precisão. - Provas de redutase, fosfatase, peroxidase, contagem microbiana e testes de presença de coliformes. - Provas para diagnóstico de brucelose e de tuberculose, são obrigatórias a cada 6 meses e seus resultados encaminhados à Casa de Agricultura local. 	<p>O Centro de Inspeção de Produtos de Origem Animal estabelecerá em regulamento, sem ônus para o produtor, as análises de rotina necessárias para cada produto processado.</p>

COMERCIALIZAÇÃO	Exposição à venda do leite de cabra e seus derivados permitida nos estabelecimentos comerciais que disponham de sistema de frio exclusivo à sua conservação ou com uma seção para este fim, condicionada às peculiaridades de tecnologia específica para cada produto.	Os produtos de que trata este artigo poderão ser comercializados em todo o Estado de São Paulo, cumpridos os requisitos desta lei.
REGISTRO	A aplicação das disposições desta lei, se fará na conformidade e em obediência ao previsto nas normas técnicas a serem baixadas pela Secretaria de Agricultura.	<ul style="list-style-type: none"> - Registrar-se junto ao CIPOA. - O registro terá validade de 1 ano, com renovação até 30 (trinta) dias antes do seu vencimento. - Apresentação de relatório mensal com os dados de produção, em conformidade com as normas preconizadas pelo CIPOA, bem como manter livro para registro das informações, recomendações e visitas da fiscalização, efetuadas para controle higiênico-sanitário e tecnológico da produção. - Registro da sua composição e método de processamento, observadas as normas técnicas estabelecidas pela Secretaria de Agricultura e Abastecimento.
PENALIDADES	<ul style="list-style-type: none"> - As penalidades imputadas pelo não cumprimento do estabelecido nesta lei, serão aquelas previstas na legislação pertinente. - Será interdita a propriedade rural para efeito de aproveitamento do leite de cabra destinada a alimentação humana, quando se verificar qualquer surto de doença infecto contagiosa que justifique a medida. 	<ul style="list-style-type: none"> - Os infratores desta lei, de seus regulamentos e demais normas dela decorrentes, ficam sujeitos às seguintes penalidades, sem prejuízo de outras sanções cabíveis: advertência, multa, apreensão ou condenação das matérias-primas, produtos, subprodutos e derivados de origem animal adulterados ou que não apresentem condições higiênico-sanitárias adequadas ao fim a que se destinam; suspensão das atividades, interdição total ou parcial do estabelecimento, cancelamento do registro quando o motivo da interdição prevista no inciso anterior não for sanado no prazo de 12 (doze) meses.

CONCLUSÕES

O produtor rural artesanal do Estado de São Paulo tem duas possibilidades de enquadramento em lei, considerando a origem da matéria-prima, o volume de produção e o produto acabado.

A Lei n.º 6.482/1989 é específica para a produção artesanal de leite de cabra e seus derivados, sendo mais detalhada quanto aos critérios de produção, porém breve quanto aos aspectos burocráticos, além de limitar o produtor rural a 500 litros por dia. Já a Lei n.º 10.507/2000 é abrangente, tendo critérios de registro e fiscalização mais rigorosos. Se o produtor optar pelo aumento na produção, esta deixará de ser em escala artesanal, enquadrando-se na Lei n.º 8208/92.

Ambas as Leis permitem interpretações ambíguas e apresentam critérios vagos, que permitem brechas. Critérios apresentados especificamente em uma Lei são ausentes na outra. Portanto, é cabível a elaboração de uma nova lei, adequada ao produtor contemporâneo, que

contenha as especificações das duas leis, e os demais critérios pertinentes, de modo que sua apresentação seja clara e completa, de entendimento tanto do médico veterinário, quanto do produtor rural, possibilitando melhoras na produção e fiscalização do leite de cabra e de seus derivados, colaborando para o progresso da caprinocultura brasileira.

REFERÊNCIAS

1. Ribeiro AC. Estudo dos efeitos genéticos e de ambiente sobre características de importância econômica em caprinos da raça Saneen [dissertação]. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista; 1997.
2. Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BR). Secretaria de Defesa Agropecuária. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite de cabra. Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento; 2000. (Instrução normativa nº 37, de 31 de outubro de 2000).
3. Alves FSF, Pinheiro RR. A importância do leite de cabra na nutrição humana [Internet]. Groaíras: Embrapa; 2005 [cited 2015 Aug 27]. Available from: http://www.capritec.com.br/artigos_embrapa020829a.htm
4. Amaral DS, Amaral DS, Moura Neto LG. Tendências de consumo de leite de cabra: enfoque para a melhoria da qualidade. Rev Verde. 2011;6(1):39-42.
5. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Caprinos e ovinos. Brasília: MAPA; 2015.
6. Assembléia Legislativa do Estado de São Paulo (BR). Lei nº 6.482, de 5 de Setembro de 1989. Dispõe sobre a produção e o beneficiamento, em condições artesanais, do leite de cabra e seus derivados. Diário Oficial da União. 6 Set 1989.
7. Assembléia Legislativa do Estado de São Paulo (BR). Lei nº 10.507, de 1 de Março de 2000. Estabelece normas para a elaboração, sob a forma artesanal, de produtos comestíveis de origem animal e sua comercialização no Estado de São Paulo e dá providências correlatas. Diário Oficial da União. 2 Mar 2000.
8. Assembléia Legislativa do Estado de São Paulo (BR). Lei nº 8.208, de 30 de Dezembro de 1992. Dispõe sobre a prévia inspeção sanitária dos produtos de origem animal, institui taxas e dá outras providências. Diário Oficial da União. 31 Dez 1992.

Recebido em: 03/09/2016

Aceito em: 05/07/2017

INFLUÊNCIA DA MARCHA SOBRE O ERITROGRAMA EM EQUINOS DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR

Clarisse S Coelho¹
Vinicius Vaneli Fardin²
Gabriella Agra de Omena Silva³
Renan Silva Carvalho²
Evandro Pereira Neto⁴

RESUMO

O objetivo da presente pesquisa foi avaliar a influência do exercício físico (marcha) sobre o eritrograma de equinos da raça Mangalarga Marchador. Para tal, 15 equinos da referida raça, nove fêmeas e seis machos, com $4,6 \pm 1,9$ anos de idade e pesando $399,0 \pm 34,0$ kg, foram avaliados em quatro diferentes momentos: antes (T0), 5 minutos (T1), 30 minutos (T2) e 120 minutos (T3) após a execução de 40 minutos de marcha. Amostras de sangue foram obtidas para determinar volume globular (VG), número de eritrócitos e concentração de hemoglobina. Posteriormente foram calculados volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). As variáveis foram analisadas quanto a normalidade pelo teste de Kolmorov-Smirnov, seguido de análise de variância e comparações entre médias pelo teste de Tukey, considerando $p < 0,05$. Os resultados demonstraram que a marcha influenciou de forma significativa VG ($p = 0,0016$), número de eritrócitos ($p = 0,0013$) e concentração de hemoglobina ($p = 0,0004$), com maiores valores registrados em T1. Não foram observadas diferenças para VCM ($p = 0,8697$) e CHCM ($p = 0,4980$). Foi possível concluir que a marcha no protocolo proposto levou a importantes alterações no eritrograma e tais alterações devem ser bem compreendidas e caracterizadas para seu uso correto na avaliação do condicionamento atlético de equinos marchadores.

Palavras-chave: cavalos, eritrócitos, exercício.

INFLUENCE OF MARCHA GAIT ON THE ERYTHROGRAM OF MANGALARGA MARCHADOR HORSES

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the influence of physical exercise (marcha gait) on the erythrogram of Mangalarga Marchador. Fifteen Mangalarga Marchador horses, nine females and six males, aged 4.6 ± 1.9 years old and weighting 399.0 ± 34.0 kg, were evaluated in four different moments: before (T0), 5 minutes (T1), 30 minutes (T2) and 120 minutes (T3) after aerobic exercise characterized by 40 minutes of marcha gait. Blood samples were taken to determine packed cell volume (PCV), concentration of erythrocytes and hemoglobin. From these data, mean corpuscular volume (MCV) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) were calculated. Variables were analyzed for normality with Kolmorov-Smirnov test and comparisons were made using Tukey test, considering $p < 0.05$. Results showed that the imposed exercise altered significantly PCV ($p = 0.0016$) and concentration of erythrocytes ($p = 0.0013$) and hemoglobin ($p = 0.0004$), with higher values recorded on T1. No significant differences were observed for hematological indexes MCV ($p = 0.8697$) and MCHC ($p = 0.4980$).

¹ Programa de Mestrado em Ciência Animal - Universidade Vila Velha (UVV-ES). Correspondência.

² Residente do Setor de Grandes Animais – Hospital Veterinário - UVV-ES.

³ Graduando Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia –UVV-ES.

⁴ Universidade Federal da Bahia (UFBA).

It was possible to conclude that the physical activity imposed led to important alterations on erythrogram and these modifications have to be well comprehended to be used appropriately on the evaluation of marchador horses.

Keywords: horses, erythrocytes, exercise.

INFLUENCIA DE LA MARCHA EN EL ERITROGRAMA DE CABALLOS MANGALARA MARCHADOR

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar la influencia del ejercicio físico (marcha) sobre el eritrograma de equinos de la raza Mangalarga Marchador. Para esto, 15 equinos, nueve hembras y seis machos, con $4,6 \pm 1,9$ años de edad y pesando $399,0 \pm 34,0$ kg, fueron evaluados en cuatro tiempos diferentes: antes (T0), 5 minutos (T1), 30 minutos (T2) y 120 minutos (T3) después de 40 minutos de marcha. Muestras de sangre fueron obtenidas para determinar el volumen globular (VG), número de eritrocitos y concentración de hemoglobina. Posteriormente, fueron calculados el volumen corpuscular medio (VCM) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM). Estas variables fueron analizadas en cuanto a normalidad, por medio del teste de kolmorov-smirnov, seguido de análisis de variancia y comparaciones entre las medias por el teste de Tukey, considerando $p < 0,05$. Los resultados demostraron que la marcha influyó de forma significativa el volumen globular ($p = 0,0016$), número de eritrocitos ($p = 0,0013$) y concentración de hemoglobina ($p = 0,0004$), con mayores valores registrados en T1. No fueron observadas diferencias para VCM ($p = 0,8697$) y CHCM ($p = 0,4980$). Fue posible concluir que la marcha, en el protocolo propuesto, produjo importantes alteraciones en el eritrograma.

Palabras clave: caballos, eritrocitos, ejercicio.

INTRODUÇÃO

O exercício físico realizado durante treinamentos ou competições gera em humanos e animais variações em diversos parâmetros fisiológicos (1). A compreensão de tais mecanismos e sua caracterização são essenciais na avaliação da performance e da eficácia de um programa de treinamento / condicionamento (2). Existem diversos estudos na literatura (3-6) avaliando a performance de cavalos de diversas modalidades atléticas, sendo poucos os relatos envolvendo equinos da raça Mangalarga Marchador, treinados em condições climáticas tropicais. Tipicamente brasileira, os animais da referida raça têm um caminhar característico, a marcha, que representa um teste exaustivo sem similar em todo o mundo, onde o animal realiza um exercício de longa duração, com grande gasto energético, num percurso em círculo, sem repouso e em velocidade constante (7).

Tyler-McGowan et al. (8) citaram que variáveis hematimétricas, tais como volume globular (VG), contagem de eritrócitos e concentração de hemoglobina, podem ser usadas na avaliação do exercício e do treinamento físico. Segundo Manohar et al. (9), aumentos nos valores hematimétricos ocorrem de acordo com a intensidade do exercício e se devem à hemoconcentração e/ou à contração esplênica, tendendo a normalidade 45 minutos após a atividade física. Esse efeito fisiológico é vantajoso, particularmente nos equinos atletas, pois eleva a capacidade aeróbica ao aumentar a quantidade de eritrócitos na circulação (10) e aumentar o fluxo de sangue da microcirculação muscular (11). Exercícios de intensidade submáxima geram menor atividade simpática, e conseqüentemente uma contração esplênica incompleta, em relação aos exercícios de alta intensidade (12).

Kowal et al. (4) trabalharam com equinos da raça Puro Sangue Inglês (PSI), submetidos a teste de esforço em esteira, e encontraram aumentos significativos no VG, contagem de eritrócitos e concentração de hemoglobina relacionados com o incremento do esforço físico. Evans (13) cita que o VG aumenta linearmente com o aumento da intensidade do exercício, podendo atingir 61% em PSI. Em pesquisa realizada com 24 equinos treinados da raça Puro Sangue Árabe (PSA) submetidos ao teste de esforço crescente em esteira ergométrica, Ferraz et al. (5) descreveram variações significativas a partir do repouso para todas as variáveis hematimétricas, relacionando tais achados com a contração esplênica esforço-dependente. Tais resultados foram semelhantes aos encontrados por Machado (14) que estudou o metabolismo oxidativo eritrocitário em equinos da raça Árabe submetidos a exercício em esteira.

Avaliando equinos mestiços Quarto de Milha submetidos à prova de *team penning*, Miranda et al. (11) observaram aumentos significativos para hemoglobina, hemácias e VG, relacionando tais achados a uma associação entre a perda de líquidos pela sudorese, troca transitória de fluidos entre compartimento extra e intravascular e contração esplênica.

Apesar de vários trabalhos estudando os efeitos do exercício físico sobre as diversas variáveis hematimétricas, Miranda et al. (11) citam que os parâmetros hematológicos são influenciados pela raça, idade, sexo, alimentação e exercício físico e daí a importância de avaliar equinos nas diferentes modalidades atléticas. As informações são escassas em relação a equinos da raça Mangalarga Marchador e, sendo assim, o objetivo da pesquisa foi avaliar a influência do exercício físico (marcha) sobre o eritrograma em equinos da raça Mangalarga Marchador criados no Estado do Espírito Santo. A hipótese dos autores é que ocorram modificações e as mesmas devem ser bem caracterizadas para auxiliar de forma correta a avaliação de performance atlética.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente projeto de pesquisa teve aprovação do Comitê de Bioética Animal da Universidade Vila Velha (CEUA - UVV-ES), sendo registrado sob o número 72/2009, aprovado em 25 de fevereiro de 2010.

Foram utilizados 15 equinos da raça Mangalarga Marchador, sendo nove fêmeas e seis machos, pesando em média 399 ± 34 kg, com idade variando entre três e dez anos (média de $4,6 \pm 1,9$ anos de idade), considerados clinicamente hígidos, mediante exames físicos e laboratorial (hemograma) (15). Estes animais pertencem a dois haras de criadores de equinos Mangalarga Marchador, localizados na região de Vitória – ES, Brasil.

Todos os animais eram submetidos ao mesmo tipo de manejo alimentar (16) e sanitário. A dieta dos animais foi feita com feno de coast-cross (*Cynodon dactylon*) e sal mineral inorgânico (Essencefós, Nutrimentos Presence, Paulínia, SP, Brasil) *ad libitum* e ração comercial (1,2 kg/ 100 kg de peso corporal – Corcel Tradicional, Nutrimentos Presence, Paulínia, SP, Brasil) com 12% proteína bruta (3500 kcal de energia), divididas em três porções diárias. A água foi fornecida *ad libitum*.

Todos os equinos selecionados encontravam-se no mesmo estágio de treinamento e executavam tal atividade há pelo menos seis meses. O treinamento semanal consistia de exercício com o animal ao passo sendo puxado pelo cabresto por um período médio de 60 minutos, duas vezes na semana, alternando nos demais três dias em exercícios montados (marcha), por 40 minutos. Aos finais de semana, os animais marchavam por 20 minutos em cada dia.

Os animais foram submetidos a um teste físico a campo, no qual executaram marcha batida, sendo 20 minutos em sentido horário e 20 minutos em sentido anti-horário, em protocolo similar ao recomendado pela Associação Brasileira de Criadores de Cavalos da raça Mangalarga Marchador (ABCCMM). Todas as atividades foram realizadas no período da

manhã (entre 6h:00 e 11h:00), quando também foram registradas as características da pista. Foram usados dois cavaleiros com peso corpóreo aproximado de 70 kg e altura de 1,70m.

Cada cavalo foi avaliado antes do exercício físico, com o animal ainda na baia (T0), logo após o término da atividade física, com o animal ainda na pista (T1) e com 30 minutos (T2) e 2 horas de recuperação (T3). Amostras de sangue foram obtidas, após antisepsia local, por meio de venopunção da jugular com agulhas descartáveis (25 mm x 0,8 mm), utilizando-se sistema a pressão negativa, em tubos de vidro contendo anticoagulante EDTA com capacidade de 4 mL, para determinação do eritrograma. Todas as 60 amostras foram transportadas sob refrigeração ao Laboratório Clínico do Centro de Diagnóstico Veterinário (CDV, Vitória-ES), onde foram imediatamente processadas.

Contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina e volume globular, bem como cálculos dos índices hematimétricos (VCM – volume corpuscular médio e CHCM – concentração de hemoglobina corpuscular média) foram feitos em analisador hematológico (17) (Coulter HmX Hematology Analyzer, Beckman Coulter, Brea, CA, USA).

Adicionalmente, durante o exercício, os equinos usaram um monitor cardíaco com GPS (RS800CX-G3, Polar Electro, Lake Success, NY, EUA) para registro da velocidade e distância percorrida por cada animal. Os dados foram analisados usando o programa ProTrainer (Polar Electro, Lake Success, NY, EUA).

A análise dos resultados foi realizada utilizando-se o programa estatístico computadorizado GraphPad InStat, versão 3.0 (GraphPad, La Jolla, CA, USA) e os resultados foram expressos na forma de média \pm desvio-padrão. Os dados foram avaliados quanto a normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, seguido de análise de variância de medidas repetidas (ANOVA) e comparação entre médias (teste de Tukey). Nestas análises levou-se em consideração a influência do exercício físico (marcha) sobre as concentrações das variáveis estudadas. Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados significativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos exames clínicos realizados para seleção dos equinos usados na presente pesquisa, as médias registradas foram: frequência cardíaca de 45 bpm, frequência respiratória de 20 mpm, motilidade intestinal presente à auscultação, mucosas róseas e temperatura retal de 37,5°C. Na avaliação do hemograma, os valores médios encontrados foram de $7,25 \times 10^6/\mu\text{L}$ para número de eritrócitos, 11,99 g/dL para concentração de hemoglobina, 35% para volume globular, 49,01 fl para VCM (volume corpuscular médio), 33,79 g/dL para CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média) e 9533 leucócitos/ μL . Tais valores encontram-se dentro da normalidade segundo Robinson (18), com todos os animais selecionados registrando valores dentro da faixa de normalidade.

Os equinos usados foram exercitados em três dias, sendo cinco animais em cada dia. As características do clima local são típicas de regiões tropicais, com altas temperaturas e alta umidade. A temperatura média local nos três dias foi de 24°C e umidade relativa do ar de 80%. A pista de grama oval de aproximadamente 130 m encontrava-se seca. Segundo os cavaleiros, os animais responderam bem a atividade física executada, não demonstrando desconforto durante a realização da mesma. Os animais atingiram velocidade média de $11,3 \pm 0,5$ km/h e uma distância média de $7,2 \pm 1,1$ km durante os 40 minutos de exercício, similar a descrição de Rezende (7).

Na Tabela 1 estão apresentados os valores médios e desvios-padrão para os valores do eritrograma, além dos valores de p obtidos na análise de variância (ANOVA). É possível observar que houve aumento significativo do VG ($p=0,0016$), do número de eritrócitos ($p=0,0013$) e da concentração de hemoglobina ($p=0,0004$), com maiores valores registrados em T1. Não foram observadas diferenças para VCM ($p=0,8697$) e CHCM ($p=0,4980$).

Tabela 1. Resultados do eritrograma nos equinos da raça Mangalarga Marchador avaliados durante uma sessão de exercício físico (marcha). Vila Velha, 2016.

	T0	T1	T2	T3	p
VG (%)	35,5 ± 4,6 ^{a*}	40,6 ± 4,9 ^b	34,8 ± 4,2 ^a	35,8 ± 3,3 ^a	0,0016
He (x10 ⁶ /μL)	7,3 ± 0,9 ^a	8,5 ± 1,1 ^b	7,1 ± 1,2 ^a	7,3 ± 0,8 ^a	0,0013
Hb (g/dL)	12,0 ± 1,5 ^a	14,0 ± 1,7 ^b	11,7 ± 1,7 ^a	12,0 ± 1,3 ^a	0,0004
VCM (fl)	49,0 ± 3,6 ^a	48,3 ± 3,8 ^a	49,0 ± 4,9 ^a	49,6 ± 4,0 ^a	0,8697
CHCM (g/dL)	33,8 ± 1,7 ^a	34,5 ± 1,5 ^a	33,7 ± 2,1 ^a	33,6 ± 1,5 ^a	0,4980

* Letras minúsculas diferentes na mesma linha denotam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$) obtido pelo teste de Tukey. VG: volume globular, He: contagem de eritrócitos, Hb: concentração de hemoglobina, VCM: volume corpuscular médio, CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média. T0: antes da atividade física, T1: imediatamente após o término da atividade física, T2: com 30 minutos de recuperação, T3: com 2 horas de recuperação.

Segundo Ferraz et al. (5) e Kowal et al. (4), o aumento das variáveis hematimétricas, conforme também observado para os equinos da raça Mangalarga Marchador usados na presente pesquisa para VG, contagem de eritrócitos e concentração de hemoglobina, estaria relacionada a uma contração esplênica esforço-dependente, proporcional à atividade física imposta. Segundo Persson (10), o sistema nervoso simpático é o responsável pela mobilização esplênica, após sensibilização dos receptores adrenérgicos alfa. Isso é extremamente benéfico para os animais, visto que há aumento no número de eritrócitos e da hemoglobinemia, aumentando, portanto, a capacidade de transporte de oxigênio para o músculo esquelético (11,19). Tais achados também foram descritos por Garcia et al. (3), estudando 17 equinos da raça Crioulo antes e sequencialmente após um período de treinamento. Os autores justificaram os aumentos na concentração de hemoglobina e do VG também como decorrentes da contração esplênica.

De acordo com Jain (20), a contração esplênica que ocorre no exercício físico introduz na circulação periférica uma grande quantidade de eritrócitos que podem aumentar em 40% o VG. Entretanto, a hemoconcentração também ocorreria devido a diminuição do volume plasmático, devido a perdas pela sudorese e respiração e a redistribuição do volume vascular. Conforme supracitado, Miranda et al. (11) citam que os parâmetros hematológicos precisam ser estudados nos equinos nas diferentes modalidades atléticas. Na presente pesquisa, o VG registrado imediatamente após a execução da marcha foi inferior aos descritos em equinos da raça Árabe (5,14), em equinos da raça Crioulo (3) e em equinos Puro Sangue Inglês (PSI) (4), com os últimos registrando valores de 65,7%. Miranda et al. (11) registraram valores semelhantes aos da presente pesquisa nos equinos da raça Quarto de Milha usados em provas de *team penning*. Acredita-se que o PSI tenha uma maior reserva esplênica que as demais raças e equinos usados em provas de resistência, tais como Árabe e Mangalarga Marchador, teriam um maior volume plasmático (5), fato esse que poderia justificar as diferenças entre as raças.

Conforme já descrito, não houve diferença significativa para VCM e CHCM, sugerindo que a marcha não gerou alteração no tamanho dos eritrócitos e/ou aumento na concentração de hemoglobina dos mesmos, semelhante a Balarin et al. (19), estudando equinos da raça Puro Sangue Inglês em treinamento na pista, e Machado (14), trabalhando com equinos da raça Árabe submetidos a esforço progressivo em esteira rolante. Segundo Machado (14), o VCM não se alterou porque dois eventos se sobrepõem, a liberação de células velhas menores por parte do baço e a tumefação dos eritrócitos em decorrência da mobilização de líquidos e maior concentração eritrocitária de íons no controle da acidose metabólica devido ao exercício, dados que também podem ser sugeridos para justificar os achados na presente pesquisa. A determinação da distribuição do diâmetro dos eritrócitos (RDW), feita por Machado (14) e Balarin et al. (19), confirmou tal teoria ao demonstrar uma heterogeneidade no pós-exercício, fato não demonstrado pelo VCM.

Diferentemente, Ferraz et al. (5) observaram aumento de VCM e CHCM na etapa de esforço máximo e sugeriram que as diferenças com outras pesquisas pode estar relacionada com intensidade do esforço físico ou com as diferenças que podem existir nos testes a campo e nos testes com esteira. Com base nisso, torna-se importante considerar como os testes foram executados a fim de permitir a comparação e discussão dos resultados. Em se tratando de pesquisas a campo, coletar em intervalos seriados durante a execução do exercício, associando a um incremento de esforço, é extremamente difícil, levando a constantes processos de aceleração e desaceleração que poderiam influenciar os resultados. Evans et al. (21) descreveram que aferição da frequência cardíaca (FC), lactato sanguíneo, contagem de eritrócitos e concentração de hemoglobina, determinadas antes e após a execução do exercício, são índices confiáveis de avaliação das adaptações fisiológicas de cavalos atletas. Segundo Balarin et al. (19), as coletas após o exercício devem ser realizadas em até 5 minutos após o término da atividade física, semelhante ao executado na presente pesquisa, conotando que nesse momento os equinos trabalhados ainda não entraram em desaceleração. A partir desse momento, as variáveis hematimétricas de uma forma geral tendem a diminuir, conforme também observaram Ferraz et al. (5), inclusive para VCM e CHCM.

Kowal et al. (4) citaram que a normalização das variáveis hematimétricas tende a acontecer 45 minutos após a atividade física, fato comprovado na presente pesquisa, quando VG, concentração de hemoglobina e contagem de eritrócitos atingiram, aos 30 minutos após a execução da marcha, os valores registrados previamente ao teste.

CONCLUSÕES

A análise dos resultados permite concluir que nos equinos da raça Mangalarga Marchador, fisicamente bem condicionados usados na presente pesquisa, o exercício físico de 40 minutos de marcha levou a uma aumento significativo dos valores de VG, contagem de eritrócitos e concentração de hemoglobina, cujos valores retornaram aos valores basais dentro de 30 minutos após a suspensão da atividade. Tais alterações devem ser bem compreendidas e caracterizadas para seu uso correto na avaliação do condicionamento atlético de equinos marchadores.

AGRADECIMENTOS

À UVV-ES, pelo financiamento do projeto. Suporte Financeiro: UVV-ES

REFERÊNCIAS

1. Kienzle E, Freismuth A, Reusch A. Double blind placebo controlled vitamin E ou selenium supplementation of Sport horses with unspecified muscle problems. *J Nut.* 2006;136:2045-7.
2. Marques MS, Fernandes WR, Coelho CS, Mirandola R. Influência do exercício físico sobre os níveis de lactato plasmático e cortisol sérico em cavalos de corrida. *Hora Vet.* 2002;22:29-32.
3. Garcia M, Guzman R, Cabezas I, Merino V, Palma C, Pérez R. Evaluación del entrenamiento tradicional del caballo criollo chileno de rodeo mediante el análisis de variables. *Arch Med Vet.* 1999;31:167-76.

4. Kowal RJ, Almosny NRP, Cascardo B, Summa RP, Cury LJ. Avaliação dos valores hematológicos em cavalos (*Equus caballus*) da raça Puro-Sangue-Inglês submetidos a teste de esforço em esteira ergométrica. *Rev Bras Cienc Vet.* 2006;13:25-31.
5. Ferraz GC, Teixeira Neto AR, D'Angelis FHF, Lacerda Neto JC, Queiroz Neto A. Alterações hematológicas e cardíacas em cavalos árabes submetidos ao teste de esforço crescente em esteira rolante. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 2009;46:431-7.
6. Pritchard JC, Burn CC, Barr ARS, Whay HR. Haematological and serum biochemical reference values for apparently healthy working horses in Pakistan. *Res Vet Sci.* 2009;87:389-95.
7. Rezende ASC. Aditivos ou suplementos? Mangalarga marchador. *Rev Of ABCCMM.* 2006;18:44-8.
8. Tyler-McGowan CM, Golland LC, Evans DL, Hodgson DR, Rose RJ. Haematological and biochemical responses to training and overtraining. *Equine Vet J.* 1999;30:621-5.
9. Manohar M, Goetz TE, Hassan AS. Effect of prior high intensity exercise-induced arterial hypoxemia in thoroughbred horses. *J Appl Phys.* 2001;90:2371-7.
10. Persson S. On blood volume and working capacity in horses. Studies of methodology and physiological and pathological variations. *Acta Vet Scand.* 1967;19:189.
11. Miranda RL, Mundim AV, Saquy ACS, Costa AS, Guimarães EC, Gonçalves FC, et al. Perfil hematológico de equinos submetidos à prova de Team Penning. *Pesqui Vet Bras.* 2011;31:81-6.
12. Lekeux P, Art T, Linden A, Desmecht D, Amory H. Heart rate, hematological and serum biochemical responses to show jumping. In: Persson SGB, Lindholm A, Jeffcott LB. *Equine exercise physiology.* Davis: ICEEP Publications; 1991. p.385-90.
13. Evans DL. Overview of equine exercise physiology and biochemistry. In: Evans DL. *Training and fitness in athletic horses.* Sydney: Rural Industries Research and Development Corporation; 2000. p.10-32.
14. Machado LP. Eritrograma, glutaciona reduzida e superóxido dismutase eritrocitários e metahemoglobina em equinos da raça Árabe submetidos a exercício em esteira. Efeito da suplementação com vitamina E (DL-Alfa-tocoferol) [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2011.
15. Speirs CV. *Clinical examination of horses.* Pennsylvania: Saunders; 1997.
16. Ralston SL. Equine clinical nutrition: specific problems and solutions. *Comp Cont Educ.* 1988;10:356-63.
17. Kramer JW. Normal hematology of the horse. In: Feldman BF, Zinkl JG, Jain CN. *Schalm's veterinary hematology.* 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams; 2000. p.1069-74.
18. Robinson EN. *Current therapy in equine medicine.* 5th ed. Philadelphia: Saunders; 2003.

19. Balarin MRS, Lopes RS, Kohayagawa A, Laposy CB, Fonteque JH. Valores da amplitude de distribuição do tamanho dos eritrócitos (RDW) em eqüinos Puro Sangue Inglês (PSI) submetidos a exercícios de diferentes intensidades. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 2006;43:637-41.
20. Jain NC. Examination of the blood and bone marrow. In: Jain NC. *Essentials of veterinary hematology.* Philadelphia: Lea and Febiger; 1993. p.1-18.
21. Evans DL, Harris RC, Snow DH. Correlation of racing performance with blood lactate and heart rate after exercise in Thoroughbred horses. *Equine Vet J.* 1993;25:441-5.

Recebido em: 19/08/2016

Aceito em: 28/07/2017

PHMETRIA ESOFÁGICA EM CÃES

Jorge Luiz Costa Castro¹
Vinicius Gonzalez Peres Albernaz¹
Flávio Augusto Vieira Freitas¹
Ubirajara Iobe Tasqueti¹
Sérgio Santalucia Ramos da Silva²
Alceu Gaspar Raiser³

RESUMO

A avaliação da phmetria esofágica é um método sensível e específico para detectar a ocorrência de refluxo gastroesofágico, bem como sua frequência, duração e até mesmo determinar a origem. O conteúdo do refluxo gastroesofágico pode ter origem somente gástrica, duodenal ou de ambos, demonstrando características únicas em relação a valores ácido-base e graus de severidade diferentes. O objetivo deste trabalho foi determinar o valor do pH esofágico em cães anestesiados, e avaliar a ocorrência de episódios de refluxo gastroesofágico durante as intervenções cirúrgicas. Foram utilizados nove cães machos e fêmeas adultos saudáveis, com peso corporal médio de $15,0 \pm 5,4$ kg. A pHmetria esofágica foi realizada pela inserção de um cateter pela nasofaringe em 9 cães anestesiados com cetamina, midazolam e metadona; propofol e isoflurano, submetidos as intervenções de mastectomia, orquiectomia e ovariosalpingohisterectomia eletiva. Em nove cães que foram realizadas a passagem do cateter, apenas um animal submetido a ovariosalpingohisterectomia apresentou episódio de refluxo gastroesofágico; comprovado por esofagoscopia. A phmetria foi realizada até 180 minutos pós-anestesia, sem alterações significativas da mensuração do pH ($P < 0,05$) em todos os tempos. Os animais foram acompanhados até 30 dias de pós-operatório sem sinais clínicos de esofagite. A média de todas as mensurações de pH foi de 6.229 ± 0.5245 .

Palavras-chave: pH, esôfago, refluxo, gástrico, anestesia, cães.

ESOPHAGEAL PH-METRY IN DOGS

ABSTRACT

Esophageal pHmetry evaluation is a sensitive and specific method to detect gastroesophageal reflux, as well as its frequency, duration, and origin. Gastroesophageal reflux content can be originated from stomach, duodenal or both, showing unique features of acid-base values and different severity degrees. The aim of this study was to establish esophageal pH values in anesthetized dogs, and to evaluate the occurrence of gastroesophageal reflux episodes during surgical intervention. Were used 9 female and male healthy dogs, with mean body weight of 15.0 ± 5.4 kg. Esophageal pHmetry was performed through the insertion of a catheter on the nasopharynx in 9 dogs anesthetized with ketamine, midazolam, methadone, propofol and isoflurane, subject to mastectomy, orchietomy and elective ovariosalpingohysterectomy. Of all 9 dogs in which the catheter was applied, only one animal, subject to ovariosalpingohysterectomy, has shown a gastroesophageal reflux episode, proved by esofagoscopy. pHmetry was performed until 180 minutes post-anesthesia, without significant changes on pH measurement ($P < 0.05$) at all times. The animals had follow ups until 30 days of

¹ Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Contato principal para correspondência.

² Universidade do Sul de Santa Catarina.

³ Universidade Federal de Santa Maria.

post-operative with no clinical signs of esophagitis. The mean pH measurement was 6.222 ± 0.5245 .

Keywords: pH, esophageal, reflux, gastric, anesthesia, canine.

PH-METRÍA ESOFÁGICA EN PERROS

RESUMEN

La evaluación del pHmetría esofágica es un método específico y sensible para detectar la aparición de reflujo gastroesofágico, así como su frecuencia, duración e incluso determinar el origen. El contenido del reflujo gastroesofágico puede tener origen sólo gástrica, duodenal, o ambos, demostrando características únicas con respecto a los valores de acido-base y distintos grados de severidad. El objetivo de este estudio fue determinar el valor del pH del esófago en perros anestesiados y evaluar la ocurrencia de episodios de reflujo gastroesofágico durante las intervenciones quirúrgicas. Fueron utilizados nueve perros adultos saludables, machos y hembras, con medio peso de $15.0 \pm 5,4$ kg. El monitoreo del pH esofágico fue realizado insertando un catéter a través de la nasofaringe en 9 perros anestesiados con ketamina, midazolam y metadona; propofol y isoflurane, sometidos a intervenciones de mastectomía, orquiectomía y ovariosalpingohisterectomía electiva. En los nueve perros que fueron hechos el paso del catéter, sólo 1 animal sometido a ovariosalpingohisterectomía presentó episodio de reflujo gastroesofágico; probado por esofagoscopia. El monitoreo del pH fue realizado en 180 minutos pós-anestesia, sin cambios significativos en la medición del pH ($P < 0.05$) en todos los tiempos. Los animales fueron acompañados hasta 30 días después de la cirugía sin signos clínicos de esofagitis. El promedio de todas las mediciones de pH fue de 6229 ± 0.5245 .

Palabras clave: pH, esófago, reflujo, gástrico, anestesia, perros.

INTRODUÇÃO

A medição do pH intra-esofágico é considerado um dos métodos mais sensíveis e específicos para a detecção de refluxo gastroesofágico (RGE) em seres humanos (1); ele permite verificar a presença de refluxo ácido (2). Ocorrência de RGE durante a anestesia é um problema relativamente frequente nos caninos e um fator de risco para complicações, como pneumonia aspirativa, esofagite e estenoses esofágicas. Os principais fatores envolvidos incluem: pacientes da raça Poodle, posição (Trendelenburg ou decúbito lateral direito), cirurgias ortopédicas que utilizam atropina e morfina como pré-anestésicos, e o uso de propofol como agente de indução (3).

Em cães, pHmanometria esofágica pode ser realizada pela introdução de um cateter para o esófago, equipado com um sensor sensível às flutuações de pH, ligado a um dispositivo de gravação, o que permite a monitorização do pH, bem como da frequência e da duração de episódios de refluxo gastroesofágico. Para posicionar o cateter corretamente, é necessário medir externamente a distância entre os dentes incisivos da mandíbula e a borda cranial da décima costela, com o sensor localizado entre 2 e 7,5 cm da junção esofagogastrica. Outra forma de garantir o posicionamento adequado do cateter é pelo exame radiográfico do tórax, com sua extremidade que aparece entre 2 e 7,5 centímetros cranial à borda costal do diafragma (4).

A avaliação radiográfica e esofagoscopia realizada nas gatas foram fundamentais para confirmar a posição correta do cateter da pHmetria esofágica, e deixou-se excluir o erro de posicionamento como uma variável que pode influenciar o resultado. Posicionamento do cateter incorreto, como ocorreria com um cateter dobrado no lúmen esofágico ou com a sua ponta distante do ou dentro do EGS ou do estômago, pode levar a falsas interpretações (5).

Em medicina veterinária, pHmetria é usada para avaliar a incidência de episódios de RGE durante a anestesia. Esta técnica permite identificar episódios de refluxo não visualizados como a regurgitação, bem como para determinar alguns agentes anestésicos que predispoem ao refluxo (6-9).

Estudos mostram que o teor de refluxo no esôfago pode ser originado apenas a partir do estômago (refluxo ácido) ou pode ser uma mistura do conteúdo gástrico e duodeno (refluxo LINA ou gástrica duodenal). Refluxo ácido é o mais frequente. No entanto, refluxo não-ácido pode causar a esofagite mais grave, devido à sinergia entre enzimas gástricas e duodenais (10,11). Nos seres humanos, Nehra et al. (10) afirmam que o refluxo gastro-duodenal para ser mais prejudicial para a mucosa esofageal que refluxo ácido, bem como a concentração total de ácidos biliares no conteúdo refluxo dos pacientes com esofagite erosiva e metaplasia da mucosa esofágica ou estenose esofágica estava significativamente maior do que em pacientes com lesões discretas na mucosa esofágica, o que indica, possivelmente, um sinergismo entre o duodeno e enzimas gástricas.

O valor do pH esofágico em cães, por pHmetria esofágica obtida, imediatamente após a indução anestésica, varia entre $5,72 \pm 1,69$ (7) e $6,42 \pm 0,65$ (6). No entanto, o pH esofágico é conhecido por diminuir gradualmente durante o procedimento anestésico (7). Este estudo tem como objetivo determinar o valor do pH esofágico em cães anestesiados, e avaliar a ocorrência de episódios de refluxo gastroesofágico durante as intervenções cirúrgicas e até 6 horas de pós cirúrgico.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais (CEUA) da Universidade Federal de Santa Maria – RS, sob o protocolo 073/2011; e seguiram os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O experimento envolveu 9 cães saudáveis, sem história de sinais clínicos de doenças gastrointestinais, tais como disfagia, regurgitação, vômito e diarreia. Os pacientes foram submetidos aos exames pré-operatório para serem submetidos a intervenção cirúrgica de mastectomia, orquiectomia e ovariosalpingohisterectomia eletivas. O exame físico, hemograma e avaliação no soro das atividades das enzimas transferase alanina (ALT), aspartato transferase (AST) e fosfatase alcalina (FA), bem como a concentração de creatinina, foram realizadas em todos os pacientes.

Os pacientes que entraram no experimento foram 9 cães saudáveis machos e fêmeas, com peso entre 7,8 kg e 15,5 kg, que foram admitidos para as cirurgias previamente marcadas no Serviço de Cirurgia.

Todos os animais foram submetidos a jejum de 12 horas, a privação de água de 6 horas, e ao mesmo protocolo anestésico. Por via intramuscular foi aplicado cetamina (7mg kg^{-1}) e midazolam ($0,3\text{mg kg}^{-1}$) associados a metadona ($0,3\text{mg kg}^{-1}$). Após aproximadamente 10 min, a cateterização da veia cefálica foi realizada, com uma infusão de NaCl a 0,9% (10 ml/kg/h) sendo realizada a indução com propofol, dose efeito e a manutenção com isoflurano vaporizado com oxigênio a 100%. A CAM (concentração alveolar mínima) do isoflurano também foi dose efeito, ajustada de acordo com o plano anestésico. A frequência cardíaca, frequência respiratória, pressão parcial de corrente final de dióxido de carbono, a pressão arterial sistólica e saturação arterial de oxigênio foram monitoradas.

O cateter de pHmetria foi introduzido no esôfago, pela nasofaringe, imediatamente após a indução da anestesia e intubação orotraqueal e foi assegurada na região rostral da maxila, sem alterações em sua posição durante o período de avaliação. Ao mesmo tempo, o eletrodo cutâneo utilizada como referência foi fixado no tórax, numa área tricotomizada de aproximadamente 5 cm^2 .

Para padronizar e garantir o correto posicionamento do cateter, a metodologia de medição do corpo externa descrito por Waterman e Hashim (4) foi adaptada. Um cateter de pHmetria

2,1 milímetros foi introduzido transnasal. A superfície rostral da narina foi utilizada como referência, em vez dos dentes incisivos da mandíbula. A distância entre a superfície rostral da narina e a borda cranial da 10ª costela, foi determinada com os animais em decúbito lateral esquerdo e seu pescoço normalmente estendidos. O correto posicionamento do cateter foi confirmado em todos os animais por avaliação radiográfica do tórax (4).

Foi aplicado um gel de lidocaína a 5% sobre o cateter, mas não sobre o sensor de pH e anestesia local na cavidade nasal, com spray de lidocaína a 10%, seguindo técnica descrita por Favaratto et al. (12).



Figura 1. Paciente canino submetido a pHmetria esofágica intraluminal. A) Paciente acordado após 180 minutos da intervenção cirúrgica, no momento da retira do pHmetro esofágico. B) Radiografia lateral de tórax onde visibiliza o catéter intraluminal no esôfago antes do esfíncter esofágico inferior (seta branca).

Os pacientes foram mantidos em decúbito dorsal horizontal, sobre uma mesa cirúrgica, durante o procedimento cirúrgico, que durou em média 55 minutos. Após o final da cirurgia, os animais foram mantidos em decúbito lateral, e cuidadosamente observados até à recuperação completa da anestesia.

O aparelho foi calibrado antes de cada experiência utilizando solução tampão (pH 7.0 e 1.0), com a medição do pH de início dentro de 1 hora após a calibração. Os valores de pH do esôfago intra-operatório foram monitorados e gravados utilizando pHmetria esofágica intraluminal. Assim, um cateter flexível 2.1 mm (Dynamed[®]) com um único sensor pH ligado a um dispositivo de gravação foi introduzido no esôfago até que o sensor foi posicionado próximo e cranialmente à junção esofagogastrica localizado.

O monitoramento do pH esofágico começou aproximadamente 5 minutos após a indução da anestesia. O momento da primeira avaliação foi classificado como zero (controle), sendo o pH monitorado continuamente e registrado a cada 30 minutos por um período de 180 minutos. Após 3 horas de monitoramento do pH esofágico pós-anestesia, a sonda foi retirada.

Para a mensuração e registro do pH foi necessária a tricotomia da região lateral do tórax e colocação do anel adesivo dupla-face para uma melhor fixação do eletrodo de referência na pele do paciente, na altura referente à localização do esôfago torácico caudal. O eletrodo de referência foi fixado na parede torácica mediante a interposição de gel na ventosa. O cabo do cateter foi acoplado a um gravador (pHmetro) que registrou todo o traçado e as alterações do pH. Ao final do procedimento, o pHmetro esofágico foi fixado ao tórax por meio de bandagem e adaptado, em cada paciente, colar elisabetano. Após 180 minutos, foi retirado o transdutor e realizada a leitura dos dados no aparelho.

O pH esofágico foi mensurado durante todo o procedimento anestésico. Considerou-se como episódio de refluxo gastroesofágico ácido, quando o pH foi inferior a 4, como indicando

o refluxo do conteúdo gástrico, ou um aumento acima de 7,5 foi considerado como evidência de refluxo duodeno esofágico (13). Para a confirmação do refluxo gastroesofágico, foi utilizado um videoendoscópio NTSC, diâmetro externo da ponta distal de 9,7mm, comprimento de trabalho de 1400mm (1,4m) e o qual foi conduzido em todos os animais do estudo, imediatamente ao término da cirurgia, para avaliar a presença de refluxo visível no lúmen esofágico, e para confirmar o correto posicionamento da sonda de pHmetria. O cateter foi mantido imediatamente após esofagoscopia, até por 3 horas de pós-operatório imediato.

A medicação administrada no trans-operatório aplicada foi apenas o Meloxicam ($0,2\text{mg kg}^{-1}$) por via intramuscular, e repetida na dose de $0,1\text{ mg.kg}^{-1}$ por via oral 24 horas após até 4 dias no período pós-operatório.

A média e desvio-padrão foram calculados após agrupar os valores de pH do esôfago para cada 30 minutos observados. Análise de variância (ANOVA) com medidas repetidas foi realizada para comparar os valores médios do pH esofágico durante a anestesia e até 3 horas após. O valor obtido do pH esofágico durante a anestesia foi comparado com o pH durante o pós-anestésico até 3 horas.

RESULTADOS

A média do pH mensurado em todos os tempos avaliados foi de 6.229 ± 0.5245 . A média e o desvio-padrão em cada tempo foi de 6.633 ± 0.3162 na indução, 6.389 ± 0.8753 no transoperatório, 6.344 ± 0.5102 30 minutos posoperatório, 6.322 ± 0.3962 60 minutos, 6.156 ± 0.3941 90 minutos, 6.156 ± 0.3941 120 minutos, 5.789 ± 0.3551 150 minutos e 6.044 ± 0.4640 180 minutos (Tabela 1). Todos os tempos foram considerados estatisticamente semelhantes ($P > 0.05$), com exceção das mensurações no momento da indução anestésica e 150 minutos após o término do procedimento ($P < 0.05$) (Figura 3).

Tabela 1. Média, desvio-padrão, valor máximo e médio

	Indução	Transop.	30 Min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min	Total
Média	6.633	6.389	6.344	6.322	6.156	6.156	5.789	6.044	6.044
DP	0.3162	0.8753	0.5102	0.3962	0.3941	0.3941	0.3551	0.4640	0.4640
Máx	7.0	7.0	7.0	6.8	7.0	7.0	6.5	6.7	7
Mín	6.4	4.2	5.4	5.6	5.8	7.0	5.4	5.5	4.2

Legenda: DP – Desvio-padrão; Transop. – Transoperatório; Min – Minutos; Máx – Máximo; Mín – Mínimo.

Regurgitação foi observada em apenas um dos cães durante a anestesia e em nenhum dos pacientes durante a recuperação anestésica e o acompanhamento pós anestésico.

Considerou-se a queda abrupta de pH esofágico para valores inferiores a 4 como permitiu a identificação do momento exato em que ocorreu o refluxo ácido; pois em um dos cães, o refluxo ácido ocorreu 30 minutos após a indução da anestesia. O pH aumentou após este período, mantendo-se entre 4 e 5, até o final da cirurgia. A ocorrência de refluxo, neste caso, foi confirmada por esofagoscópio no fim do procedimento cirúrgico.

Esofagoscopia permitiu a identificação de RGE em 1 cão (11,11%), pela visualização direta das secreções e conteúdo gástrico no lúmen esofágico. Permitiu também observar as condições da mucosa esofágica. Nos pacientes que não sofrem de refluxo, a mucosa da região distal do esôfago apresentou-se de coloração clara e rosea (Figura 2).

No exame clínico realizado no sétimo e no décimo quarto dia após a cirurgia e após 30 dias do pós-operatório, o proprietário informou que o paciente que anteriormente havia sido detectada a ocorrência de RGE, não apresentou manifestações clínicas compatíveis com esofagite ou estenose de esôfago, evidente pela ausência de vômito, disfagia, sensibilidade dolorosa e diminuição do apetite.

O cateter de pHmanometria foi introduzido facilmente nos cães sob anestesia geral, e permitiram a obtenção de valores de pH de partida após indução de anestesia. Durante a recuperação pós-anestésica, foi necessário a anestesia local da cavidade nasal com lidocaína em conjunto com uso de colar elizabetano em 2 cães. O momento de desconforto no pós-operatório esteve presente quando da manipulação do cateter em 2 pacientes, onde foi necessária uma nova fixação e a manipulação do cateter teve como resposta dos pacientes, uma série de espirros e engasgos, com movimentos da cabeça, que se tornaram cada vez menos freqüente após o cateter ser fixado novamente.

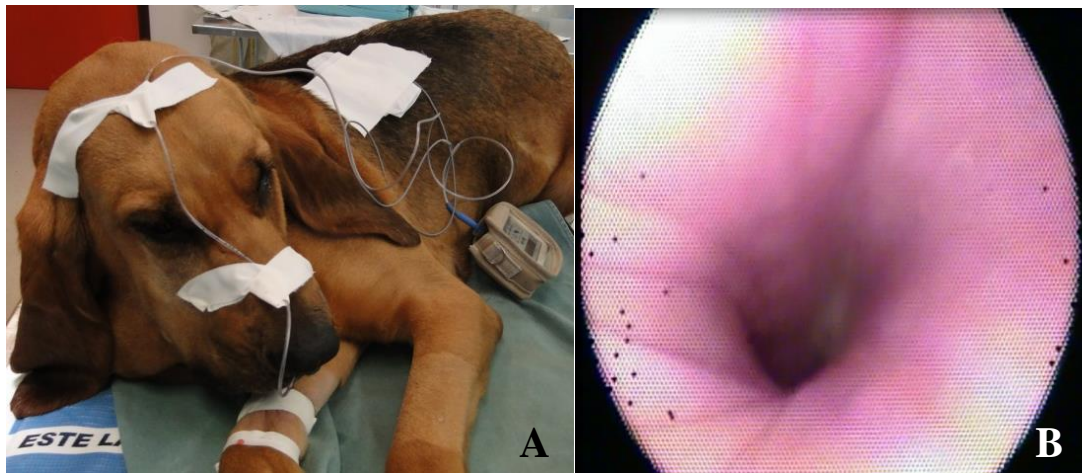


Figura 2. Paciente canino submetido a pHmetria esofágica intraluminal. A) Paciente acordado após 180 minutos da intervenção cirúrgica, no momento da retirada do pHmetro esofágico, note a fixação do cateter ao plano nasal, topo da cabeça e ao flanco torácico. B) Imagem esofágica da esofagoscopia visibilizando o esôfago de coloração rósea clara sem sinais de inflamação ou qualquer alteração patológica.

Sangramento da mucosa nasal de baixa intensidade ocorreu em 4 animais no momento da introdução do cateter. A radiografia de tórax e a esofagoscopia revelou que o cateter foi posicionado corretamente em todos os animais.

Após o período de medição, o cateter foi facilmente removido, ocorrendo espirros em 3 cães no momento da remoção.

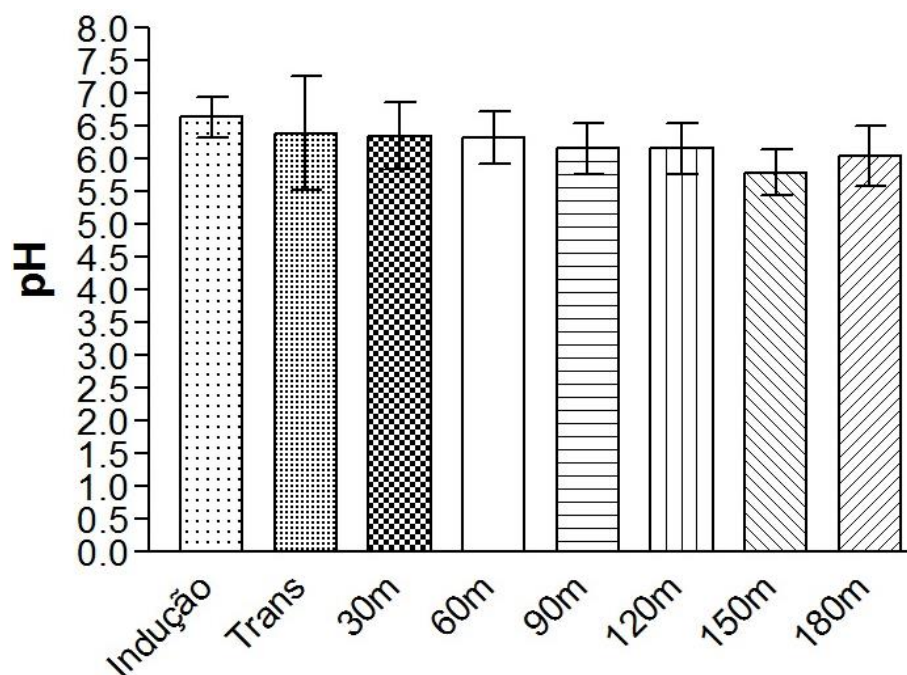


Figura 3. Gráfico com valores da Média e desvio-padrão do valor de pH em relação ao momento da avaliação. Todos os valores foram considerados sem diferença estatística significativa ($P > 0.05\%$) com exceção de 150 minutos e indução ($P < 0.05\%$).

DISCUSSÃO

Um pH esofágico mais alcalino pode ser evidenciado principalmente em pacientes que estão acordados, devido a deglutição da saliva; o que não acontece em pacientes submetidos a anestesia geral, pois neste caso não há contato do sensor de pH com a saliva, pois ocorre inibição do reflexo de deglutição pela anestesia, e tem-se como resultado um pH esofágico menos alcalino; bem diferente do que ocorre em cães que estão acordados e isso poderia explicar um pH esofágico superior nos cães acordados após a anestesia (14). Além disso, durante a anestesia, há uma redução do peristaltismo, que associado a uma falta de saliva que neutraliza o pH ácido, pode contribuir para um desenvolvimento maior de esofagite se ocorrer o RGE (14).

O valor médio do pH esofágico em cães anestesiados que não sofreram episódios de refluxo no presente estudo (6.229 ± 0.5245) foi menor do que o relatado na literatura por Raptopoulos e Galatos (6) ($6,42 \pm 0.65$); e maior que $5,76 \pm 0,62$, relatados por Wilson et al. (15), usando sensores de pH de vidro em vez de sensor de antimônio como utilizado em nosso estudo. Esta diferença nos resultados pode estar relacionada com os diferentes tipos de sensores de pH. Sensores de vidro com referência interna produzem resultados mais confiáveis em termos de tempo de resposta e sensibilidade do que os sensores de antimônio (16). No entanto, ambos são aceitáveis para pHmetria esofágica (1).

No presente estudo, o refluxo gastroesofágico foi detectado em 11,11% (1/9), resultado semelhante a 13,3% dos cães anestesiados no estudo de Favaratto et al. (12), incidência estas menores que as observadas em outros estudos com percentuais variando 46-60% (9,16,17).

É difícil definir qual o tipo de intervenção cirúrgica pode favorecer a um refluxo durante a anestesia. Trabalhos relatam que as cirurgias abdominais podem predispor a uma maior incidência de refluxo por causa de um aumento na pressão intra-abdominal, dentre as quais as cirurgias uterinas é descrita como a causa mais comum de RGE em cães (18). Outros estudos mostraram que a cirurgia gastrointestinal, procedimentos de diagnóstico por imagem, ou uma combinação de ambos, durante o mesmo procedimento anestésico podem aumentar o risco de regurgitação. É possível que uma alteração da profundidade da anestesia, e mudanças na

posição do decúbito durante o procedimento possa causar RGE (19). No entanto, outro estudo mostrou que RGE ocorreu em 13% dos cães anestesiados, nenhum dos quais haviam sido submetidos a cirurgia abdominal (20).

A diferença do presente trabalho é que todos estes estudos têm em comum a administração de morfina como parte da medicação pré-anestésica; isto parece razoável quando se leva em consideração a constatação de que a morfina reduz o tônus EGS (21). No presente estudo, não foi utilizada morfina como pré-anestésico e sim cetamina e midazolam. Outro estudo apresentou uma incidência de refluxo em 4,8% dos animais, bem menor do que essa pesquisa; e os autores relatam o uso de acepromazina, tiopental e halotano (8). Estes autores utilizaram apenas cães fêmeas, e nenhum procedimento cirúrgico foi realizado nos pacientes durante a avaliação, diferente do presente estudo, pois os pacientes foram submetidos a intervenções cirúrgicas.

Episódios de RGE ácido não foram observados em nenhum cão acordado durante o período de observação, o que corrobora a conclusão de que o refluxo ácido é um evento de baixa frequência em cães com junção do esôfago funcional (22). Segundo esses autores, a incidência de refluxo ácido é baixa e ocorre em cerca de 0,98% (22) no período de observação. No entanto, existe maior probabilidade para os episódios de RGE fisiológicas ocorrer durante ou imediatamente após a alimentação (23), o que não pôde ser avaliado neste estudo, uma vez que os animais não foram alimentados durante o período de observação (até 3 horas pós-anestesia).

No presente estudo, pHmanometria foi realizada ao longo de um período de 4 h, em vez dos habituais 24 h em seres humanos. Alguns estudos demonstraram que a pHmanometria de 8 horas produz resultados semelhantes ao de pHmetria-24h. Acreditamos que mesmo com o período de observação mais curto (4 horas), o mesmo que recomendado para pacientes que não toleram bem o exame, como as crianças (24-26), os resultados possam ser semelhantes aos obtidos com 24 horas.

A avaliação radiográfica e esofagoscopia realizada nos cães anestesiados, foram fundamentais para confirmar a posição correta do cateter de pHmetria esofágica, e permitiram excluir o erro de posicionamento como uma variável que poderia influenciar os resultados. O posicionamento do cateter incorreto, tal como ocorreria com um cateter dobrado no lúmen esofágico ou com a sua ponta distante ou dentro do EGS ou do estômago, pode levar a falsas interpretações (5).

CONCLUSÕES

Este estudo permitiu concluir que:

1. A média da pHmetria esofágica intraluminal nos cães foi de 6.229 ± 0.5245 ;
2. A incidência de refluxo gastroesofágico durante a anestesia com cetamina, midazolam e metadona, propofol e isoflurano foi de 11,11%; e em um paciente submetido a ovariosalpingohisterectomia.
3. Não há alterações significativas do pH esofágico ao longo do tempo de recuperação anestésica com o protocolo utilizado.

Apoio e financiamento Agência: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

REFERÊNCIAS

1. Pohl D, Tutuian R. Reflux monitoring: pH-metry, Bilitec and oesophageal impedance measurements. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2009;23:299-311.
2. Nasi A, Moraes-Filho JPP, Ceconello I. Doença do refluxo gastroesofágico: revisão ampliada. *Arq Gastroenterol.* 2006;43:334-41.
3. Alarcón CAR, Ruiz DMB, Barreno RR, Díaz G, Casaús JMU, Herrera RG, et al. Gastroesophageal reflux in anesthetized dogs: a review. *Rev Colomb Cienc Pecu.* 2015;28:144-55.
4. Waterman AE, Hashim MA. Measurement of the length and position of the lower oesophageal sphincter by correlation of external measurements and radiographic estimations in dogs. *Vet Rec.* 1991;129:261-4.
5. Lemme EM. Métodos de avaliação e interpretação. In: Nasi A, Michelsohn NH. Avaliação funcional do esôfago. São Paulo: Roca; 2001. p.228-310.
6. Raptopoulos D, Galatos AD. Gastro-oesophageal reflux during anaesthesia induced with either thiopentone or propofol in the dog. *Vet Anaesth Analg.* 1997;2:20-2.
7. Wilson DV, Evans AT, Mauer WA. Pre-anesthetic meperidine: associated vomiting and gastroesophageal reflux during the subsequent anesthetic in dogs. *Vet Anaesth Analg.* 2007;34:15-22.
8. Anagnostou TL, Savvas I, Kazakos GM, Ververidis HN, Haritopoulou MR, Rallis TS, et al. Effect of endogenous progesterone and oestradiol-17beta on the incidence of gastro-oesophageal reflux and on the barrier pressure during general anaesthesia in the female dog. *Vet Anaesth Analg.* 2009;36:308-18.
9. Panti A, Bennett RC, Corletto F, Brearley J, Jeffery N, Mellanby RJ. The effect of omeprazole on oesophageal pH in dogs during anaesthesia. *J Small Anim Pract.* 2009;50:540-4.
10. Nehra D, Howell P, Williams CP, Pye JK, Beynon J. Toxic bile acids in gastro-oesophageal reflux disease: influence of gastric acidity. *Gut.* 1999;44:598-602.
11. Galatos AD, Savas I, Prassinis NN, Raptopoulos D. Gastro-oesophageal reflux during thiopentone or propofol anaesthesia in the cat. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 2001;48:287-94.
12. Favarato ES, Souza MV, Costa PRS, Pompermayer LG, Favarato LSC, Ribeiro Júnior JI. Ambulatory esophageal pHmetry in healthy dogs with and without the influence of general anesthesia. *Vet Res Commun.* 2011;35:271-82.
13. Sideri AI, Galatos AD, Kazakos GM, Gouletsou PG. Gastro-oesophageal reflux during anaesthesia in the kitten: comparison between use of a laryngeal mask airway or an endotracheal tube. *Vet Anaesth Analg.* 2009;36:547-54.

14. Girão VCC, Pinheiro DCS, Morais SM, Gioso MA. Efeito protetor do extrato etanólico de *Lippia sidoides* (Alecrim pimenta) nas gengivites marginais de cães. *Cienc Anim.* 2001;11:13-6.
15. Wilson DV, Evans AT, Mauer WA. Influence of metoclopramide on gastroesophageal reflux in anesthetized dogs. *Am J Vet Res.* 2006;67:26-31.
16. McLauchlan G, Rawlings JM, Lucas ML, McCloy RF, Crean GP, McColl KE. Electrodes for 24 hours pH monitoring-a comparative study. *Gut.* 1987;28:935-9.
17. Wilson DV, Evans AT, Miller R. Effects of preanesthetic administration of morphine on gastroesophageal reflux and regurgitation during anesthesia in dogs. *Am J Vet Res.* 2005;66:386-90.
18. Wilson DV, Boruta DT, Evans AT. Influence of halothane, isoflurane and sevoflurane on gastroesophageal reflux during anesthesia in dogs. *Am J Vet Res.* 2006;67:1821-5.
19. Galatos AD, Raptopoulos D. Gastro-oesophageal reflux during anaesthesia in the dog: the effect of age, positioning and type of surgical procedure. *Vet Rec.* 1995;137:513-6.
20. Garcia CDM, Pinchbeck GL, Dugdale A, Senior JM. Retrospective study of the risk factors and prevalence of regurgitation in dogs undergoing general anaesthesia. *Open Vet Sci J.* 2013;7:6-11.
21. Rodríguez-Alarcón CA. Estudio retrospectivo y prospectivo de las endoscopias del tracto digestivo en pequeños animales [tese]. Cáceres: Facultad de Veterinaria, Universidad de Extremadura; 2010.
22. Hall AW, Moossa AR, Clark J, Cooley GR, Skinner DB. The effects of premedication drugs on the lower oesophageal high pressure zone and reflux status of rhesus monkeys and man. *Gut.* 1975;16:347-52.
23. Tanishima Y, Fujita T, Suzuki Y, Kawasaki N, Nakayoshi T, Tsuibo K, et al. Effects of half-solid nutrients on gastroesophageal reflux in beagle dogs with or without cardioplasty and intrathoracic cardiopexy. *J Surg Res.* 2010;161:272-7.
24. Andenplas Y, Salvatore S, Hauser B. The diagnosis and management of gastro-oesophageal reflux in infants. *Early Hum Dev.* 2005;81:1011-24.
25. Silva JMB, Silva PEMR, Brunelli MMC. pH metria esofágica abreviada. Correlación de valores del índice de reflujo (IR) en exámenes de 8 y 24 hs. *Rev Cir Infant.* 1996;6:208-12.
26. Cerneluti R, Martins JL, Cury EK. Esophageal pH monitoring study of eight hours in pediatric patients with suspected gastroesophageal reflux. *Acta Cir Bras.* 2005;20:116-20.

Recebido em: 14/08/2016

Accito em: 03/08/2017

CIPIONATO DE ESTRADIOL E BENZOATO DE ESTRADIOL EM PROTOCOLOS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM NOVILHAS MISTIÇAS

Roberto Ramos Sobreira¹
Italo Câmara de Almeida
Fabricio Albani Oliveira
Jeanne Broch Siqueira
Graziela Barioni
Diogo Vivacqua de Lima
Larissa Ataide Siqueira

RESUMO

Avaliou-se a eficiência de dois indutores da ovulação: cipionato de estradiol (CE) e benzoato de estradiol (BE), na inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Foram utilizadas 128 novilhas. Todos os animais foram submetidos ao mesmo protocolo de sincronização, a partir do dia 8 os animais foram distribuídos em dois tratamentos: Tratamento com CE no dia 8 (64 novilhas) e tratamento com BE no dia 9 (64 novilhas). Quanto ao número de folículos, só observou-se diferença significativa entre os tratamentos no dia 8. Não houve diferença ($p > 0,05$) para taxa de crescimento folicular, diâmetro do folículo dominante ($10,97 \pm 1,24$ e $9,77 \pm 1,36$ mm), e intervalo da ovulação à inseminação artificial ($13,20 \pm 3,79$ e $23,00 \pm 14,28$ horas) entre os tratamentos. A retirada do dispositivo de progesterona à ovulação, em horas, foi de $60,60 \pm 3,69$ e $74,75 \pm 15,17$ horas, respectivamente para CE e BE ($p < 0,05$). Houve diferença ($p < 0,05$) entre os tratamentos para a taxa de ovulação, que foi de 90,00% e 40,00% para CE e BE, respectivamente. A taxa de prenhez foi de 37,3% ($p > 0,05$) para ambos tratamentos. A administração de CE no dia 8 possibilitou a redução de um manejo na IATF em novilhas sem influenciar na taxa de prenhez.

Palavras-chave: hormônios, indutores de ovulação, fisiologia reprodutiva, manejo, novilhas.

ESTRADIOL CYPIONATE AND ESTRADIOL BENZOATE IN ARTIFICIAL INSEMINATION PROTOCOLS IN FIXED TIME IN HEIFERS CROSSBRED

ABSTRACT

We evaluated the efficiency of two ovulation induction: estradiol cypionate (EC) and estradiol benzoate (EB), at fixed time artificial insemination (TAI). 128 heifers were used. All animals were subjected to the same synchronization protocol, from the 8th day animals were divided into two treatments: Treatment with CE on the 8th (64 heifers) and treatment with EB on Day 9 (64 heifers). Regarding the number of follicles, only there was a significant difference between treatments at day 8. There was no difference ($p > 0.05$) for follicular growth rate, diameter of the dominant follicle (10.97 ± 1.24 and $9,77 \pm 1.36$ mm) and range of ovulation in artificial insemination (13.20 ± 3.79 and 23.00 ± 14.28 hours) between treatments. The withdrawal of progesterone device ovulation in hours was 60.60 ± 3.69 and $74.75 \pm 15,17$ hours respectively for CE and BE ($p < 0.05$). There were differences ($p < 0.05$) between treatments for ovulation rate, which was 90.00% and 40.00% for CE and BE, respectively. The pregnancy rate was 37.3% ($p > 0.05$) for both treatments. The EC administration on 8 enabled the reduction of management in the TAI in heifers without influencing pregnancy rate.

¹ Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo. Contato correspondência.

Keywords: animal breeding, hormones, ovulation-inducing, reproductive physiology, management, heifers.

CIPIONATO DE ESTRADIOL Y BENZOATO DE ESTRADIOL EN LOS PROTOCOLOS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN TIEMPO FIJO EN VAQUILLAS MESTIZAS

RESUMEN

Se evaluó la eficiencia de la inducción de la ovulación de dos: cipionato de estradiol (CE) y benzoato de estradiol (EB), en la inseminación artificial de tiempo fijo (TAI). Se utilizaron 128 novillas. Todos los animales fueron sometidos al mismo protocolo de sincronización, a partir de los animales se dividieron en dos tratamientos 8º: El tratamiento con CE en la octava (64 novillas) y el tratamiento con EB en el Día 9 (64 novillas). En cuanto al número de folículos, solamente había una diferencia significativa entre los tratamientos en el día 8. No hubo diferencia ($p > 0,05$) para la tasa de crecimiento folicular, el diámetro del folículo dominante ($10,97 \pm 1,24$ y $9,77 \pm 1,36$ mm) y el rango de la ovulación en la inseminación artificial ($13,20 \pm 3,79$ y $23,00 \pm 14,28$ horas) entre tratamientos. La retirada del dispositivo de progesterona ovulación en horas fue $60,60 \pm 3,69$ y $74,75 \pm 15,17$ horas, respectivamente, para el CE y BE ($p < 0,05$). Hubo diferencias ($p < 0,05$) entre los tratamientos para la tasa de ovulación, que fue 90,00% y 40,00% para CE y ser, respectivamente. La tasa de embarazo fue de 37,3% ($p > 0,05$) en ambos tratamientos. La administración CE el 8 de activar la reducción de la gestión en el TAI en novillas sin influir en la tasa de embarazo.

Palabras clave: las hormonas, los inductores de la ovulación, fisiología reproductiva, gestión, vaquillas.

INTRODUÇÃO

O estradiol é um hormônio esteróide, ou seja, faz parte de um grupo de lipídeos e está distribuído por todo o organismo. Em bovinos e em outras espécies é sintetizado principalmente nos folículos dominantes nos ovários, mas outros tecidos também podem produzi-lo, como por exemplo, a placenta, o córtex adrenal, testículos, cérebro e outros (1).

Os estrógenos possuem diversas funções na fisiologia reprodutiva como expressão do estro, características sexuais secundárias, indução da liberação do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e do hormônio luteinizante (LH) (2). O estradiol e seus ésteres, como são chamados os compostos, são frequentemente empregados para promover o controle farmacológico do ciclo estral, uma vez que na ausência de progesterona sua administração pode estimular a liberação de GnRH e LH e causar a ovulação do folículo dominante (3).

Esses estrógenos produzem diferentes perfis de circulação de estradiol, provavelmente devido diferenças na esterificação da molécula, o que leva a alterações na polaridade e no peso molecular das estruturas e, portanto, modifica a absorção e o metabolismo no organismo (4). O benzoato de estradiol tem sido largamente utilizado como indutor da ovulação quando administrado 24h após a retirada da progesterona, entretanto, tem sido avaliada sua substituição por um análogo hormonal, denominado cipionato de estradiol, aplicado concomitante a retirada da progesterona (3,5).

O cipionato de estradiol (CE), como indutor da ovulação, é uma alternativa que possibilita a realização de protocolos de IATF com apenas três períodos de manejo, reduzindo a mão de obra e minimizando o estresse do animal. Permanecendo biodisponível de forma sistêmica por maior tempo, o CE administrado juntamente com a retirada do implante de progesterona,

mantêm níveis plasmáticos suficientes para estimular o pico de LH após a queda dos níveis de progesterona (P₄) (6).

Programas de sincronização e indução da ovulação já têm sido utilizados com frequência em novilhas *Bos taurus taurus* (7) e em novilhas *Bos taurus indicus* (8,9). No entanto em novilhas mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) os trabalhos são reduzidos e inconsistentes.

Assim, objetivou-se com este estudo, avaliar a utilização do cipionato de estradiol e benzoato de estradiol em protocolos de IATF em novilhas mestiças *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*, quanto à dinâmica folicular e a taxa de prenhez.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em uma propriedade localizada no Município de Dores do Rio Preto, no estado do Espírito Santo, situado nas coordenadas geográficas 20°41' Sul, 41°50' Oeste e a 774m de altitude, no período de fevereiro a junho de 2014. O clima predominante da região é o tropical com verões quentes e chuvosos e invernos frios e secos, temperatura média anual de 19,2 °C e precipitação pluviométrica de 1.730mm anuais.

Foram utilizadas, 128 novilhas mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*), com escore de condição corporal (ECC) acima de 2,5, que apresentavam, ausência de sinais clínicos de doença infecciosa ou metabólica, e de alterações dos órgãos genitais ao exame ginecológico.

O manejo das novilhas foi em regime extensivo, utilizando-se a pastagem composta principalmente de braquiário (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu). Sal proteinado, mineral e a água foram fornecidos *ad libitum*.

Todas as novilhas foram submetidas a um protocolo de sincronização: no dia 0 (D0), inserção de dispositivo intravaginal de progesterona (DIV) e aplicação intramuscular (IM) de 2mg de benzoato de estradiol (BE); dia 8 (D8): retirada do DIV, aplicação IM, de 0,15mg de cloprostenol sódico (PGF_{2α}) e aplicação IM de 300 UI de eCG. No dia 8 os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois tratamentos: 1) Tratamento com cipionato de estradiol (CE) no dia 8 (64 animais) – aplicação de 1mg de CE por via IM, no D8 (TCE8). 2) Tratamento com BE no dia 9 (64 animais) – aplicação de 1mg de BE no D9 por via IM (TBE9). Foram inseridos em todas as novilhas implantes de P₄ de 2^o ou 3^o uso, de forma aleatória. Todos os manejos de aplicação dos fármacos foram entre 09:00 e 10 horas da manhã, dos respectivos dias.

Em cada grupo, dez animais foram separados para avaliação da dinâmica folicular. Os exames ultrassonográficos destas 20 novilhas foram realizados nos dias 0, 8 e no dia 10. A partir do D10 a US foi realizada de 12 em 12 horas até a determinação da ovulação pela ausência do folículo dominante, com aparelho portátil de ultrassom acoplado a um transdutor linear retal de 5,0 MHz (MINDRAY®, modelo DP2200 VET). Assim, foi verificado no D0 o *status* folicular, e nos demais dias avaliadas a dinâmica folicular.

Os folículos foram classificados de acordo com o diâmetro em pequenos (FP<6mm), médios (FM de 6 a 8mm) e dominantes (FD>8mm) (10). Foi calculada a taxa de crescimento folicular (mm/dia), pela divisão da diferença do tamanho do folículo dominante do dia 10 pelo do dia 8, dividido pelo número de dias (D10–D8/2) e o diâmetro do folículo dominante. Estabeleceu-se também o tempo (em horas) da retirada do dispositivo de progesterona à ovulação, da IA à ovulação e a taxa de ovulação (números de animais que ovularam de cada tratamento, dividido pelos animais dos respectivos tratamentos).

As inseminações artificiais (IA) foram realizadas 48 e 52 h após a retirada do dispositivo intravaginal de P₄ para os tratamentos com CE e BE respectivamente, sendo feitas pelo mesmo técnico, utilizando sêmen convencional de touros da raça nelore, gir e holandês, de acordo com as características raciais de cada novilha, de uma central de sêmen associada à Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA). No 30^o dia após a IATF, os animais foram avaliados por meio de ultrassonografia, e a taxa de prenhez foi determinada em cada tratamento.

A análise estatística foi realizada utilizando o programa SAS Studio (11), em delineamento inteiramente casualizado, considerando os efeitos dos tratamentos. As variáveis com distribuição normal, como o diâmetro do folículo dominante e taxa de crescimento folicular foram analisadas utilizando-se o teste de t independente. Quanto aos dados não paramétricos como o número de folículos < 6 mm, 6-8 mm e > 8 mm, intervalo da retirada do implante de P₄ à ovulação e da IATF à ovulação, que apresentaram distribuição não normal, foram avaliadas mediante teste de Mann-Whitney.

Os dados de taxa de ovulação e gestação foram organizados em tabelas de contingência e analisados pelo teste de Qui-quadrado (χ^2). O nível de significância adotado foi $\alpha = 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quanto ao número de folículos, classificados de acordo com seu tamanho em folículos < 6mm, 6-8mm e > 8mm, não houve diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos nos dias 0, 8 e 10 para os folículos pequenos e médios e, para os folículos > 8mm foi observada diferença ($p < 0,05$) entre tratamentos no D8 (Tabela 1). Dos 10 animais submetidos ao TBE9 seis não ovularam ao final do tratamento. Do D0 ao D8 o protocolo hormonal administrado aos animais foi semelhante, apenas no D8 os grupos foram divididos nos tratamentos TCE8 e TBE9. De acordo com a Tabela 1, observa-se que já havia uma diferença no número de folículos dominantes no D8 para os animais selecionados aleatoriamente para o grupo TCE8, o que sugere que não foi o tratamento que influenciou os resultados de taxa de crescimento folicular e presença de ovulação. Certamente, os animais deveriam ter sido divididos nos dois tratamentos a partir da avaliação do tamanho do folículo dominante no D8 para que se separassem animais nas mesmas condições fisiológicas entre os tratamentos.

Como esperado, no dia 10 houve aumento no número de folículos dominantes (> 8mm) nos dois protocolos utilizados. Segundo Gimenes et al. (12) folículos subordinados cessam seu ritmo de crescimento entrando em atresia, enquanto o folículo dominante segue a uma taxa de crescimento constante, até alcançar a capacidade ovulatória. Assim, notou-se que as condições fisiológicas proporcionadas pelo protocolo de sincronização à base de estradiol e progesterona proporcionaram aumento do número de folículos em crescimento, como descrito por Bó et al. (13) isso é explicado por sincronizarem a emergência de uma nova onda folicular com êxito. Esses protocolos têm sido utilizados com sucesso para controlar a dinâmica folicular e luteal e para sincronizar a ovulação, permitindo IA sem a necessidade de detecção de estro em novilhas (13,7,14).

Os resultados registrados para as taxas de crescimento folicular (mm/dia), o diâmetro do folículo dominante no dia 10, intervalo da retirada do dispositivo de progesterona da IATF à ovulação e IATF à ovulação estão sumariados na Tabela 2. Não foi verificada diferença na taxa de crescimento folicular para o tratamento com cipionato de estradiol (CE) e benzoato de estradiol (BE) ($p > 0,05$; Tabela 2). A taxa de crescimento folicular de $0,81 \pm 0,63$ e $0,89 \pm 0,26$ mm para CE e BE, respectivamente, foi semelhante à registrada por Carvalho et al. (14) para novilhas *B. taurus indicus*, *B. taurus indicus* x *B. taurus taurus* e *B. taurus taurus*, com a utilização de BE no dia 9 como indutor de ovulação, sendo 0,9; 1,2; e 1,1 mm, respectivamente para as subespécies. Os valores verificados neste estudo aproximaram-se da taxa de crescimento em novilhas mestiças que não foram submetidas a protocolos de IATF, como os citados por Borges et al. (10), que oscilavam entre 1,0 a 1,4 mm/dia, valores que também se aproximam dos animais da raça Nelore tratadas com CE (0,9 mm/dia) (5).

Tabela 1. Média e desvio padrão do número de folículos de acordo com a classificação em folículos pequenos (< 6mm), folículos médios (entre 6-8mm) e folículos dominantes (> 8mm) em função dos tratamentos com CE e BE em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em novilhas mestiças.

	Dia	Média do número de folículos		
		< 6mm	6 e 8mm	> 8mm
TCE8 (n=10)	0	10,0 ± 3,13	0,2 ± 0,42	0,6 ± 0,52
	8	12,6 ± 8,19	0,1 ± 0,32	0,9 ± 0,32 ^a
	10	7,4 ± 2,5	0,0 ± 0,0	1,0 ± 0,00
TBE9 (n=10)	0	12,8 ± 5,55	0,5 ± 0,53	0,2 ± 0,42
	8	15,2 ± 6,82	0,3 ± 0,48	0,2 ± 0,42 ^b
	10	6,4 ± 5,75	0,2 ± 0,42	0,4 ± 0,52

CE: cipionato de estradiol; BE: benzoato de estradiol; TCE8: tratamento com Cipionato de Estradiol aplicado no dia 8; TBE9: tratamento com benzoato de estradiol aplicado no dia 9. Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, dentro do mesmo dia de tratamento, diferem entre si (P<0,05)

Tabela 2. Taxa de crescimento folicular, diâmetro do folículo dominante no D10, intervalo da retirada do dispositivo de progesterona da IATF à ovulação e IATF à ovulação (média ± desvio-padrão), em função dos tratamentos com CE e BE em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em novilhas mestiças.

TRAT	Tx. Cresc. Fol. (mm/dia)	Diâm. fol.dom. (mm)	Intervalo à ovulação*	
			Retirada do dispositivo de progesterona (h)	IATF (h)
TCE8	0,81 ± 0,63	10,97 ± 1,24	60,60 ± 3,69 ^a	13,20 ± 3,79
TBE9	0,89 ± 0,26	9,77 ± 1,36	74,75 ± 15,17 ^b	23,00 ± 14,28

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem entre si (P<0,05)

As reduzidas taxas de crescimento (mm/dia) observadas nas novilhas do experimento estão possivelmente relacionadas às diferenças de padrões endocrinológicos de liberação de LH mediado pelas concentrações circulantes do dispositivo de P₄.

Não houve diferença no diâmetro do folículo dominante no dia 10 para os tratamentos com CE e BE, conforme verificado na Tabela 2. As fêmeas tratadas com CE obtiveram um diâmetro de 10,97 ± 1,24mm, enquanto as fêmeas submetidas ao tratamento com BE obtiveram um diâmetro de 9,77 ± 1,36mm. Ferraz et al. (15), relacionaram folículos com maiores diâmetros ovulatórios a índices de concepção superiores.

Sá Filho et al. (16) em um experimento com novilhas *Bos taurus indicus*, que receberam 1mg de CE como indutor da ovulação, na retirada dos implantes de P₄, obtiveram um folículo no dia 10 com o diâmetro de 11,3±0,4mm. Colazo et al. (7) trabalhando com novilhas mestiças registraram 11,3±2,1mm no folículo dominante do dia 10, com aplicação de 1mg de CE concomitante a retirada da P₄. Novamente, Colazo et al. (7) em seu experimento com novilhas mestiças avaliaram o diâmetro do folículo dominante, compararam novilhas tratadas com CE no dia 8 (11,3 ± 2,1mm), com novilhas tratadas com BE 24h depois da retirada de P₄ no dia 9 (9,8 ± 1,5mm), conseguindo resultados semelhantes ao do presente trabalho.

Borges e

t al. (10) estudaram o crescimento folicular ovariano sem o uso de indutores de ovulação, em 26 novilhas mestiças Holandês-Zebu, por meio de acompanhamento ultrassonográfico diário a partir do dia do estro e constataram que os diâmetros máximos dos folículos dominantes

foram de aproximadamente 11,7mm, corroborando com os resultados referentes aos diâmetros para CE e BE, deste experimento.

A utilização de estratégias buscando aumentar o diâmetro do folículo ovulatório são alternativas para melhorar a eficiência dos protocolos de sincronização. A mensuração do folículo pré-ovulatório, é considerada característica importante em protocolos de IATF, pois está relacionada ao tamanho do corpo lúteo e consequente produção de progesterona no diestro subsequente, essencial para a manutenção da gestação após a fertilização. Dessa forma, a taxa de prenhez em fêmeas submetidas à IATF pode ser comprometida na indução da ovulação de pequenos folículos, com formação de pequenos corpos lúteos e, por conseguinte, menor produção de progesterona, sendo que baixos níveis de progesterona circulante suprime o desenvolvimento embrionário inicial (7).

Sendo assim, a utilização de indutores de ovulação que resultem em folículos de maior tamanho, podem incrementar os resultados dos protocolos de sincronização.

Houve diferença no tempo (em horas) da retirada do dispositivo de progesterona à ovulação entre os tratamentos com CE e BE, conforme verificado na Tabela 2. As fêmeas tratadas com CE ovularam em média $60,60 \pm 3,69$ horas após a retirada do dispositivo de progesterona, enquanto as fêmeas submetidas ao tratamento com BE ovularam com $74,75 \pm 15,17$ horas após a retirada do dispositivo de progesterona.

O resultado do uso do CE se assemelham aos obtidos por Lopes et al. (17), no qual a ovulação em novilhas, ocorreu em média 60 a 62h após a aplicação de CE. Martínez et al. (18) avaliaram 10 novilhas com o uso do BE 24h como indutor de ovulação e conseguiram média de 72h para esta variável, corroborando aos dados do presente trabalho (Tabela 2).

Todavia, em estudo realizado por Reis et al. (19), aponta que o uso do cipionato de estradiol no dia 8 em protocolos de IATF como indutor de ovulação em vacas nelore resulta em atraso nas ovulações (acima de 80h), sendo que estas ovulações não foram sincronizadas ($80,0 \pm 4,8h$; $85,1 \pm 4,4h$). Comparando ao estudo de Reis et al. (19), Martins et al. (20) em protocolos de IATF encontraram ovulações mais sincronizadas com o uso do BE no dia 9 ($67,4 \pm 1,69h$) quando comparado ao CE no dia 8 ($76,8 \pm 2,82h$). Fato este que não ocorreu no presente experimento.

No presente experimento, o tempo da retirada do dispositivo de progesterona à ovulação foi maior ($p < 0,05$) para o tratamento com BE quando comparado ao CE (Tabela 2), observa-se que, numericamente, os animais do tratamento CE no dia 8 apresentaram folículos de $10,97 \pm 1,24mm$ e ovularam mais cedo, enquanto as fêmeas tratadas com BE apresentaram folículos de menor diâmetro ($9,77 \pm 1,36mm$) e ovularam mais tarde (Tabela 2). Segundo Gimenes et al. (12) quanto maior o tamanho do folículo, menor é o tempo para que estes folículos ovulem.

Não houve diferença quanto ao intervalo da inseminação artificial à ovulação ($p > 0,05$) (Tabela 2). As melhores taxas de concepção se concentram em inseminações realizadas entre 12 e 24h antes da ovulação (16). Portanto, existe um intervalo de 12h para que as inseminações sejam realizadas, sem que haja comprometimento dos índices reprodutivos (21). Verifica-se que mesmo com a variabilidade no tempo entre a IATF à ovulação, no presente estudo, os animais foram inseminados no momento propício, como mostra a tabela 2.

Os resultados para taxa de ovulação e taxa de prenhez para as novilhas mestiças submetidas aos tratamentos com CE e BE estão sumariados na Tabela 3. A taxa de ovulação dos animais tratados com BE foi de 40% ($p < 0,05$) sendo que, dos 10 animais avaliados, seis não responderam ao tratamento. As baixas taxas de ovulação observadas no presente estudo, para este tratamento, podem ser explicadas pela presença de folículos imaturos, incapazes de responder ao pico de LH induzido pela administração do BE. A ausência de crescimento destes folículos ocorre por uma escassez de receptores de LH como apontado por Gimenes et al. (12), ocorrendo atresia folicular e perda da capacidade ovulatória. Além disso, fatores relacionados à sensibilidade individual à progesterona liberadas pelos dispositivos, podem interferir sobre os

resultados da ovulação, por exercer *feedback* negativo sobre aumento da frequência dos pulsos de LH (14).

Tabela 3. Taxa de ovulação (%) e taxa de prenhez (%) em função dos tratamentos com TCE8 e TBE9 em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em novilhas mestiças.

Tratamento	Taxa de Ovulação (%)	Taxa de Prenhez (%)
TCE8	90,00 ^a	37,03 ^a
TBE9	40,00 ^b	37,03 ^a

Houve diferença significativa na taxa de ovulação entre os tratamentos ($p < 0,05$) pelo teste de Qui-quadrado. Não houve diferença significativa na taxa de prenhez entre os tratamentos ($p > 0,05$) pelo teste de Qui-quadrado

No entanto, é importante ressaltar que, possivelmente, de acordo com a Tabela 1, observa-se que já havia uma diferença no número de folículos dominantes no D8 para os animais selecionados aleatoriamente para o grupo TCE8, o que sugere, que pode não ter sido o tratamento que influenciou o resultado de taxa de ovulação entre os grupos e sim, que já havia uma tendência dos animais do TCE8 em ovularem pela presença do maior número de folículos dominantes no D8.

Dados semelhantes para taxa de ovulação (39,1%) foram registrados por Carvalho (22) que obtiveram em novilhas *B. taurus indicus*, utilizando BE como indutor de ovulação. Adicionalmente, Cavalieri et al. (23), trabalhando com novilhas cruzadas e Pegorer (24) com novilhas nelore, obtiveram taxa de ovulação de 69,6% e 65%, respectivamente.

Em contraste, o aumento da taxa de ovulação nas novilhas do tratamento com CE, de 90,0% (Tabela 3) pode estar relacionada ao maior diâmetro do FD. A taxa de ovulação para CE, foi similar às registradas por Rodrigues et al. (25) e Sá Filho et al. (16) que induziram a ovulação em novilhas nelore com CE e obtiveram uma taxa de 85% e 81,5%, respectivamente. Para Rodrigues et al. (25) o CE elevou as concentrações periféricas de estradiol, aumentando, por conseguinte o estímulo ovulatório.

A taxa de prenhez registrada no presente experimento para os dois tratamentos foi de 37,03%. Não houve associação significativa entre tratamento e prenhez. Demonstrando assim que o tratamento não influenciou na prenhez. Meneghetti et al. (26) também não verificaram diferenças na taxa de prenhez entre vacas de corte que receberam cipionato de estradiol (50,8%) concomitante a remoção do dispositivo de progesterona ou o benzoato de estradiol (51,9%) aplicado 24h depois da remoção do implante. Uslenghi et al. (27) não observaram diferenças na porcentagem de prenhez na IATF em novilhas, utilizando 1mg de CE (50%) na retirada do dispositivo de P₄, em comparação com a administração de BE 24h depois (59%).

Ainda, Chesta et al. (28), trabalhando com novilhas mestiças, obtiveram taxa de prenhez de 57,4% quando utilizaram 1mg de CE no D8 concomitante a retirada do dispositivo. Também, em novilhas holandesas, Chesta et al. (29) obtiveram 66,3% e 54,4% de prenhez utilizando 1mg de CE na retirada do dispositivo e BE 24h depois, respectivamente, demonstrando diferença entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Adicionalmente, os resultados obtidos no presente estudo se encontraram dentro da variação de prenhez, para a implantação de protocolos de IATF, que são de 23,6% à 74,4% (13). Apesar desta larga margem, resultados que correspondem à taxa de prenhez acima da média não foram alcançados. No entanto, tem sido relatado que a sincronização do estro com a utilização do dispositivo de P₄ resulta em uma baixa fertilidade no primeiro serviço (4). Além disso, não se deve descartar o efeito do clima, se tratando de um ano atípico, veranicos prolongados, início antecipado do período de seca e com a precipitação anual muito abaixo da média, 1190 mm, o que podem ter prejudicado o desenvolvimento das pastagens e desempenho animal, assim, contribuíram para que não se alcançasse índices próximos de 50%, que seriam ideais. Moreira (30) relatou que a restrição alimentar prolongada prejudicou a atividade cíclica

das novilhas por suprimir a liberação do LH em pulsos de alta frequência, necessários para o crescimento dos folículos ovarianos até o estágio pré-ovulatório.

Adicionalmente, o estresse também é um importante fator negativo que suprime a secreção de LH (3), e *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus* são mais temperamentais do que as raças taurinas (26). Motivo pelo qual, justifica a comparação de protocolos com diferentes indutores do estímulo ovulatório, no intuito de reduzir o trabalho e manejo com os animais. Dessa forma Colazo et al. (7) avaliaram os efeitos da utilização de CE no dia 8 e BE no dia 9 em novilhas de corte, e relataram que o tratamento com CE poderia ser realizado no momento da retirada do dispositivo de P₄, e a IATF realizada 48h mais tarde, reduzindo o manejo e *stress*, sem efeitos negativos sobre a taxa de prenhez (63,33%, 63,1% para CE e BE, respectivamente).

Contudo, a utilização de CE na retirada do dispositivo intravaginal, permite reduzir o número de manejo dos animais sem afetar a taxa de prenhez à IATF quando comparada ao BE, em novilhas mestiças de corte ou de leite. Assim, o CE pode substituir o BE como indutor de ovulação em protocolos de IATF, reduzindo trabalho e custo.

CONCLUSÃO

A utilização do Cipionato de estradiol no dia 8, em protocolos de IATF em novilhas mestiças, resultou em menor tempo para a ovulação a partir da retirada do implante de progesterona;

Não houve diferença na taxa de prenhez de novilhas mestiças submetidas ao tratamento com cipionato de estradiol no dia 8 e benzoato de estradiol no dia 9 em protocolos de IATF;

A utilização do cipionato de estradiol comparado ao benzoato de estradiol é mais vantajosa visto que reduz o número de manejo, diminuindo o estresse dos animais e otimiza a mão de obra.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Este trabalho está de acordo com os princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFES), sob o protocolo nº 018/2014.

REFERÊNCIAS

1. Oliveira JFC, Gonçalves PBD, Ferreira R, Gasperin B, Siqueira LC. Controle sobre GnRH durante o anestro pós-parto em bovinos. *Cienc Rural*. 2008;40:2623-31.
2. Gottchall CS, Schuler MV, Martins CTDC, Almeida MR, Magero J, Soares JCR, et al. Efeitos do uso de GNRH no momento da IATF e dias pós-parto sobre a taxa de prenhez em vacas de corte com cria ao pé. *Vet Foco*. 2010;7:124-34.
3. Andrade BHA, Ferraz PA, Rodrigues AS, Loiola MVG, Chalhoub M, Ribeiro Filho AL. Eficiência do cipionato de estradiol e do benzoato de estradiol em protocolos de indução da ovulação sobre a dinâmica ovariana e taxa de concepção de fêmeas nelore inseminadas em diferentes momentos. *Arch Vet Sci*. 2012;17:70-82.
4. Torres JAP, López JRA, Castro FGC, Monforte JGM. Comparación del cipionato de estradiol vs benzoato de estradiol sobre La respuesta a estro y tasa de gestación em protocolos de sincronización com cidr em novillas y vacas *Bos indicus*. *Univ Cienc*. 2010;26:163-9.

5. Crepaldi GA. Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2009.
6. Palhão MP, Piedade CS, Araújo HL, Fernandes CAC, Guimarães CRB, Ribeiro JR, et al. Sincronização folicular e vascularização do folículo dominante em novilhas mestiças tratadas com estradiol. *Rev Bras Cienc Vet.* 2014;21:117-21.
7. Colazo MG, Kastelic JP, Mapletoft RJ. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AL programs in beef heifers. *Theriogenology.* 2003;60:855-65.
8. Baruselli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bó GA. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrusbeef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci.* 2004;82:486-97.
9. Vercesi Filho AE, Madalena FE, Albuquerque LG, Freitas AF, Borges LE, Ferreira JJ, et al. Parâmetros genéticos entre características de leite, de peso e a idade ao primeiro parto em gado mestiço leiteiro (*Bos taurus* x *Bos indicus*). *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2007;59:983-90.
10. Borges AM, Torres CAA, Ruas JRM, Rocha Júnior VR, Carvalho GR. Dinâmica folicular ovariana em novilhas mestiças Holandês-Zebu. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2001;53:595-604.
11. SAS. Statistical Analysis System. SAS studio 3.2: administrator's guide. Cary: SAS; 2014.
12. Gimenes LU, Sá Filho MF, Carvalho NAT, Torres Junior JRS, Souza AH, Madureira EH, et al. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology.* 2008;69:852-8.
13. Bó GA, Baruselli PS, Martínez MF. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci.* 2003;78:307-26.
14. Carvalho JBP, Carvalho NAT, Reis EL, Nichi M, Souza AH, Baruselli PS. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology.* 2008;69:167-75.
15. Ferraz PA, Rodrigues AS, Loiola MVG, Andrade BHA, Chalhoub M, Bittencourt RF, et al. Diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da inseminação artificial em tempo fixo em vacas nelore. In: Anais da XXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões; 2010; Porto de Galinha. Porto de Galinha: SBTE; 2010. p.81.
16. Sá Filho MF, Penteadó L, Siqueira GR, Soares JG, Mendanha MF, Macedo GG, et al. Timed artificial insemination should be performed early when used norgestomet ear implants are applied for synchronizing ovulation in beef heifers. *Theriogenology.* 2013;80:642-7.
17. Lopes FL, Arnold DR, Williams J, Pancarci SM, Thatcher MJ, Drost M, et al. Use of estradiol cypionate for timed insemination. *J Dairy Sci.* 2000;83:214.

18. Martínez MF, Colazo MG, Kastelic JP, Mapletoft RJ. Effects of estradiol-17 β or estradiol benzoate on follicular dynamics in CIDR-B-treated beef heifers. *Theriogenology*. 2002;57:382.
19. Reis EL, Gimenes LU, Marques MO, Carvalho JBP, Mapletoft RJ, Baruselli PS. Efeitos do cipionato e do benzoato de estradiol na dinâmica folicular e luteínica de vacas Nelore. In: *Anais da XVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões*; 2004; Barra Bonita. Barra Bonita: SBTE; 2004. p.236.
20. Martins CM, Castricini ESC, Sá Filho MF, Gimenes LU, Baruselli PS. Dinâmica folicular de vacas nelore tratadas com cipionato ou benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo. In: *Anais da XIX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões*; 2005; Angra dos Reis. Angra dos Reis: SBTE; 2005. p.285.
21. Roelofs JB, Graat EAM, Mullaart E, Soede NM, Voskamp-Harkema W, Kemp B. Effects of insemination–ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle. *Theriogenology*. 2006;66:2173-81.
22. Carvalho JBP. Sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR[®]) em novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2004.
23. Cavalieri J, Coleman C, Rodrigues H, Macmillan KL, Fitzpatrick LA. The effect of timing of administration of oestradiol benzoate on characteristics of oestrus, timing of ovulation and fertility in *Bos indicus* heifers synchronised with a progesterone releasing intravaginal insert. *Aust Vet J*. 2002;80:217-23.
24. Pegorer MF. Taxas de ovulação e prenhez em novilhas Nelore cíclicas após utilização de protocolos para inseminação artificial em tempo fixo (IATF), com diferentes concentrações de progesterona, associadas ou não a aplicação de ECG. [tese]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2009.
25. Rodrigues ADP, Peres RFG, Lemes AP, Martins T, Pereira MMHC, Day ML, et al. Progesterone-based strategies to induce ovulation in prepubertal nelore heifers. *Theriogenology*. 2013;79:135-41.
26. Meneghetti M, Miguel JC. Addition of eCG on a fixed timed artificial insemination protocol in the conception rate of cycling nelore heifers. In: *Anais da XXII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões*; 2008; Guarujá. Guarujá: SBTE; 2008. p.638.
27. Uslenghi G, Chayer R, Callejas S. Efectividad del cipionato de estradiol injectado al final de um tratamiento con progesterona sobre la eficiencia reproductiva. *Rev Vet*. 2010;21:55-8.
28. Chesta P, Brandan A, Cuestas G, Quiñones G, Lozano P, Tríbulo P. Evaluación de diferentes dosis de cipionato de estradiol sobre la tasa de preñez em inseminación artificial a tiempo fijo em vaquillonas de 15 meses de edad. In: *Anais do VIII Simpósio Internacional de Reproducción Animal*; 2009; Córdoba. Córdoba: Instituto de Reproducción Animal Córdoba; 2009. p.13.

29. Chesta P, Filippi L, Ramos M, Racca D, Bó G. Evaluación de las tasas de preñez em protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) utilizando diferentes dosis de cipionato de estradiol en vaquillonas holando. In: Anais do VIII Simpósio Internacional de Reproducción Animal; 2009; Córdoba. Córdoba: Instituto de Reproducción Animal Córdoba; 2009. p.12.
30. Moreira LDZ. Indução da puberdade em novilhas da raça nelore com progesterona veiculada em matriz polimérica [dissertação]. Campos dos Goytacazes: Universidade Estadual do Norte Fluminense; 2013.

Recebido em: 09/07/2016

Aceito em: 05/08/2017

DESENVOLVENDO COMPETÊNCIAS NA APRENDIZAGEM DE ESTUDANTES DE MEDICINA VETERINÁRIA

Cláudia Turra Pimpão¹
Darlane Cristina Catapan²
Rita Maria Venâncio Mangrich Rocha³
Kung Darh Chi³
Valeria Natasha Teixeira⁴
Humberto Maciel França Madeira¹
Ana Lúcia Michelotto⁵
Mirian Célia Castellain Guebert¹
Javier Burchard⁶

RESUMO

Atualmente para os professores universitários obterem a atenção do estudante em sala de aula, é necessário romper alguns paradigmas e ser inovador na forma de ensinar para poder manter-se motivado, porque concorrer com a facilidade de acesso as informações juntamente com o mundo tecnológico a disposição dos alunos, torna-se um desafio para toda a comunidade acadêmica. A educação universitária necessita de implementação de novos modos de se pensar e praticar o processo de ensino e aprendizagem. A metodologia de ensino deve ser ativa e inovadora, levando em conta os saberes prévios dos alunos, sua realidade social, política, profissional e cultural. As metodologias de projetos que estimulem a pesquisa, resultam em descobertas significativas e aplicáveis à realidade de cada discente possibilitando ao docente ser mediador do processo de ensino e aprendizagem, criando cenários que rompem com a visão tradicional de ver e compreender as coisas por parte dos discentes. O objetivo do presente estudo é eleger as possíveis competências para serem utilizadas como metodologia de ensino e aprendizagem de estudantes de bacharelado em medicina veterinária na PUCPR. As competências desenvolvidas no Curso de Medicina Veterinária da PUCPR são pautadas em desenvolver competências basilares e específicas e são as mínimas competências esperadas que médicos veterinários recém-formados possuam, a fim de garantir serviços veterinários de alta qualidade.

Palavras-chave: Metodologias ativas, educação superior, diretrizes curriculares, ensino-aprendizagem.

DEVELOPING SKILLS IN LEARNING OF VETERINARY MEDICINE STUDENTS

ABSTRACT

Currently for academics get the student's attention in the classroom, it is necessary to break some paradigms and be innovative in the way of teaching in order to remain motivated because compete with the ease of access to information along with the technological world layout students, it becomes a challenge for the entire academic community. University education needs to implement new ways of thinking and practicing the teaching and learning process. The teaching methodology should be active and innovative, taking into account the previous

¹ Professora titular da Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Correspondência.

² Doutoranda em Saúde, Tecnologia e Produção Animal Integrada pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR

³ Professora Adjunto III da Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

⁴ Professora do Curso de Medicina Veterinária da Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

⁵ Escola de Saúde, Agrociências e Biotecnologia, Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

⁶ Médico Veterinário, Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

knowledge of the students, their social, political, professional and cultural reality. The project methodologies that encourage research, result in significant and relevant findings to the reality of each student enabling the teacher to be a mediator in the process of teaching and learning, creating scenarios that break with the traditional view of seeing and understanding things by the students. The aim of this study is to elect the possible skills to be used as a teaching and learning methodology of bachelor's students in veterinary medicine in PUCPR. The skills developed in the course of Veterinary Medicine at PUCPR are guided in developing basic and specific skills and are the minimum skills expected that newly graduated veterinarians have in order to ensure high quality veterinary services.

Keywords: Active methodologies, higher education, curriculum guidelines, teaching and learning.

DESARROLLO DE COMPETENCIAS EN APRENDIZAJE DE LOS ESTUDIANTES EN MEDICINA VETERINARIA

RESUMEN

Actualmente para que el professor académico llamen la atención del estudiante en el aula, es necesario romper algunos paradigmas y ser innovadores en la forma de enseñar con el fin de mantener la motivación porque competir con la facilidad de acceso a la información, junto con el diseño mundo tecnológico estudiantes, se convierte en un desafío para toda la comunidad académica. Una educación universitaria requiere la implementación de nuevas formas de pensar y practicar el proceso de enseñanza y aprendizaje. La metodología de enseñanza debe ser activa e innovadora, teniendo en cuenta los conocimientos previos de los estudiantes, su cultura social, política, profesional y. Las metodologías de proyectos que fomenten la investigación, dar lugar a conclusiones significativas y relevantes a la realidad de cada estudiante permitiendo a los profesores para mediar en el proceso de enseñanza y aprendizaje, la creación de escenarios que rompen con la visión tradicional de ver y entender las cosas por los estudiantes. El objetivo de este estudio es para elegir las posibles habilidades que se puedan utilizar como una metodología de enseñanza y el aprendizaje de los estudiantes de licenciatura en medicina veterinaria en la PUCPR. Las habilidades desarrolladas en el curso de Medicina Veterinaria PUCPR se guían en el desarrollo de habilidades básicas y específicas y son las competencias mínimas que se espera que los veterinarios recién graduados tienen el fin de garantizar los servicios veterinarios de alta calidad.

Palabras clave: Metodologías activas, la educación superior, lineamientos curriculares, la enseñanza y el aprendizaje.

INTRODUÇÃO

Atualmente, para os professores universitários manterem a atenção do estudante em sala de aula, é necessário romper alguns paradigmas, ou seja, ser inovador na forma de ensinar para poder manter a motivação, pois concorrer com a facilidade de acesso as informações juntamente com o mundo tecnológico a disposição dos alunos, torna-se um desafio para toda a comunidade acadêmica.

Isso é um desafio, pois as atuais diretrizes curriculares nacionais – DCN, da educação universitária apontam para a necessidade de implementação de novos modos de se pensar e praticar o processo de ensino-aprendizagem (1,2). As DCNs preveem mudanças curriculares no processo de ensino-aprendizagem que orientem uma formação profissional, dando protagonismo aos discentes (3,4,5).

Esse processo ensino-aprendizagem requer uma metodologia de ensino ativa e inovadora, levando em conta os saberes prévios dos alunos, sua realidade social, política, profissional e cultural. As metodologias de projetos que estimulam a pesquisa resultam em descobertas significativas e aplicáveis à realidade de cada discente. Tal metodologia possibilita ao docente ser mediador do processo de ensino e aprendizagem, criando cenários que rompem com a visão tradicional de ver e compreender as coisas por parte dos discentes (6).

Para que este modelo do processo ensino-aprendizagem seja eficiente, são necessárias mudanças no perfil docente e discente, e isso exige uma transformação na formação superior, do atual modelo baseado na transmissão de conhecimentos e na memorização para um modelo educativo embasado na formação por competências, que é a aquisição de conteúdos para que o aluno consiga adquirir habilidades, conhecimentos e atitudes centradas no processo de aprendizagem (7).

A aprendizagem por competência pode ser considerada como uma metodologia inovadora e norteia-se pela ação principal sendo do aluno e não do professor, portanto o professor atua como um facilitador ou mediador. Desta forma, aprender por competência significa uma abordagem didática orientada para a execução imediata de habilidades, sendo um enfoque que contempla uma aprendizagem necessária para que o estudante atue de maneira ativa, responsável e criativa, com habilidades de comunicação oral e escrita, habilidades de avaliação crítica e habilidades de caráter pessoal, para a construção de seu projeto de vida, tanto pessoal e social como profissional (8).

Atualmente os docentes de educação superior devem ensinar seus estudantes a aprender e também a tomar iniciativas, ao invés de serem somente fontes de conhecimento (9).

O contexto da profissão do Médico Veterinário é amplo, pois o perfil do profissional a ser formado é generalista e serão profissionais responsáveis pela promoção da saúde e do bem-estar animal, pela saúde pública e segurança alimentar, portanto trabalha para a humanidade (4). Considerando o exposto acima, aliado aos princípios institucionais são a base para a proposta educativa e orienta a ação pedagógica do Curso de Medicina Veterinária na Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) que acredita que o conhecimento humano e a busca da verdade dão-se na mútua valorização da ciência, fé e razão, calcada na ética e em valores cristãos; de vivência conforme os valores maristas, corporificando a sua responsabilidade de formação integral do profissional (10,11,12,13).

O objetivo do presente estudo é eleger as possíveis competências para serem utilizadas como metodologia de ensino e aprendizagem de estudantes de bacharelado em medicina veterinária na PUCPR, bem como comparar este projeto pedagógico com as recomendações da Organização Mundial para a Saúde Animal (OIE) para educação em Medicina Veterinária.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho caracteriza-se, quanto aos objetivos, como uma pesquisa descritiva, pois têm como finalidade principal a descrição das características de determinada população ou fenômeno (14). A pesquisa descritiva apenas captura, demonstra e faz o registro escrito de um cenário de determinada situação (15). Em relação aos procedimentos, o presente trabalho utiliza a pesquisa bibliográfica, definida como o levantamento de referências teóricas já analisadas, e publicadas por meios escritos e eletrônicos, como livros, artigos científicos, páginas de *web sites* (16).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Metodologia por competência

Competência refere-se à capacidade de mobilizar múltiplos recursos, entre os quais os conhecimentos teóricos e experiências da vida pessoal e profissional, para responder às

diferentes demandas das situações de trabalho. Apoia-se, portanto, no domínio de saberes, mas não apenas de saberes teóricos, e refere-se à atuação em situações complexas (17).

A competência é uma palavra do senso comum, utilizada para designar uma pessoa qualificada para realizar alguma coisa. O seu oposto, não implica apenas a negação desta capacidade, mas guarda um sentimento depreciativo. O conceito de competência é definido como uma combinação de conhecimentos (adquiridos pelas informações e conteúdos), habilidades e atitudes (18).

O conhecimento se refere ao saber o que fazer; a habilidade está relacionada ao saber como fazer; e a atitude, ao querer fazer. A noção de competência explicita a necessidade da experiência prática e, por vezes, específica, para que o desempenho esperado seja alcançado (19).

A educação ao longo da vida se baseia nos “Quatro Pilares da Educação” propostos pela Unesco no documento “Educação: Um Tesouro a Descobrir” (20): aprender a conhecer, aprender a fazer, aprender a conviver e aprender a ser. Para que sejam possíveis as reformas educacionais, seja na elaboração dos programas ou na definição de novas políticas pedagógicas, as instituições de ensino devem adotar em sua totalidade os quatro pilares da educação (Quadro 1) como uma nova proposta ensino-aprendizagem, objetivando desenvolver as competências nos discentes.

O que diferencia os processos de aprendizagem que um indivíduo experimenta no seu dia a dia do processo de aprendizagem que esse mesmo indivíduo vivencia em sala de aula, é a intencionalidade (22), pois a aprendizagem é um processo de mudança no comportamento, seja ela de natureza cognitiva, psicomotora ou afetiva, provocado por uma experiência (19).

No processo de ensino-aprendizagem existe uma intencionalidade: produzir aprendizagem. No ensino, todas as atividades são concebidas e planejadas com o objetivo de produzir uma aprendizagem nos seus ouvintes. Por isso, as informações deverão ser organizadas e sistematizadas de forma a alcançar esse objetivo. Ao realizar esses procedimentos, o professor estará definindo uma estratégia de ensino-aprendizagem (22).

De acordo com a publicação “Estratégias de ensino-aprendizagem para desenvolvimento das competências humanísticas”, elaborada pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária (19), o processo de ensino-aprendizagem, para que seja efetivo, compreende diferentes fases que precisam, necessariamente, estar coordenadas entre si. Essas fases ou etapas podem ser divididas em: planejamento; execução de atividades de ensino-aprendizagem e avaliação das competências.

Competências da medicina veterinária

Para a OIE (23), os Médicos Veterinários, independentemente da sua área de prática profissional, são responsáveis pela promoção da saúde e do bem-estar animal, pela saúde pública e segurança alimentar, sendo os serviços veterinários considerados um bem público mundial. A educação veterinária é uma pedra basilar para assegurar que o Médico Veterinário receba uma formação que lhe garanta competências condizentes com o que se espera de sua atuação.

E as competências específicas mencionadas pela OIE (24) são: epidemiologia, doenças de animais transfronteiriças, zoonoses (incluindo as doenças de origem alimentar), doenças emergentes e re-emergentes, programas de prevenção e controle de doenças, higiene de alimentos, produtos veterinários, bem-estar animal, legislação veterinária e ética, procedimentos gerais de certificação, e habilidades de comunicação.

Quadro 1. Pilares da educação e competências a serem desenvolvidas pelos discentes.

NOME DO PILAR	DESCRIÇÃO DOS PILARES / COMPETÊNCIAS
Aprender a conhecer	Combinando uma cultura geral, suficientemente ampla, com a possibilidade de estudar, em profundidade, um número reduzido de assuntos, ou seja: aprender a aprender, para se beneficiar das oportunidades oferecidas pela educação ao longo da vida (20).
	Assimilar conhecimentos científicos e culturais gerais e específicos, que se completarão e atualização ao longo de toda a vida (5). Possibilidade de aprendizagem e construção de conceitos relacionados aos temas, por meio das problematizações, leituras, pesquisas, análises e mapeamento de situações-problemas, contextualizadas ao campo de atuação (21).
Aprender a fazer	Adquirir não só uma qualificação profissional, mas, de uma maneira mais abrangente, a competência que torna a pessoa apta a enfrentar numerosas situações e a trabalhar em equipe (20).
	Adquirir procedimentos que ajudem a afrontar as dificuldades que se apresentem na vida e na profissão (5). Possibilidades de desenvolver e implementar a pesquisa, relatórios, sínteses e projetos (21).
Aprender a conviver	Desenvolvendo a compreensão do outro e a percepção das interdependências – realizar projetos comuns e se preparar para gerenciar conflitos – no respeito pelos valores do pluralismo, da compreensão mútua e da paz (20).
	Compreender melhor aos demais, o mundo e suas inter-relações (5). Possibilidades de trabalhar em equipe, de desenvolver a tolerância, responsabilidade, de comunicar-se e de produzir reflexões e ações coletivas (21).
Aprender a ser	Desenvolver, o melhor possível, a personalidade e as condições de agir com uma capacidade cada vez maior de autonomia, discernimento e responsabilidade pessoal. Com essa finalidade, a educação deve levar em consideração todas as potencialidades de cada indivíduo: memória, raciocínio, sentido estético, capacidades físicas, aptidão para se comunicar (20).
	Atuar com autonomia, juízo, responsabilidade pessoal (5). Possibilidade de autoconhecimento nas análises crítico-reflexivas do processo ensino-aprendizagem, e nos processos desenvolvidos, durante a formação (21).

As competências avançadas listadas pela OIE (24) são: organização dos serviços veterinários, procedimentos de inspeção e certificação, gestão de doenças contagiosas, higiene de alimentos, aplicação de análises de risco, pesquisa, quadro do comércio internacional, administração e gestão.

Tanto as competências específicas quanto as avançadas, são as mínimas competências esperadas que médicos veterinários recém-formados possuam, a fim de garantir serviços veterinários de alta qualidade (1,4,23).

Diretrizes curriculares nacionais dos cursos de medicina veterinária

A Resolução CNE/CES nº 1/2003 estabelece que a formação do Médico Veterinário tem por objetivo dotar o profissional dos conhecimentos para desenvolver ações e resultados voltados à área de Ciências Agrárias no que se refere à Produção Animal, Produção de Alimentos, Saúde Animal e Proteção Ambiental, além das seguintes competências (gerais/humanísticas): atenção à saúde, tomada de decisões, comunicação, liderança, administração e gerenciamento, educação permanente (25).

Essas competências, denominadas humanísticas, são aquelas ligadas à capacidade de lidar com as inúmeras variáveis possíveis de se considerar quando as pessoas estão envolvidas. Essas competências trazem aspectos explorados pelas teorias de inteligências múltiplas, especialmente pelo campo de estudo da inteligência emocional. Estão relacionadas às questões humanas de relacionamento, de compreensão da realidade sob um prisma mais amplo, de comunicação, de liderança, de organização e de gestão, incluindo-se aí a gestão de si mesmo.

As competências humanísticas elencadas na Resolução CNE/CES nº 1/2003 estão relacionadas umas às outras, de forma interdependente. Pode-se concluir, ainda, que a menção às competências humanísticas não se relaciona meramente ao desenvolvimento de determinados comportamentos nos alunos, que podem vir a denotar a presença ou não da competência (19).

Espera-se da formação do Médico Veterinário que lhe proporcione o desenvolvimento das competências de maneira aplicada. Essa é uma condição essencial para a geração dos resultados requeridos pela sociedade, no que tange à Medicina Veterinária, e exigidos das Instituições de Ensino Superior (19).

O Curso de Bacharelado em Medicina Veterinária da PUCPR procura desenvolver no egresso, a formação generalista, humanista, crítica e reflexiva, apto a compreender e traduzir as necessidades de indivíduos, grupos sociais e comunidades, com relação às atividades inerentes ao exercício profissional, no âmbito de seus campos específicos de atuação em saúde animal e clínica veterinária; saneamento ambiental e medicina veterinária preventiva, saúde pública e inspeção e tecnologia de produtos de origem animal; zootecnia, produção e reprodução animal e ecologia e proteção ao meio ambiente. Também apresentar conhecimento dos fatos sociais, culturais e políticos da economia e da administração agropecuária e agroindustrial. Capacidade de raciocínio lógico, de observação, de interpretação e de análise de dados e informações, bem como dos conhecimentos essenciais de Medicina Veterinária, para identificação e resolução de problemas (10,11,12,13).

A prática da multidisciplinaridade foi considerada ao elaborar as competências do Curso de Medicina Veterinária e cultivada na vida acadêmica, por meio de projetos, estágios e pelas atividades complementares desenvolvidas durante a permanência do estudante no Curso. Estas atividades são capazes de desenvolver no estudante uma visão geral do paciente, como a percepção da importância do envolvimento dos animais com as famílias e o seu significado para a saúde humana (13).

Dessa forma o egresso deste Curso de Medicina Veterinária deve ser reconhecido socialmente como um profissional qualificado e responsável, envolvido com as questões que regem a profissão, e também com o mundo globalizado (13).

Grade curricular, competências desenvolvidas e estratégias de ensino

Diante das diferenças sociais, econômicas e políticas entre países em relação às necessidades educacionais, a OIE propõe um Modelo de Currículo Núcleo em Medicina Veterinária (Quadro 2). Cabe a cada Estabelecimento de Ensino de Medicina Veterinária complementar o Modelo em conformidade com a sua realidade local e com suas necessidades educativas nacionais. No entanto, é preciso manter a intenção original do modelo - ou seja, educar estudantes de medicina veterinária para atingir as recomendações da OIE sobre as competências de se formar veterinários (23).

Quadro 2. Modelo de Currículo Núcleo em Medicina Veterinária.

CONTEÚDO DO CURSO	ORDEM DENTRO DO CURSO	MÍNIMAS COMPETÊNCIAS ABORDADAS		
		GERAIS/ HUMANÍSTICAS	ESPECÍFICAS	AVANÇADAS
Bioquímica	Início	Todas ***	-	-
Genética	Início	Todas	-	-
Anatomia	Início	Todas	-	-
Fisiologia	Início	Todas	-	-
Imunologia	Início	Todas	-	-
Biomatemática	Início	Todas	*Epidemiologia	-
Bem-estar animal e Etologia	Início e meio	Todas	*Bem-estar animal	-
Parasitologia	Meio	Todas	*Zoonoses	-
Farmacologia/ Toxicologia	Meio	Todas	*Produtos veterinários	-
Patologia	Meio	Todas	*Epidemiologia *Zoonoses *Doenças de animais transfronteiriças *Doenças emergentes e re-emergentes	-
Doenças transmissíveis	Meio	-	*Epidemiologia *Zoonoses *Doenças de animais transfronteiriças *Doenças emergentes e re-emergentes *Programas de prevenção e controle de doenças	*Gestão de doenças contagiosas
Microbiologia	Meio	Todas	*Zoonoses *Doenças de animais transfronteiriças *Doenças emergentes e re-emergentes *Programas de prevenção e controle de doenças	*Higiene de alimentos
Epidemiologia	Meio	-	*Epidemiologia *Doenças emergentes e re-emergentes *Programas de prevenção e controle de doenças *Legislação veterinária e ética	*Gestão de doenças contagiosas *Higiene de alimentos *Aplicação de análises de risco
Economia rural, gestão de empresas e produção animal	Meio e final	Todas	-	*Administração e gestão
Ciências clínicas e de diagnóstico	Meio e final	-	*Produtos veterinários	-

Legislação veterinária nacional e internacional	Meio e final	-	*Bem-estar animal *Produtos veterinários *Programas de prevenção e controle de doenças *Legislação veterinária e ética *Higiene de alimentos *Procedimentos gerais de certificação	*Gestão de doenças contagiosas *Higiene de alimentos *Organização dos serviços veterinários *Procedimentos de inspeção e certificação *Quadro do comércio internacional
Nutrição e gestão da saúde do rebanho	Final	-	*Epidemiologia *Bem-estar animal *Zoonoses *Produtos veterinários *Programas de prevenção e controle de doenças *Higiene de alimentos	*Gestão de doenças contagiosas *Higiene de alimentos *Aplicação de análises de risco *Procedimentos de inspeção e certificação
Saúde pública	Final	-	*Zoonoses *Produtos veterinários *Programas de prevenção e controle de doenças *Higiene de alimentos	*Gestão de doenças contagiosas *Higiene de alimentos *Organização dos serviços veterinários *Procedimentos de inspeção e certificação
Segurança e higiene de alimentos	Final	-	*Zoonoses *Produtos veterinários *Programas de prevenção e controle de doenças *Higiene de alimentos *Legislação veterinária e ética *Procedimentos gerais de certificação	*Higiene de alimentos *Procedimentos de inspeção e certificação *Quadro do comércio internacional
Jurisprudência ética e profissional	Final	-	*Legislação veterinária e ética *Procedimentos gerais de certificação	-
Comunicação	Constante	Todas	*Habilidades de comunicação	*Administração e gestão

***Competências gerais / humanísticas (25): atenção à saúde, tomada de decisões, comunicação, liderança, administração e gerenciamento, educação permanente.

Fonte: (23).

A matriz curricular do Bacharelado em Medicina Veterinária da PUCPR foi baseada em competências que chamamos de basilares, que visam a formação integral do indivíduo, bem como sua atuação no contexto social, são elas: comunicar-se eficientemente nas formas escrita, oral, gráfica e artística; desenvolver raciocínio científico; atuar de forma ética e empreendedora; utilizar adequadamente as ferramentas tecnológicas; integrar os aspectos do desenvolvimento global de forma sustentável para a conservação da vida.

A partir das competências basilares foram trabalhadas as Competências Profissionalizantes, em que o estudante depara-se em cada disciplina com a aquisição de conhecimento, habilidade e atitude em uma área diferente da profissão, ou seja: realizar diagnóstico e terapêutica em medicina veterinária; realizar programas de medicina veterinária preventiva e de atenção geral à saúde pública; adquirir conhecimento para o manejo de rebanhos; atuar de forma ética na biotecnologia da reprodução e dos produtos biológicos e executar a inspeção sanitária e tecnológica de produtos de origem animal (10,11,12,13).

Ao compararmos a matriz curricular do curso de Medicina Veterinária da PUCPR (13) com a matriz recomendada pela OIE (23), pode-se observar que a matriz desenvolvida na PUCPR está em concordância com a recomendação quanto a distribuição das disciplinas ao longo dos cinco anos de curso, nas disciplinas envolvidas no programa e no programa das disciplinas desenvolvidas em quase sua totalidade.

As divergências encontradas em relação a distribuição das disciplinas, se concentra somente na oferta da disciplina de microbiologia, pois a recomendação da OIE, é que esta disciplina se desenvolva na metade do curso e na matriz curricular aplicada na PUCPR, esta disciplina se concentra no início do segundo ano de curso (13).

Quanto as disciplinas ofertadas ou os programas desenvolvidos, a divergência percebida, seria na comunicação em outros idiomas, considerados oficiais pela OIE, ou seja, inglês, francês ou espanhol. Existe a previsão de ministrar disciplinas em inglês em nosso curso, porém isto deverá ocorrer a partir de 2016, porém a mesma disciplina ofertada em inglês, deverá ser ofertada em português (13).

O conteúdo a ser abordado no âmbito das disciplinas não deve sofrer alteração em virtude da adoção de novas estratégias de ensino-aprendizagem, somente atualizado. O mesmo conteúdo, trabalhado de uma maneira diferente pelo professor, pode produzir nos alunos resultados de aprendizagem diferentes (19).

Para que o professor do curso de medicina veterinária possa escolher e obter sucesso na implantação das estratégias de ensino-aprendizagem, o documento “Estratégias de ensino-aprendizagem para desenvolvimento das competências humanísticas”, elaborado pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária (19), exemplifica as diferentes estratégias de ensino e ao mesmo tempo, classifica quanto ao grau de preparo exigido do professor para sua implementação, conforme Quadro 3.

Quadro 3. Classificação das estratégias de ensino-aprendizagem do curso de medicina veterinária quanto ao grau de preparo exigido em termos de competências do professor para sua implementação.

ESTRATÉGIAS DE ENSINO	GRAU DE PREPARO DO PROFESSOR PARA UTILIZAÇÃO DE ESTRATÉGIA
Aula expositiva dialogada	Nível de preparo mínimo
Painel	
Portfólio	
Seminário	
Solução de problemas	
Estudo de caso	
Estudo de texto	
Estudo dirigido	
Lista de discussão por meios informatizados	
Mapa conceitual	
Dramatização	Nível de preparo médio
Fórum	
Oficina de trabalho (ou workshop)	
Tempestade cerebral	
Tribunal do júri	
Jogos	Nível de preparo alto
Aprendizagem Baseada em Problemas (Problem-Based Learning – PBL)	
Aprendizagem baseada em projetos	
Estudo do meio	

Fonte: (19).

CONCLUSÕES

Trabalhar o conceito de competência associado à estratégia e à aprendizagem é um desafio para os docentes e discentes universitários. Isso requer a adoção de estratégias de ensino inovadoras.

As competências, gerais ou humanísticas, específicas e avançadas, basilares ou complementares somadas às propostas de estratégias de ensino, se aplicadas com consistência e coerentemente com as demais etapas do processo de ensino-aprendizagem, como o planejamento e a avaliação, contribuirão para melhorar a qualidade do ensino do curso e perfil de estudantes de Medicina Veterinária.

A adoção da metodologia desenvolvida por competência deve ser realizada gradativamente ao longo do curso para que a qualidade do ensino não seja deturpada. Tanto docentes como discentes devem acostumar-se as novas abordagens do conhecimento. Principalmente porque os professores têm que receber um treinamento e também porque os estudantes brasileiros não têm o hábito de estudar o conteúdo que será abordado em sala de aula antes que ela ocorra. Além disso, a atual geração de estudantes tem pressa em ter a informação, porém não tem paciência em apreender.

Outro grande desafio na adoção da metodologia por competência é definir qual é a forma mais adequada e eficiente de avaliação das competências desenvolvidas pelos estudantes.

Atualmente a informação está a um clique com o uso da internet, porém o que percebemos é que essa informação para o nosso estudante é muito superficial e conseqüentemente não sedimenta em sua memória, portanto a adoção da metodologia desenvolvida por competência é uma ferramenta muito útil para superarmos essa informação superficial e capacitar o indivíduo com conhecimentos eficientes e permanentes para oferecer uma formação profissional adequada aos novos contextos mundiais.

REFERÊNCIAS

1. Decreto nº 5.622, de 19 de Dezembro de 2005. Regulamenta o art. 80 da Lei nº 9.394, de Dezembro de 1996, que estabelece as diretrizes e bases da educação nacional. Diário Oficial da União. 20 Dez 2005.
2. Cotta RMM, Costa GD, Mendonça ET. Portfólios crítico-reflexivos: uma proposta pedagógica centrada nas competências cognitivas e metacognitivas. Interface (Botucatu). 2015;9(54):573-88.
3. Lei nº 9394, de 20 de Dezembro de 1996. Estabelece as diretrizes e bases da educação nacional. Diário Oficial da União. 23 Dez 1996.
4. Resolução CNE/CES 1, de 18 de Fevereiro de 2003. Institui diretrizes curriculares nacionais dos cursos de graduação em medicina veterinária. Diário Oficial da União. 20 Fev 2003.
5. Cotta RMM, Costa GD, Mendonça ET. Portfólio reflexivo: uma proposta de ensino e aprendizagem orientada por competências. Cienc Saude Coletiva. 2013;18(6):1847-56.
6. Ferreira JL, Carpin L, Behrens MA. O professor universitário construindo conhecimentos inovadores para uma prática complexa, colaborativa e dialógica. Rev Dialogo Educ. 2013;13(38):69-84.
7. Aretio LG, Cordella MR, Blanco MG. Claves para la educación: actores, agentes y escenarios en la sociedad actual. Madrid: Narcea SA Ediciones; 2009.

8. Lima VV. Competência: distintas abordagens e implicações na formação de profissionais de saúde. *Interface (Botucatu)*. 2005;9(17):369-79.
9. Masetto MT. Competência pedagógica do professor universitário. São Paulo: Summus Editorial; 2003.
10. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Resolução nº 73/2012 - CONSUN, de 28 de Agosto de 2012. Projeto pedagógico institucional da PUCPR. Curitiba: PUCPR; 2012.
11. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Resolução n.º 110/2013 - CONSUN, de 24 de Julho de 2013. Aprova reformulação do regimento geral da PUCPR [Internet]. Curitiba: PUCPR; 2013 [cited 2017 Feb 24]. Available from: <http://www.pucpr.br/arquivosUpload/5370463411338897394.pdf>
12. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Projeto pedagógico da escola de ciências agrárias e medicina veterinária. Curitiba: PUCPR; 2013.
13. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Projeto pedagógico do curso de medicina veterinária. Curitiba: PUCPR; 2013.
14. Gil AC. Métodos e técnicas de pesquisa social. 5a ed. São Paulo: Atlas; 1999.
15. Castro CM. Estrutura e apresentação de publicações científicas. São Paulo: McGraw-Hill; 1976.
16. Fonseca JJS. Metodologia da pesquisa científica. Fortaleza: Universidade Estadual do Ceará; 2002.
17. Ministério da Educação (BR). Referenciais para formação de professores. Brasília: MEC/SEF; 2002.
18. Fleury MTL, Fleury A. Construindo o conceito de competência. *Rev Adm Contemp*. 2001;5(nº esp):183-96.
19. Conselho Federal de Medicina Veterinária. Estratégias de ensino-aprendizagem para desenvolvimento das competências humanísticas [Internet]. Brasília: CFMV; 2012 [cited 2015 Sept 2]. Available from: http://portal.cfmv.gov.br/uploads/files/Estrategias%20de%20Ensino-aprendizagem%20para%20Desenvolvimento%20das%20Competencias%20Humanisticas_site.pdf
20. Delors J. Educação: um tesouro a descobrir. Relatório para a Unesco da Comissão Internacional sobre Educação para o século XXI [Internet]. Brasília: Unesco; 2010 [acesso 2015 Sept 2]. Available from: <http://unesdoc.unesco.org/images/0010/001095/109590por.pdf>
21. Mitre SM, Cotta RMM, Fortini IF, Raimundo IC, Souza NA, Santos RGC, et al. Flexibilidade, acesso e diversidade na formação universitária em saúde: o aprender fazendo no desenvolvimento de competências profissionais. Modelos flexibles de la organización de la formación. *Rev CIDUI*. 2014;1(2):1-15.

22. Cordeiro J. Didática. São Paulo: Contexto; 2007.
23. Organização Mundial de Saúde Animal, editor. Anais da 3a Conferência Mundial sobre Educação Veterinária e o Papel dos Órgãos Veterinários Estatutários; 4-6 Dez 2013; Foz do Iguaçu.
24. Organización Mundial de Saúde Animal. Recomendaciones de la OIE sobre las competencias mínimas que se esperan de los veterinários recién licenciados para garantizar servicios veterinários nacionales de alta calidad. França: OIE; 2012.
25. Ministério da Educação (BR). Resolução CNE/CES 1, de 18 de Fevereiro de 2003. Institui diretrizes curriculares nacionais dos cursos de graduação em medicina veterinária [Internet]. Brasília; 2003 [cited 2015 Sept 2]. Available from: <http://portal.mec.gov.br/cne/arquivos/pdf/ces012003.pdf>

Recebido em: 20/05/2016

Aceito em: 09/08/2017

PREVALÊNCIA DE ALTERAÇÕES HEPÁTICAS EM BOVINOS ABATIDOS EM MATADOURO-FRIGORÍFICO DO MUNICÍPIO DE PRESIDENTE PRUDENTE, ESTADO DE SÃO PAULO

Raimundo Alberto Tostes¹
Jorge Minor Fernandes Inagaki²
Thiago Chiara Taveira²
Hemir Martins Quirilos Assis²

RESUMO

É fundamental conhecer a prevalência das lesões hepáticas, monitorá-las e assim fornecer material para o trabalho da medicina veterinária preventiva, melhorando o processo de produção e reduzindo perdas econômicas. Neste trabalho foram catalogadas as alterações morfológicas observadas em fígados de bovinos abatidos em um matadouro-frigorífico sob Serviço de Inspeção Federal em Presidente Prudente, São Paulo, durante o período de 01 de abril de 2010 a 31 de março de 2011. As lesões foram catalogadas dentro das seguintes categorias: degenerativas, vasculares, inflamatórias, extra-hepáticas, parasitárias e neoplásicas. Para classificação das alterações, foram consideradas fundamentalmente as características de cor, textura e consistência do parênquima hepático. Foram inspecionados 100.723 animais, sendo 72.638 (72,12%) machos e 28.085 (27,88%) fêmeas. Deste total, 5.204 (5,17%) exibiam algum tipo de alteração hepática. O grupo mais significativo de alterações foi de natureza inflamatória, incluindo hepatite, perihepatite e lesões supurativas (34,69%). O segundo grupo foi de alterações vasculares, como a telangiectasia, hemorragias capsulares e congestão passiva (31,80%). A condenação do fígado por causas extra-hepáticas é alta, estando associada principalmente à contaminação secundária. A fasciolose foi observada em 29 peças de fígado (0,56%), sugerindo que essa parasitose está adaptada à região, o que chama a atenção pelo seu potencial zoonótico e por ser uma parasitose emergente.

Palavras-chave: fígado, inspeção, lesões, matadouro, *post mortem*.

PREVALENCE OF HEPATIC ALTERATIONS IN CATTLE SLAUGHTERED IN THE CITY OF PRESIDENTE PRUDENTE, SÃO PAULO STATE

ABSTRACT

It is fundamental the knowledge about predominance of hepatic lesions, to monitor them and supply material to the preventive veterinary medicine actions, thus improving the production process, reducing economic losses. In this work were catalogued morphological alterations in livers of slaughtered bovines from an abattoir under Federal Inspection Service in Presidente Prudente, São Paulo State, during the period of April 01 2010 to March 31 2011. The lesions were catalogued according categories: degenerative, vascular, inflammatory, extra hepatic, parasitary and neoplastic. To classify the alterations, was considered fundamentally characteristics like color, texture and hepatic parenchyma consistency. Were inspected 100,723 animals, which 72,638 (72,12%) males and 28,085 (27,88%) females. 5,204 (5,17%) from total showed some kind of hepatic alteration. Most significant alterations group was inflammatory, including hepatitis, perihepatitis and suppurative lesions (34,69%). Second most representative group was vascular alterations like telangiectasis, capsular hemorrhages and

¹ Professor Adjunto, Universidade Federal do Paraná.

² Universidade Federal do Paraná. Contato principal para correspondência.

passive congestion (31,80%). Liver condemnation by extra-hepatic causes is high, mainly associated to organ secondary contamination. The fasciolosis was observed in 29 parts of liver (0.56%), suggesting that this parasitosis is adapted to the region, drawing attention to its zoonotic potential and to being an emerging parasitosis.

Keywords: inspection, lesions, liver, *post mortem*, slaughterhouse.

PREVALENCIA DE LAS ALTERACIONES HEPÁTICAS EN LOS GANADOS SACRIFICADOS EN MATADERO DE LA CIUDAD DE PRESIDENTE PRUDENTE, ESTADO DE SÃO PAULO

RESUMEN

Es fundamental conocer la prevalencia de las lesiones hepáticas, monitorearlas y con este proporcionar material para el trabajo de la medicina veterinaria preventiva, mejorando el proceso de la producción y reduciendo pérdidas económicas. En este trabajo fueron catalogadas las alteraciones morfológicas observado en hígado de los ganados sacrificados en uno matadero con servicio de inspección federal en Presidente Prudente, São Paulo, durante lo período de 01 de abril de 2010 a 31 de marzo de 2011. Las lesiones fueron catalogadas entre las siguientes categorías: degenerativas, vasculares, inflamatorias, extra-hepáticas, parasitarias y neoplásicas. Para la clasificación de las alteraciones, fueron consideradas fundamentalmente las características del color, textura y consistencia del parénquima hepático. Fueron inspeccionados 100.723 animales, siendo 72.638 (72,12%) machos y 28.085 (27,88%) hembras. De este total 5.204 (5,17%) he exhibido alguna alteración hepática. El grupo más significativo de alteración fue de la naturaleza inflamatoria, incluyendo hepatitis, perihepatitis y lesiones supurativas (34,69%). El según grupo fue de las alteraciones vasculares como la telangiectasia, hemorragias capsulares y congestión pasiva (31,80%). La condenación del hígado debido causas extra-hepáticas es alta, estando asociada principalmente a la contaminación secundaria. La fasciolosis se observó en 29 trozos de hígado (0.56%), lo que sugiere que este parásito está adaptado en la región, que llama la atención por su potencial zoonótico y por ser una enfermedad parasitaria emergente.

Palabras clave: hígado, inspección, lesiones, matadero, *post mortem*.

INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos principais produtores e exportadores de carne bovina no mundo. Segundo dados do IBGE, em 2011 o rebanho brasileiro teve um efetivo de 212,798 milhões de cabeças, sendo que somente no último trimestre foram abatidos cerca de 7,36 milhões de cabeças de bovinos em todo país, dentre as quais o Estado de São Paulo foi responsável por 809.898 delas (1,2). Destaca-se que só a microrregião de Presidente Prudente, em 2011, possuía um efetivo de aproximadamente 1.547.941 cabeças, 14% do total do rebanho paulista (2).

O acesso às informações relativas à prevalência de várias doenças e lesões observadas no abate, incluindo as alterações hepáticas de naturezas diversas, é restrito. Estes dados normalmente só estão disponíveis internamente aos serviços de inspeção sanitária.

Vários estudos têm situado a frequência de alterações hepáticas em bovinos ao abate (3-6). Estas alterações constituem um grupo importante para saúde humana e também para os matadouros-frigoríficos sob o ponto de vista comercial. Não há uma estimativa precisa das perdas econômicas decorrentes de condenação de vísceras no Brasil, mas acredita-se que, em algumas regiões, podem ocorrer prejuízos significativos para a pecuária.

O fígado bovino está localizado quase na sua totalidade à direita do plano medial, seu peso médio é de 4,5 a 5,5 kg em um bovino adulto (7,8) correspondendo, segundo Dyce et al. (9), de 1% a 1,5% do peso corpóreo. Segundo Gürtler (10), no bovino, a relação existente entre a massa corpórea e a massa hepática é de 1:55.

As principais alterações que motivam a condenação do fígado de bovinos em matadouros são as de natureza inflamatória (11), sendo o abscesso hepático, que ocorre com mais frequência em bovinos de engorda e observado em animais aparentemente saudáveis, a mais importante. A ocorrência varia de 1% a 95% em alguns lotes (5,12). Contudo, várias outras alterações aparecem como causa de condenação desse órgão.

Outra alteração de natureza inflamatória de impacto econômico e sanitário é a tuberculose. Duas formas fundamentais de tuberculose são encontradas no fígado: a forma miliar, caracterizada por nódulos pequenos, bem delimitados, de cor branco-amarelada e com centros turvos, quando há calcificação, disseminados no parênquima adjacente do órgão; e a forma nodular, com lesões maiores solitárias ou múltiplas, com volume variando entre uma noz e um punho de um indivíduo adulto. Em seu interior encontra-se a típica caseificação e em alguns casos há na lesão presença de matéria calcária apresentando como característica o ranger da faca ao corte (11).

Alterações degenerativas são igualmente importantes em fígados bovinos, destacando-se como a principal, neste caso, a esteatose hepática (13). Trata-se de um acúmulo de lipídeos no parênquima do órgão e está associado a causas tóxicas e anóxicas.

Dentre as alterações vasculares, a telangiectasia ocupa o lugar mais importante como causa de condenação do fígado à inspeção. É caracterizada por pequenas e múltiplas manchas de coloração avermelhada ou púrpura, vistas tanto na superfície capsular como no parênquima do órgão, ao corte. Histologicamente, trata-se de uma dilatação acentuada de sinusóides em áreas que os hepatócitos foram perdidos (14-16).

Entre as alterações hepáticas de origem parasitária mais significativa, a principal é a fasciolose, que é provocada pelo trematódeo *Fasciola hepatica*, seguida pela hidatidose, que no bovino pode aparecer de forma multifocal e tem como agente o cestóide *Echinococcus granulosus*, embora com pouco significado clínico e patológico (17).

É incomum a ocorrência de neoplasias primárias no fígado bovino, mas, dentre os achados anatomopatológicos possíveis de serem detectados na linha de abate, estão o carcinoma hepatocelular, o colangiocarcinoma e os tumores vasculares - hemangioma e hemangiossarcoma (11). O envolvimento secundário do fígado por neoplasias pode ser visto principalmente na leucose e em outras neoplasias metastáticas da cavidade abdominal (11).

A caracterização das alterações hepáticas em bovinos e o estabelecimento de um diagnóstico preciso no frigorífico é uma tarefa complexa, uma vez que muitas delas ocorrem simultaneamente em mais de um sistema orgânico.

Segundo o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) (18), a inspeção da carcaça e dos órgãos é realizada de forma a verificar não somente a lesão no órgão em questão, mas também o comprometimento do restante da carcaça e demais órgãos. Lesões de cisticercose devem ser avaliadas conforme a característica, quantidade e a afecção do restante da carcaça, podendo levar a condenação parcial ou total da carcaça e do órgão. Fígados com fasciolose, tuberculose, cirrose, hepatites, tumores, aderências, coloração anormal, congestão e hemorragias são sempre condenados em sua totalidade (18).

O conhecimento da prevalência das alterações hepáticas é fundamental para que haja um melhor preparo dos médicos veterinários e seus auxiliares no monitoramento e identificação das lesões no abate, promovendo a redução das perdas econômicas e a melhora do processo produtivo. Adicionalmente, conhecer esses dados pode facilitar a implementação de programas preventivos no campo. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a prevalência das principais alterações hepáticas responsáveis pela condenação do órgão realizadas por fiscais do Serviço de Inspeção Federal (S.I.F) e também as perdas econômicas decorrentes.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram catalogadas as alterações morfológicas presentes em fígados de bovinos abatidos em um matadouro-frigorífico localizado na região de Presidente Prudente, Estado de São Paulo. A observação das alterações morfológicas foi feita mediante o acompanhamento das atividades do S.I.F. durante o período de 01 de abril de 2010 a 31 de março de 2011.

No total foram inspecionados 100.723 animais, dos quais 72.638 (72,12%) eram machos e 28.085 (27,88%) eram fêmeas.

As lesões foram catalogadas a partir das triagens efetuadas pelo S.I.F. O fígado era examinado na linha de inspeção específica (linha E) de acordo com o procedimento padrão preconizado pelo S.I.F. A partir da identificação de qualquer anormalidade, o órgão era separado para o Departamento de Inspeção Final (D.I.F.) para avaliação da natureza e extensão da alteração presente.

As lesões foram catalogadas dentro das seguintes categorias: degenerativas, vasculares, inflamatórias, extra-hepáticas, parasitárias e neoplásicas.

Na análise das alterações foram consideradas fundamentalmente as características de cor, textura e consistência do parênquima hepático.

Na presença de alterações parasitárias, amostras dos espécimes encontrados foram colhidas em solução de álcool a 70% e encaminhados para identificação parasitológica no laboratório de Parasitologia Veterinária da Universidade do Oeste Paulista.

A fim de estabelecer um cálculo para o prejuízo causado pela condenação do fígado, foi usado como base o valor de R\$ 7,30 por quilograma de fígado, preço médio praticado no varejo da cidade de São Paulo no período de abril de 2010 a março de 2011 (19). Para fins de cálculo, o peso médio do fígado de um bovino adulto foi estimado em 5,0 kg, conforme adotado por Getty (7). Desta forma, estimou-se uma perda de R\$ 36,50 por órgão hepático condenado, equivalente a U\$S 21,09 por órgão ou U\$S 4,22 por quilograma de fígado no período em que as amostras foram coletadas³.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas últimas décadas, tem sido crescente a preocupação em aperfeiçoar a produção animal, incrementando a seleção genética, pesquisando a nutrição animal, avaliando pontos críticos dentro da cadeia produtiva e a sanidade animal. Essa valorização também se traduz na pesquisa e na investigação de realidades regionais muitas vezes desconhecidas para os médicos veterinários. Um exemplo disto é o desconhecimento sobre a prevalência de lesões em vísceras de bovinos abatidos para consumo no Brasil.

Neste estudo, do total de animais inspecionados, 5.204 animais (5,17%) exibiam algum tipo de alteração hepática.

Na tabela 1 são apresentadas as categorias de alterações encontradas e o seu percentual em relação ao total examinado. As alterações encontradas variaram significativamente em intensidade, frequência de aparecimento e apresentação morfológica. Não foi possível caracterizar de forma individualizada lesões como hemorragias capsulares e parenquimais, lacerações, congestão aguda e congestão passiva crônica. Todas estas alterações foram genericamente agrupadas como alterações vasculares.

³ Considerado o valor médio do dólar americano (R\$ 1,00 = U\$S 1,73) no período de abril/2010-março/2011 segundo a variação cambial (<http://portalibre.fgv.br/>).

Tabela 1. Percentual de fígados acometidos, num total de 100.723 bovinos abatidos, por categoria de alterações.

Categoria de Alteração	Número de Fígados Afetados	% em relação ao total examinado
Alterações Inflamatórias	1.805	34,69
Alterações Vasculares	1.655	31,80
Alterações Extra-Hepáticas	1.569	30,15
Alterações Parasitárias	147	2,82
Alterações Neoplásicas	21	0,40
Alterações Degenerativas	7	0,14
Total	5.204	100,0

No presente estudo o grupo mais significativo de alterações foi das lesões de natureza inflamatória, incluindo hepatite e lesões supurativas. O segundo grupo foi o de alterações vasculares, sendo que neste grupo foram incluídas lesões como a telangiectasia, hemorragias capsulares e congestão passiva.

O predomínio das alterações hepáticas de natureza inflamatória neste estudo é concordante com Moreira (20) e Mello et al. (21). Contudo, são diferentes daqueles observados por Lauzer et al. (3). Moreira (20) acrescenta que o prejuízo devido à condenação do fígado de bovinos para graxaria é cerca de quatro vezes superior ao da condenação das carcaças correspondentes.

Com relação às lesões hepáticas supurativas é interessante observar que o espectro etiológico é bastante variável. Segundo Nagaraja e Chengappa (12), os abscessos hepáticos em gado de corte parecem estar frequentemente associados à dieta e ao manejo alimentar. Além da condenação parcial ou total do fígado na inspeção, os prejuízos causados por essas lesões incluem a diminuição do apetite dos animais acometidos, piora na conversão alimentar e um rendimento de carcaça menor.

A gênese dos abscessos parece ser uma ruminite, que na maioria dos casos é provocada pelo *Fusobacterium necrophorum*. Essa bactéria possui ou produz fatores de virulência que participam na introdução e colonização do epitélio ruminal, com a subsequente invasão e colonização do fígado. Narayanan et al. (22) isolaram amostras de *F. necrophorum* de bovinos que exibiam abscessos hepáticos e ruminite necrótica e comprovaram que as amostras eram geneticamente idênticas em ambas as lesões. A mesma comprovação foi feita com relação à *Arcanobacterium (Actinomyces) pyogenes* por Narayanan et al. (23).

Outra alteração inflamatória significativa é a tuberculose (TB). No presente estudo, 1,25% das lesões observadas foram atribuídas à TB. Lauzer et al. (3), no Brasil, verificaram uma prevalência de 0,1% de TB com envolvimento hepático, enquanto Milian-Suazo et al. (24) verificaram uma prevalência de 16% de TB com envolvimento hepático no México. Contudo, Corner et al. (25) alertam para o fato de que a inspeção em matadouros falha em um número significativo de casos de animais positivos para TB. A explicação para este fato provavelmente decorre da presença de lesões tuberculosas solitárias ou isoladas e cujo diagnóstico de TB é negligenciado ou subestimado. Corner et al. (25) comprovaram haver a falha no reconhecimento de até 47% dos animais positivos para tuberculose.

Isoladamente, as lesões extra-hepáticas foram responsáveis pela maior parte das condenações do fígado (Tabela 1). Entre estas alterações estão incluídos, principalmente, os processos de natureza inflamatória e que contaminam o fígado, quer isso ocorra de forma embólica *ante-mortem* ou *post-mortem* na evisceração.

A telangiectasia foi a segunda alteração hepática mais prevalente (Tabela 2). Destaca-se por apresentar prevalência significativamente maior do que o observado em estudos correlatos que situam esta lesão entre 1,3% e 10% (15,16,26). De acordo com o RIISPOA, quando as

lesões comprometerem mais da metade do órgão, este deve ser condenado totalmente e quando em menor quantidade, deve ser submetido a aproveitamento condicional (18).

As alterações de origem parasitária corresponderam a 2,82% dos fígados afetados (Tabela 1). Dentre as alterações parasitárias presentes houve a identificação de quatro casos de larvas de *Cysticercus bovis*, 121 casos de larvas de *Echinococcus granulosus* e 29 casos de *Fasciola hepatica* (Tabela 2).

Embora as lesões parasitárias tenham aparecido em pequeno número, foi importante notar, principalmente, o aparecimento de casos de fasciolose. Tostes et al. (27) diagnosticaram a ocorrência do primeiro caso autóctone de *Fasciola hepatica* na região de Presidente Prudente, com indícios consistentes da presença e manutenção do ciclo do parasita na propriedade estudada. A ocorrência destas lesões, por se tratar de uma espécie zoonótica, leva a condenações do órgão afetado e até a rejeição total da carcaça no caso de infecções associadas a outros quadros, como a icterícia.

A tabela 2 apresenta, de forma sumária, o percentual de fígados afetados, de acordo com o diagnóstico macroscópico realizado no frigorífico.

Tabela 2 - Percentual de fígados acometidos de acordo com o diagnóstico macroscópico.

Alteração	Número de Fígados Afetados	% em relação ao total examinado
Extra-hepática	1.569	30,15
Telangiectasia	1.112	21,37
Abscesso	770	14,80
Congestão	543	10,43
Perihepatite	535	10,28
Contaminação	423	8,13
Hidatidose	114	2,19
Tuberculose	65	1,25
Fasciolose	29	0,56
Neoplasia	21	0,40
Cirrose	11	0,21
Degeneração	7	0,13
Cisticercose	4	0,08
Hepatite	1	0,02
Total	5.204	100,0

Também é importante reforçar que as perdas econômicas decorrentes da condenação do fígado atingem cifras altas, acarretando em prejuízos para produtores e frigoríficos e levando à oferta menor do produto ao mercado.

No intervalo de um ano, a perda com a condenação do fígado no frigorífico atingiu aproximadamente 26.020 kg. A estimativa de perda econômica com a condenação do fígado foi de R\$ 15.828,83 ou U\$S 9.149,62 ao mês, ainda R\$ 189.946,00 ou U\$S 109.795,37 ao ano no preço de varejo. Apesar de este número ser modesto em âmbito local, é preciso considerar que muitas lesões hepáticas são uma repercussão de lesões sistêmicas e que aumentam este valor.

Para os frigoríficos, a perda por contaminação foi de R\$ 15.439,50 e merece destaque, por se tratar de uma falha de ordem tecnológica, que poderia ser prevenida com aplicações de medidas corretivas no estabelecimento, ao contrário das demais, que são na maioria multifatoriais, cujas intervenções caberiam ao manejo no campo e aos cuidados com a sanidade do rebanho.

Contudo, a realização dos trabalhos de inspeção *post-mortem* tem como principal motivação eliminar do consumo alimentos potencialmente danosos à saúde pública, o que acarretaria custos ainda maiores com os tratamentos dos enfermos. Deste modo, a inspeção não

deve ser julgada como um fator gerador de prejuízos, mas como uma ferramenta de prevenção a danos ainda maiores. Cabe à indústria, em conjunto com criadores e médicos veterinários, estudar a viabilidade e o custo da implementação de programas de prevenção no campo, visando a redução de condenações no frigorífico.

De um modo geral, foi verificada a concordância dos achados com as alterações referidas na literatura, reforçando a necessidade de identificar pontos críticos na cadeia de produção de gado de corte a fim de minimizar a condenação do fígado, de outras vísceras e também da carcaça no momento do abate.

CONCLUSÃO

Das causas que levam à rejeição do fígado predominam as lesões de natureza inflamatória, principalmente na forma de abscessos. E a condenação do fígado por causas extra-hepáticas é alta, estando associada principalmente à contaminação secundária do órgão. Perdas do fígado no município de Presidente Prudente atingem valores relevantes. A fasciolose, embora aparecendo em pequeno número, chamou a atenção por tratar-se de parasitose emergente e provavelmente adaptada às condições geoclimáticas da região.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Brasileiro Geografia e Estatística. Produção pecuária municipal 2011. Rio de Janeiro: IBGE; 2011.
2. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Banco de dados agregados [Internet]. Rio de Janeiro: IBGE; 2013 [cited 2013 Apr 4]. Available from: www.sidra.ibge.gov.br
3. Lauzer JJ, Silva SF, Costa DF, Santos AF. Condenações de fígados de bovinos em Santa Maria, RS. *Rev Cent Cienc Rurais*. 1979;9:251-6.
4. Moreira EC, Baptista F. Causas de condenação de fígados bovinos em frigoríficos de Minas Gerais e perdas econômicas associadas. *Hig Aliment*. 1999;62(13):22-7.
5. Mendes RE, Pilati C. Estudo morfológico de fígado de bovinos abatidos em frigoríficos industriais sob inspeção estadual no Oeste e no Planalto de Santa Catarina, Brasil. *Cienc Rural*. 2007;37(6):1728-34.
6. Vieira NP, Faria PB, Mattos MR, Pereira AA. Condenação de fígados bovinos na região sul do estado do Espírito Santo. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2011;63(6):1605-8.
7. Getty R. Sistema digestivo. In: Getty R. *Anatomia dos animais domésticos*. 5a ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 1986. v.2, p.1188-202.
8. König HE, Liebich HG. *Anatomia dos animais domésticos. Órgãos e sistemas*. Porto Alegre: Artmed; 2004. v.2.
9. Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. Aparelho digestório. In: Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. *Tratado de anatomia veterinária*. 3a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2004. p.99-145.
10. Gürtler H. Fisiologia do fígado. In: Gürtler H. *Fisiologia veterinária*. 4a ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 1987. p.341-7.

11. Prata LF, Fukuda RT. Fundamentos de higiene e inspeção de carnes. 1a ed. Jaboticabal: Funep; 2001.
12. Nagaraja TG, Chengappa MM. Liver abscesses in feedlot cattle: a review. *J Anim Sci.* 1998;76(1):287-98.
13. Raoofi A, Bazargani TT, Tabatabayi AH. An abattoir survey on the frequency of fatty liver syndrome in dairy cows from the suburbs of Tehran. *Trop Anim Health Prod.* 2001;33(1):15-9.
14. MacLachlan NJ, Cullen JM. Fígado, sistema biliar e pâncreas exócrino. In: Carlton WW, McGavin MD. *Patologia veterinária especial de Thomson.* 2a ed. Porto Alegre: Artmed; 1998. p.95-131.
15. Stotland EI, Edwards JF, Roussel AJ, Simpson RB. Bacterial microflora of normal and telangiectatic livers in cattle. *J Am Vet Med Assoc.* 2001;219(1):36-9.
16. Atasever A, Vural SA, Berkin S. Incidence and pathologic studies on liver telangiectasis in beef cattle. *Turk J Vet Anim Sci.* 2002;26:235-8.
17. Urquhart GM. *Parasitologia Veterinária.* 2a ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 1998.
18. Decreto nº 30.691, de 29 Março de 1952. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. *Diário Oficial da União.* 7 Jul 1952. p.10.785.
19. Instituto de Economia Agrícola do Estado de São Paulo. Levantamento dos preços médios no varejo da cidade de São Paulo [Internet]. São Paulo: IEA; 2012 [cited 2012 Aug 22]. Available from: http://ciagri.iea.sp.gov.br/nia1/precos_medios.aspx?cod_sis=4.
20. Moreira EC. Importância do controle da sanidade sobre produtos de origem animal [Internet]. São Paulo; 2001 [cited 2013 Mar 27]. Available from: http://www.simcorte.com/index/Palestras/s_simcorte/10_elvio.PDF
21. Mello FAM, Fernandez AT, Machado TCC, Frederico FR, Oliveira AJ. Ocorrência de condenações de órgãos comestíveis de bovinos, em matadouros sob regimes de inspeção estadual e federal no Estado do Rio de Janeiro, RJ. *Hig Aliment.* 2005;19(137):56-62.
22. Narayanan S, Nagaraja TG, Okwumabua O, Staats J, Chengappa MM, Oberst RD. Ribotyping to compare *Fusobacterium necrophorum* isolates from bovine liver abscesses, ruminal walls, and ruminal contents. *Appl Environ Microbiol.* 1997;63(12):4671-8.
23. Narayanan S, Nagaraja TG, Wallace N, Staats J, Chengappa MM, Oberst RD. Biochemical and ribotypic comparison of *Actinomyces pyogenes* and *A pyogenes*-like organisms from liver abscesses, ruminal wall, and ruminal contents of cattle. *Am J Vet Res.* 1998;59(3):271-6.
24. Milian-Suazo F, Salman MD, Ramirez C, Payeur JB, Rhyon JC, Santillan M. Identification of tuberculosis in cattle slaughtered in Mexico. *Am J Vet Res.* 2000;61(1):86-9.

25. Corner L, Melville L, McCubbin K, Small KJ, McCormick BS, Wood PR, et al. Efficiency of inspection procedures for the detection of tuberculous lesions in cattle. *Aust Vet J.* 1990;67(6):389-92.
26. Julian LM. Studies on the subgross anatomy of the bovine liver II. The pathology of telangiectasis as demonstrated by the vinylite-corrosion technique. *Am J Vet Res.* 1950;11(39):166-72.
27. Tostes RA, Santarém VA, Alberti H, Sanches OC. Casos autóctones de Fasciola hepática na região de Presidente Prudente, São Paulo, Brasil. *Cienc Rural.* 2004;34:961-2.

Recebido em: 03/08/2016

Aceito em: 11/08/2017

MONITORAMENTO DO VÍRUS DA RAIVA EM DIFERENTES ESPÉCIES DE MORCEGOS EM MARINGÁ, SUL DO BRASIL

Alexandre Luiz Polizel¹
Helena Beatriz de Carvalho Ruthner Batista²
Henrique Ortêncio Filho³

RESUMO

A raiva é uma enfermidade infectocontagiosa de caráter zoonótico, causada pelo vírus da raiva (RABV). Os quirópteros juntamente com os canídeos são os principais reservatórios do RABV, sendo responsáveis respectivamente pela manutenção dos ciclos aéreo e terrestre da doença. O presente trabalho teve por objetivo identificar interações entre o vírus e o reservatório no ciclo aéreo da raiva. Para isto, a presença do RABV foi investigada em amostras de saliva de morcegos de diferentes espécies. Foram realizadas trinta e seis capturas de morcegos, na Região de Maringá, Paraná, sul do Brasil, no período de abril a dezembro de 2013. Os morcegos foram capturados com auxílio de redes de *nylon* e acondicionados em sacos de algodão. Foram registrados os dados biométricos e coletada uma amostra de *swab* oral de cada exemplar. Para a identificação do RABV, foi realizada a técnica de Semi-Nested RT-PCR ("Reverse transcription polymerase chain reaction") tendo como alvo o gene N que codifica a nucleoproteína do vírus. A análise de dados foi realizada por estatística descritiva. Ao longo do estudo, foram capturados 444 morcegos, pertencentes a quatro famílias e quinze espécies. O RABV não foi identificado em nenhuma das amostras analisadas. Estes resultados demonstram a ausência de excreção do RABV pela saliva de morcegos saudáveis na região alvo do estudo e salientam para a necessidade de mais estudos sobre a manutenção da raiva nas diferentes espécies de morcegos.

Palavras-chave: chiroptera, vírus da raiva, saliva.

RABIES VIRUS MONITORING IN DIFFERENT SPECIES OF BATS IN MARINGÁ, SOUTHERN BRAZIL

ABSTRACT

Rabies is an zoonotic infectious disease, caused by rabies virus (RABV). The bats with canids are the main RABV reservoirs, accounting respectively for maintaining the air cycles and terrestrial of the disease. This study aimed to identify interactions between the virus and the reservoir in air rabies cycle. For this, the presence of RABV was investigated in bat saliva samples from different species. Thirty-six capture bats were held in Maringá Region Parana, southern Brazil, from April to December 2013. The bats were captured with the help of nylon nets and placed in cotton bags. Were registered biometric data and collected a sample of oral swab of each specimen. For the identification of RABV, the semi-nested RT-PCR technique ("Reverse transcription polymerase chain reaction") targeting the N gene encodes the nucleoprotein of the virus was performed. Data analysis was performed using descriptive statistics. Throughout the study, were captured 444 bats belonging to four families and fifteen species. The RABV was not identified in the evaluated samples. These results demonstrate the

¹ Graduando em Ciências Biológicas. Departamento de Biologia. Universidade Estadual de Maringá. Contato para correspondência.

² Professora e Pesquisadora do Instituto Pasteur de São Paulo.

³ Professor Doutor do Departamento de Ciências da Universidade Estadual de Maringá.

absence of excretion of RABV in the saliva of healthy bats in the studied area and reinforce the need for more studies about the maintenance of rabies in different species of bats.

Keywords: chiroptera, rabies vírus, saliva.

VIGILANCIA DE VIRUS DE LA RABIA EN ESPECIES DIFERENTES DE MURCIÉLAGOS EN MARINGÁ, SUR DE BRASIL

RESUMEN

La rabia es una enfermedad infecciosa de zoonótica causada por el virus de la rabia (RABV). Los murciélagos con los cánidos son los principales reservorios RABV, que representan, respectivamente, para el mantenimiento de los ciclos de aire y terrestre de la enfermedad. Este estudio tuvo como objetivo identificar las interacciones entre el virus y el reservatório en el ciclo aéreo de la rabia. Para ello, la presencia de RABV se investigó en muestras de saliva de murciélagos de diferentes especies. treinta y seis colecciones de murciélagos de hisopos orales se llevaron a cabo en Maringá Región Paraná, sur de Brasil, de abril a diciembre de 2013. Los murciélagos fueron capturadas con la ayuda de redes de nylon y se colocaron en bolsas de algodón eran registrado los datos biométricos y se recogió una muestra de hisopo bucal de cada individuo. Para la identificación de RABV, la técnica de semi-anidada RT-PCR ("reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa") en el gen N se realizó codifica la nucleoproteína del virus. El análisis de datos se realizó mediante estadística descriptiva. Durante todo el estudio, 444 murciélagos fueron capturados pertenecientes a cuatro familias y quince especies. El RABV no fue identificado en ninguna de las muestras. Estos resultados demuestran la ausencia de RABV en excreción de la saliva de los murciélagos sanos en el estudio de la región de destino y subrayan la necesidad de más estudios sobre la ira de mantenimiento en diferentes especies de murciélagos.

Palabras clave: chiroptera, virus de la rabia, saliva.

INTRODUÇÃO

A raiva é uma doença fatal de distribuição mundial que acomete todos os mamíferos, inclusive humanos. A principal forma de transmissão da doença é por meio de mordedura de animais infectados, apesar de já terem sido descritos casos de transmissão aérea e por transplantes de órgãos. O vírus da raiva (RABV) apresenta genoma RNA de fita simples e pertence à família *Rhabdoviridae*, gênero *Lyssavirus* (1).

Segundo Almeida et al. (2), em saúde pública, os morcegos são incriminados como transmissores de patógenos, visto que em todos os lugares do mundo há relatos de raiva transmitida por morcegos.

O primeiro caso de raiva identificado no Brasil em morcegos, foi registrado em 1921, por Haupt & Rehaag, em um morcego frugívoro da espécie *Artibeus planirostris*, entretanto, poderia ser um morcego vampiro erroneamente identificado (3). Até o momento 41 espécies de morcegos não hematófagos já foram identificadas com o vírus da raiva no Brasil (4).

Apesar do morcego hematófago *Desmodus rotundus* ser o principal reservatório silvestre da raiva na América Latina, diversas espécies de morcegos não hematófagos já foram identificados com o RABV. O interesse pela busca do RABV nestes morcegos é crescente devido a adaptação destes ao ambiente urbano e ao seu comportamento sinantrópico podendo aumentar o risco de transmissão de doenças aos seres humanos (5,6). Segundo Silva (7), a grande quantidade de insetos na zona urbana, resultado da iluminação artificial, aumenta a população de morcegos insetívoros nas cidades. A falta de abrigos naturais, decorrente do

desmatamento, somada aos abrigos seguros nos ambientes urbanos, e a enorme concentração de insetos, criou para os quirópteros um ambiente propício para seu alojamento, especialmente, das espécies insetívoras, além disso, a ausência de predadores naturais também facilita a adaptação de morcegos no ambiente urbano (2,8).

De acordo com Reis et al. (8) apesar da presença do RABV nos morcegos, assim como outros patógenos, os malefícios que os mesmos trazem são menores que os benefícios, pois eles têm importante papel no controle biológico de insetos (alguns destes também transmissores de patógenos), na polinização (realizada pelos morcegos nectarívoros) e, também, na dispersão de sementes ocasionada pelos morcegos frugívoros, aspectos relevantes em termos ambientais (9).

Apesar de ainda ocasionar a morte de aproximadamente 60.000 pessoas por ano, segundo a Organização Mundial da Saúde, o número de casos de raiva humana, no Brasil, esta em decréscimo, porém, vem sendo constatado aumento no registro de casos de quirópteros e outros animais silvestres infectados pelo RABV (5). Segundo o mesmo autor, ainda não há dados suficientes para concluir se este fato deve-se a um aumento na vigilância epidemiológica ou um aumento da prevalência da raiva nestas espécies.

Martorelli et al. (6), descreveram o comportamento de um morcego infectado pelo RABV, o qual mostrou-se anormal/diferenciado quando comparado com um saudável, por isto, geralmente, esses animais são encontrados caídos, dentro de imóveis, machucados, moribundos.

O conhecimento sobre o RABV tem avançado embora ainda são necessários mais estudos sobre a manutenção do vírus na natureza, principalmente em morcegos. Este trabalho teve por objetivo identificar o RABV na saliva de morcegos sadios de diferentes espécies.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram coletadas em fragmentos florestais localizados na área urbana do município de Maringá, Estado do Paraná, Região Sul do Brasil, no período de agosto de 2013 a janeiro de 2014, sob licença permanente para coleta de material biológico do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio (número: 17869-1, data da emissão: 05/02/2009) e certificação do Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação (CEAE) da Universidade Estadual de Maringá.

Foram realizadas expedições mensais em diferentes locais de coleta, sendo que cada local foi visitado semanalmente em um dia randômico do mês. A partir desta seleção os locais de coleta foram:

Parque do Ingá: Unidade de Conservação urbana, localizada na região central do município de Maringá/PR, nas coordenadas geográficas 23°25'28"S e 51°55'59"O, com altitude de 557 metros e área de 474.300 m².

Parque das Palmeiras: Área localizada entre a avenida São Judas Tadeu e a rua Flamboyant, nas coordenadas geográficas de 23°23'08"S e 51°56'21"O, com altitude de 499 metros e área de 61.434,48 m².

Parque Florestal dos Pioneiros (Bosque II): Área localizada na região central de Maringá, nas coordenadas geográficas de 23°25'47"S e 51° 56'30"O, com altitude de 524 metros e área de 594.400 m².

Horto Florestal: O Horto Florestal Dr. Luiz Teixeira Mendes, localiza-se entre as coordenadas geográficas de 23°26'5"S e 51°57'51"O, altitude de 589 metros e área de 368.300 m².

Foram visitados, ainda 14 imóveis localizados na área urbana e um imóvel em área periurbana do município, de acordo com solicitação e agendamento dos proprietários dos mesmos.

Para a captura dos espécimes, foram utilizadas oito redes de nylon (*mist-nest*), conforme Greenhall e Paradiso (10) dispostas 30 metros de distância uma das outras. Nas residências, os

morcegos foram coletados diretamente, por captura manual, conforme acesso ao forro. Quando o forro era inacessível, redes e puçás foram colocados nos locais de saída dos morcegos.

Os animais capturados foram contidos manualmente, e foram coletados os seguintes dados biométricos: medida de antebraço; gênero; peso e identificação taxonômica, conforme critérios de Vizotto e Taddei (11), Jones e Carter (12) e Gregorin e Taddei (13). As coletas foram realizadas por profissionais treinados, vacinados contra raiva no esquema de pré-exposição e utilizavam equipamentos de proteção individual.

A coleta de saliva foi realizada por meio de swab orofaríngeo individual. As amostras foram acondicionadas em microtubos individuais contendo Meio Essencial Mínimo (MEM) com antibiótico e antifúngico, mantidas sob refrigeração até o momento de processamento. A identificação do RNA viral do RABV foi realizada pela técnica de Semi-Nested RT-PCR ("Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction"), tendo como alvo o gene N que codifica a nucleoproteína do vírus, conforme descrito por Carnieli et al. (14).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas 36 coletas durante o período do estudo, sendo 21 destas em fragmentos florestais e 15 em residências. A área abrangida em fragmentos florestais totalizou 28.800 h.m² (Fig 1).

Neste período, foram capturados 444 morcegos, pertencentes a quatro famílias e quinze espécies, conforme descrito a seguir: Família Phyllostomidae (*Artibeus lituratus* n=197, *Artibeus frimbriatus* n=25, *Artibeus obscurus* n=18, *Artibeus planirostris* n=28, *Carollia perspicillata* n=6, *Phyllostomus hastatus* n=5, *Platyrrhinus lineatus* n=5, *Sturnira lillium* n=59, *Vampyressa pusilla* n=2), Família Vespertilionidae (*Myotis nigricans* n=2, *Myotis ruber* n=1), Família Molossidae (*Molossus rufus* n=61, *Molossus molossus* n=30, *Molossops neglectus* n=1) e Família Noctilionidae (*Noctilio leporinus* n=4). Não houve captura de exemplares de táxons ainda não catalogados para a região.

Das 444 amostras de saliva obtidas e submetidas à Semi-Nested RT-PCR, o RABV não foi identificado em nenhuma delas. Os resultados obtidos neste estudo corroboram os dados da literatura, que descrevem baixa ocorrência de RABV, aproximadamente 1%, em colônias de morcegos sadios. De acordo com Scheffer et al. (15) o percentual de morcegos infectados pela raiva, naturalmente, é de 1,9%, já o trabalho de Almeida et al. (2) identificou, 0,69% de morcegos positivos para o vírus rábico, no Centro de Controle de Zoonoses da Prefeitura do Município de São Paulo, área metropolitana da região Sudeste do Brasil.

Deve ser considerado ainda o fato de que estes percentuais são baseados na detecção de vírus no Sistema Nervoso Central (SNC) de morcegos enviados ao diagnóstico de raiva dos respectivos laboratórios, portanto são animais com suspeita clínica de raiva, que foram encontrados mortos ou ainda que fazem parte de algum programa de monitoramento de morcegos para o controle da raiva animal. Além disso, o SNC é a amostra padrão para diagnóstico de raiva em qualquer espécie (16), diferentemente da saliva. De acordo com a patogenia do RABV após a chegada do vírus ao SNC este é disseminado para o restante do organismo sendo a glândula salivar um dos primeiros órgãos atingidos (5). Apesar disso sabe-se que a disseminação do RABV na saliva ocorre de forma intermitente e, portanto, não é sempre detectável mesmo em animais doentes (17).

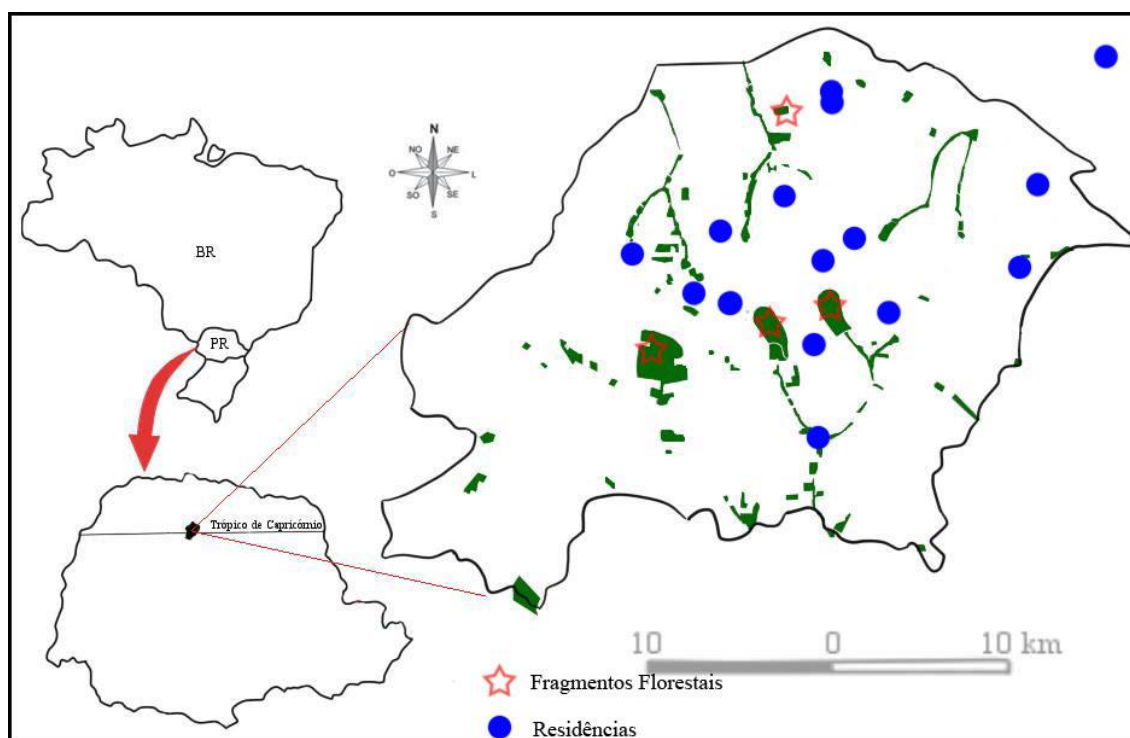


Figura 1. Pontos amostrais de morcegos capturados na região de Maringá, Paraná.

Fonte: Arquivo Pessoal

Neste estudo foi utilizada a técnica de Semi-Nested RT-PCR, com alta sensibilidade e especificidade para identificação do RABV. Foram incluídos controles positivos e negativos em cada lote de amostras processadas eliminando possíveis resultados falsos positivos ou negativos. Harris et al. (17) desenvolveram um trabalho semelhante visando a vigilância ativa de *Lyssavirus* na Inglaterra entre os anos de 2003 a 2006. Foram analisadas 766 amostras de *swab* orofaríngeo contendo saliva de morcegos por meio de RT-PCR. Os mesmos não detectaram amostras de RNA viral nos animais, revelando não secreção viral via saliva no momento da amostragem. Schatz et al. (18) analisaram amostras de *swabs* orofaríngeos de morcegos na Alemanha no período de 1993 a 2012. Foram analisados 4546 morcegos distribuídos em 24 espécies. Deste total, apenas sete foram positivos por RT-PCR, a saber: *European bat lyssavirus 1* (EBLV-1) também membro do gênero *Lyssavirus*, *Barbastella barbastelus* (n=1), *Eptesicus serotinus* (n=5) e *Myotis nattereri* (n=1). Os mesmos autores discutem ainda que a utilização da biologia molecular para o conhecimento da dinâmica da raiva e vigilância das colônias de morcegos mostra-se essencial na epidemiologia da raiva.

Echeverría et al. (19) analisaram amostras de 75 morcegos *E. serotinus*, no período de junho de 1999 a agosto de 2000. Todos os exemplares encontravam-se na mesma colônia em um edifício público de Sevilha, Espanha. Os pesquisadores utilizaram amostras de saliva coletadas por *swab* orofaríngeo, conservados em MEM e submetidos a RT-PCR. O EBLV-1 foi identificado em 15 morcegos, sendo: setembro/1999 (n=1), maio/2000 (n=4) e em junho/2000 (n=10). Nos demais meses, o vírus não foi identificado no exsudato orofaríngeo em nenhum animal. Destaca-se que a análise molecular da saliva representa uma importante ferramenta para a vigilância epidemiológica do vírus da raiva, sendo também uma importante ferramenta de conservação e manejo, visto que permite não apenas a detecção, mas possibilita manter os espécimes possivelmente negativos vivos.

CONCLUSÃO

O RABV não foi identificado em nenhuma das amostras analisadas. Estes resultados demonstram a baixa taxa de infecção pelo RABV em morcegos saudáveis nas regiões avaliadas, o que contribui para a baixa dispersão viral nesses locais.

AGRADECIMENTOS

Ao suporte financeiro fornecido pelas instituições: CAPES/CNPQ, Fundação Araucária e Instituto Pasteur de São Paulo.

REFERÊNCIAS

1. International Committee on Taxonomy of Viruses. The Universal Virus Database, version 4 [Internet]. Ithaca, New York. 2016 [cited 2016 Mar 23]. Available from://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/
2. Almeida MF, Aguiar EAC, Martorelli LFA, Silva MMS. Diagnóstico laboratorial de raiva em quirópteros realizado em área metropolitana na região sudeste do Brasil. Rev Saude Publica. 1994;28(5):341-4.
3. Silva LHQ, Cunha EMSC, Pedro WA, Cardoso TC, Souza MCC, Ferrari CIL. Isolamento do vírus rábico em *Molossus ater* (Chiroptera: Molossidae) no Estado de São Paulo. Rev Saude Publica. 1999;33(6):626-8.
4. Sodré MM, Gama AR, Almeida MF. Updated list of bat species positive for rabies in Brazil. Rev Inst Med Trop São Paulo. 2010;52:75-81.
5. Batista HBCR, Franco AC, Roeche PM. Raiva: uma breve revisão. Acta Sci Vet. 2007;35(2):125-44.
6. Martorelli LFA, Aguiar EAC, Almeida MF, Silva MMS, Nunes VFP. Isolamento do vírus rábico de morcego insetívoro, *Lasiurus borealis*. Rev Saude Publica. 1996;30(1):101-2
7. Silva MMS, Harman I, Gonçalves EFB, Uieda V. Bats from the metropolitan region of São Paulo, southeastern Brazil. Chiropt Neotrop. 1996;2(1):39-41.
8. Reis NR, Lima IP, Peracchi AL. Morcegos (Chiroptera) da área urbana de Londrina, Paraná, Brasil. Rev Bras Zool. 2006;19(3):739-46.
9. Mikich SB. A dieta dos morcegos frugívoros (Mammalia, Chiroptera, Phyllostomidae) de um pequeno remanescente de floresta estacional semidecidual do sul do Brasil. Rev Bras Zool. 2002;19(1):239-49.
10. Grenhall AM, Paradiso JL. Bats and bat banding. Washington: Bureau of Sport Fisheries and Wild; 1968.
11. Vizotto LD, Taddei VA. Chave para determinação de quirópteros brasileiros. Bol Cienc. 1973;1:1-72.

12. Jones Jr JK, Carter DC. Annotated checklist, with keys to subfamilies and genera. In: Baker RJ, Jones Jr JK, Carter DC. Special Publications Museum Texas Tech. University. Biology of bats of the new world family Phyllostomidae. Part I. Lubbock: Texas Tech Press; 1976. v.10, p.7-38.
13. Gregorin R, Taddei VA. Chave artificial para identificação de molossídeos brasileiros (Mammalia, Chiroptera). Mastozool Neotrop. 2002;1(9):13-32.
14. Carnieli JRP, Fahl WO, Castilho JG, Oliveira RN, Macedo CI, Durymanova E, et al. Characterization of Rabies virus isolated from canids and identification of the main wild canid host in Northeastern Brazil. Virus Res. 2008;131:33-46.
15. Scheffer KC, Carrieri ML, Albas A, Santos HCP, Kotait I, Ito FH. Vírus da raiva em quirópteros naturalmente infectados no Estado de São Paulo, Brasil. Rev Saude Publica. 2007;41(3):389-95.
16. World Health Organization. Expert Committee on Rabies, 8th Report. Geneve: WHO; 1992. (Technical report series, nº 824).
17. Harris SL, Aegerter JN, Brookes SM, Mcelhinney LM, Jones G, Smith GC, et al. Targeted surveillance for european bat Lyssaviruses in english bats (2003-06). J Wildl Dis. 2009;45(4):1030-41.
18. Schatz J, Ohlendorf B, Busse P, Pelz G, Dolch D, Theubner J, et al. Twenty years of active bat rabies surveillance in Germany: a detailed analysis and future perspectives. Epidemiol Infect. 2014;142(6):1155-66.
19. Echevarria JE, Avellón A, Juste J, Vera M, Ibáñez C. Screening of active Lyssavirus infection in wild bat populations by viral RNA detection on oropharyngeal swabs. J Clin. 2001;10(39):3678-83.

Recebido em: 01/08/2016

Aceito em: 19/08/2017

Comitê de Avaliadores

Adelina Maria da Silva	Eliana Roxo	Luís Gustavo Corbellini
Adriana Evangelista-Rodrigues	Eunice Oba	Luiz Alberto do Lago
Ailton Vitor Pereira	Evelise Oliveira Telles	Luiz Augusto do Amaral
Alan Maia Borges	Fabiano Montiani Ferreira	Luiz Celso Hygino da Cruz
Alessandro F. T. Amarante	Felipe Masiero Salvani	Luiz Ernani Henkes
Alexander Welker Biondo	Fernanda da Cruz L. e Alvarenga	Luiz Francisco Zafalon
Alexandre Oba	Fernando Antônio de Avila	Luiz Henrique de Araújo Machado
Alexandre Vaz Pires	Fernando Ferreira	Magda Alves de Medeiros
Alice Maria M. P. Della Libera	Fernando Pandolfo Bortolozzo	Marcelo Beltrão Molento
Alice Fernandes Alfieri	Flávia de Rezende Eugênio	Marcelo George Mungai Chacur
Alda Lúcia Gomes Monteiro	Francisco Carlos Faria Lobato	Marcelo Resende de Souza
Altivo José de Castro	Francisco Leydson Formiga	Marcelo Vasconcelos Meireles
Alvimar José da Costa	Feitosa	Márcia C. da Sena Oliveira
Américo G. da Silva Sobrinho	Frederico Ozanam Papa	Márcia Marinho
Ana Carolina B. C. Fonseca Pinto	Geder Paulo Herrmann	Márcia Valéria Rizzo S. Szabó
Ana Liz Garcia Alves	Gilson Helio Toniollo	Marcia Oliveira Lopes
Ana Paula F. R. L. Bracarense	Gustavo Ferrer Carneiro	Márcio Machado Ladeira
Ana Sílvia A. M. T. Moura	Helenice de Lima González	Marco A. F. Lopes
Ana Terezinha Tavechio	Helenice de Souza Spinosa	Marco Antonio Alvarenga
Andrey Pereira Lage	Humberto Tonhati	Marco Antonio Lemos de Oliveira
Andrigo Barboza de Nardi	Iolanda Aparecida Nunes	Marconi Rodrigues de Farias
Annelise de Souza Traldi	Ivan Roque de Barros Filho	Marcos Amaku
Antonio Carlos C. Lacrete Júnior	Ivo Wentz	Marcos Chalhoub Coelho Lima
Antônio Carlos Paes	Jackson Victor de Araújo	Marcos Jun Watanabe
Antonio João Scandolera	Jane Megid	Marcos Veiga dos Santos
Antônio Sérgio Ferraudó	Jean Carlos Ramos da Silva	Margareth Elide Genovez
Antonio Waldir Cunha da Silva	Jean Guilherme F. Joaquim	Maria Angélica Miglino
Áureo Evangelista Santana	Jener Alexandre S. Zuanon	Maria Cecília Rui Luvizotto
Bernardete Miranda dos Santos	João Carlos Pinheiro Ferreira	Maria de Lourdes R. S. da Cunha
Bruna P. A. da Fonseca	João Guilherme P. Filho	Maria Denise Lopes
Bruno Watanabe Minto	João Luiz Horácio Faccini	Maria Jaqueline Manprim
Caris Maroni Nunes	João Pessoa Araújo Júnior	Maria Lucia Gomes Lorenço
Carla Forte Maiolino Molento	João Ricardo Ditttrich	Maria Lúcia Zaidan Dagli
Carla Lopes de Mendonça	José Antônio Viana	Maria Luiza Delavechia
Carlos Augusto A. Valadão	José Augusto B. Afonso	Maria Madalena Pessoa Guerra
Carlos Roberto Conti Naumann	José Carlos de Andrade Moura	Maria Terezinha S. Peraçoli
Carolina Madeira Lucci	José Dantas Ribeiro Filho	Márcia Valéria Rizzo S. Szabó
Cassiano Victória	José Domingos Guimarães	Maria Verônica de Souza
Cecílio Soares Filho	José Fernando Machado Menten	Marília Martins Melo
Célia Regina Orlandelli Carrer	José Juradir Fagliari	Mary Marcondes
Celso A. Rodrigues	José Laerte Nörnberg	Mauricio Costa Alves da Silva
Cezinande de Meira	José Nicolau Prospero Puoli Filho	Mayra Elena O. D'Avila
Ciniro Costa	José Paes de A. N. Pinto	Assumpção
Cláudia Valéria S. Brandão	José Paes de Oliveira Filho	Milton Hissashi Yamamura
Cláudio Dias Timm	José Roberto Kfoury Júnior	Mônica Vicky Bahr Arias
Claudio Scapinello	José Roberto Sartori	Nei Moreira
Daisy Pontes Netto	José Vasconcelos Lima Oliveira	Nelson Carneiro Baião
Daniel Augusto Barroso Lessa	Joselito Nunes Costa	Nelson Moraes
Delphim da Graça Macoris	Jovanir I. Müller Fernandes	Nereu Carlos Preste
Denise Botelho de O. Braga	Juliany Gomes Quitzan	Nilson Roberto Benites
Dilermundo Miranda da Fonseca	Julieta Rodini Engrácia de Moraes	Noeme Sousa Rocha
Dirlei Antônio Berto	Júlio César de Freitas	Pacífico Antônio Diniz Belém
Domingos da Silva Leite	Kátia Denise Saraiva Bresciani	Paulo Alberto Lovatto
Edson Ramos de Siqueira	Laerte Ferreira	Paulo César Ciarlini
Eduardo Arruda T. Lanna	Lara Borges Keid	Paulo Fernando Machado
Eduardo Bagagli	Leandro Rodello	Paulo Francisco Domingues
Eduardo Francisquine Delgado	Lílian Gregory	Paulo Henrique Franceschini
Eduardo Furtado Flores	Lisiane de A. Martins	Paulo Henrique Jorge da Cunha
Eduardo Harry Birgel Júnior	Lissandro Gonçalves Conceição	Paulo Michel Roehe
Eduardo Paulino da Costa	Luciana Morganti Ferreira Maselli	Paulo Roberto Brandão
Edviges Maristela Pituco	Luciano José da Costa Figueiredo	Paulo Roberto de Lima Meirelles
Eliana Curvelo	Luís Carlos Vulcano	Paulo Roberto Rodrigues Ramos
Peterson Triches Dornbusch		Priscilla Anne Melville

Raimundo Souza Lopes
Raphael Lúcio Andreatti Filho
Raquel Y. A. Baccarim
Raul Franzolin Neto
Regina Kiomi Takahira
Renato Cesar Sacchetto Tôrres
Renato Silva de Sousa
Renée Laufer Amorim
Ricardo Augusto Mendonça Vieira
Ricardo de Oliveira Orsi
Ricardo J. Del Carlo
Roberta Lemos Freire
Roberto Calderón Gonçalves
Roberto de Oliveira Roça
Roberto Sartori Filho
Roberto Soares de Castro
Rodrigo Martins Soares
Rodrigo Otávio Silveira Silva
Rogério de Paula Lana
Rogério Giufrida
Rogério Martins Amorim
Ronaldo Lopes Oliveira
Rosana M. O. Clark
Rosângela Zacarias Machado
Rosangela Locatelli Dittrich
Rubens Antônio Carneiro
Sandra de Moraes Gimenes Bosco
Sandra Mara Araújo Crispim
Sebastião de Campos Valadares Filho
Sergio Borges Mano
Sheila Canavese Rahal
Sílvia M. Nishida
Simone Baldini Lucheis
Simone de Carvalho Balian
Simone Tostes de Oliveira
Sony Dimas Bicudo
Stefano Hagen
Stélio Pacca Loureiro Luna
Tereza Cristina C. da Silva
Tilde Rodrigues Froes
Valéria Marçal Félix de Lima
Valéria Nobre L. S. Oliva
Vamilton Alvares Santarém
Vanerli Beloti
Vania Maria de V. Machado
Venício José de Andrade
Vera Lúcia M. Hall
Victor Cruz Rodrigues
Virgínia Bodelão Richini Pereira
Wagner dos Reis
Wagner Luis Ferreira
William Koury Filho

REVISTA “VETERINÁRIA E ZOOTECNIA”
NORMAS PARA APRESENTAÇÃO DE TRABALHOS
INSTRUÇÕES AOS AUTORES

ARTIGOS CIENTÍFICOS

Devem ser estruturados de acordo com os seguintes itens:

1. Página de rosto, com:

- Título do trabalho em português, em inglês e em espanhol, fonte Times New Roman, tamanho 12, com espaçamento simples, em negrito e centralizado, em letra maiúscula. Quando necessário, indicar a entidade financiadora da pesquisa, como primeira chamada de rodapé;
- Nomes completos dos autores, em que somente a primeira letra de cada nome deve ser maiúscula, do lado direito da página. Digitá-los, separados um por linha, com **chamadas** de rodapé numeradas e em sobrescrito, **que indicarão** o cargo e o endereço profissional dos autores, seguidos da instituição onde o trabalho foi desenvolvido ou às quais estão vinculados;
- Nome, endereço, telefone, fax e correio eletrônico, para correspondência;
- Em caso de envolvimento de seres humanos ou animais de experimentação, encaminhar o parecer da Comissão de Ética ou equivalente, assinalando, no trabalho, antes das referências, a data de aprovação.

2. Página com resumo, abstract e resumen

- Tanto o resumo, como o abstract e o resumen devem ser seguidos do título do trabalho, no respectivo idioma, e conter no máximo 400 palavras cada um, com informações referentes à introdução, metodologia, resultados e conclusões. O texto deve ser justificado e digitado em parágrafo único e espaçamento simples, começando por RESUMO. O abstract, e o resumen, devem ser tradução fiel do resumo. Independente da língua em que o artigo for apresentado, deverá conter o resumo em português, inglês e espanhol.
- Devem conter, no máximo, cinco palavras-chave, keywords, e 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 keywords e resumen com palabras claves, introdução, desenvolvimento do assunto, considerações finais e referências. Deverão conter no máximo 20 páginas e 60 referências.

RELATOS DE CASO

Não devem ser estruturados, como os artigos. Devem apresentar o título em português, em inglês e espanhol, resumo com palavras-chave, abstract com keywords, resumen com palabras claves e referências. Devem conter no máximo cinco páginas, três tabelas ou figuras e 15 referências.

COMUNICAÇÕES CURTAS

São relatos contendo dados inéditos e relevantes de estudos originais, como, por exemplo, resultados preliminares de uma pesquisa. Devem ser apresentadas com, no máximo, cinco páginas, uma tabela e 10 referências. A estrutura deve respeitar as normas para relatos de caso.

REFERÊNCIAS E CITAÇÕES

As referências devem ser numeradas consecutivamente e listadas na ordem em que são mencionadas no texto. As referências devem ser identificadas no texto, nas tabelas e legendas com números arábicos, entre parênteses, seguindo a mesma sequência. Os títulos das revistas devem ser abreviados de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus* disponível em: <http://www.nlm.nih.gov>.

Exemplos

Citações

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

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

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

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

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

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

Referências

Indique até seis autores seguidos de et al.

1 Artigo de revista

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

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

2 Organização como autor

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

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

3 Livro

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

4 Capítulo de livro

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

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

5 Artigos apresentados em congressos, reuniões, seminários etc

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

6 Teses, dissertações e outros trabalhos acadêmicos

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

7 Publicações disponíveis na Internet

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

JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE AND ANIMAL SCIENCE**RULES FOR PRESENTATION OF PAPERS**

The **Journal of Veterinary Medicine and Animal Science**, from School of Veterinary Medicine and Animal Science - UNESP, Botucatu, publishes original scientific and review papers, case reports and short communications related to Veterinary Medicine and Animal Science with semestral periodicity. The journal is open to national and/or foreign contributions (in English or Spanish) under the author's full responsibility.

Publication is conditioned to preliminary evaluation by the president of the editorial board, that analyses the merit and formal aspects of the work, according to the category of submitted paper and established editorial rules. If adequate, the article is subjected to review by two experts in the field. Opinion of reviewers are kept undisclosed. There are no possibility of identification of authors and reviewers. The articles not accepted will be returned to the authors.

Manuscripts must be submitted at the journal website <http://www.fmvz.unesp.br/rvz>.

Prof. Helio Langoni

Revista "Veterinária e Zootecnia"

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP - Botucatu

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS**SCIENTIFIC PAPERS**

Must be prepared according to the following items:

1. Title page:

- Title of the manuscript in Portuguese, English and Spanish, using Times New Roman font 12, simple spacing, bold and centered, with the words in upper case. When necessary, indicate the financial support as first footnote;

- Full authors names, where only the first letter of each name must be in upper case at the right side of the page. The authors' names must be typed separated by line, with numbered superscript **footnotes, which will indicate** the position and author's professional address, followed by the name of the institution where the work was done or to where it is linked;

- Name, address, telephone number, fax and e-mail address for correspondence;

- In case of involvement of human or experimental animals include the Ethics Committee approval or equivalent, and type before the bibliographic references with date of approval.

2. Abstract in Portuguese, English, and Spanish

- The "resumo", abstract and "resumen" must be followed by the title in the respective language and should not exceed 400 words each, with information regarding introduction, methods, results and conclusions. Text must be justified and in a single paragraph, simple spacing, beginning with the "RESUMO". Independent of the paper language, the abstract must be submitted in English, Portuguese and Spanish.

- Must include a maximum of five "palavras-chave", keywords, and palabras claves that identify the text content.

3. The structure of the paper must include:

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

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

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

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

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

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

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

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

REVIEW ARTICLES

The review articles will be published in Portuguese, English or Spanish, if it provides scientific contribution that is relevant in the area, when invited by the editors. The review articles must include: Title (Portuguese, English and Spanish), resumo with palavras-chave, abstract with key words and 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 keywords 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. 2ª ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992. p.91-103.

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

5 Conference paper

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

6 Dissertation

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

7 Electronic material on Internet

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

REVISTA “VETERINARIA Y 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 pie de página;
- Nombres completos de los autores, en los cuales solamente la primera letra de cada nombre debe ser mayúscula, en lado derecho de la página. Digitalarlos separados un por línea, con **notas de pie** de página numeradas y en sobrescrito, **que indicarán** el cargo y la dirección profesional de los autores, seguidos de la institución donde el trabajo fue realizado o en las cuales están vinculados;
- Nombre, dirección, teléfono, fax y correo electrónico para correspondencia.
- En el caso de involucrar seres humanos o animales de experimentación, enviar el concepto de la Comisión de Ética o equivalente, destacando en el trabajo antes de las referencias y fecha de aprobación, así como el envío de la copia del concepto.

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

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

- Deben contener como máximo, cinco “palavras-chave” “keywords”, y palabras clave que identifiquen el contenido del texto.

3. La estructura del artículo deberá contener:

Introducción: debe ser clara, objetiva y relacionada al problema investigado, y a la literatura pertinente, así como con los objetivos de la investigación. La introducción establece los objetivos del trabajo.

Materiales y Métodos: debe ofrecer informaciones de reproductibilidad de la investigación, de forma clara y concisa, como variables, población, muestra, equipos, o métodos utilizados, inclusive los estadísticos.

Resultados: Presentación de los resultados obtenidos, que deben ser descritos, sin interpretaciones y comparaciones. Podrá ser bajo la **forma de tablas**, en hojas separadas, con máximo de cinco, ordenadas en algarismos arábigos, y encabezadas por el título, de acuerdo con las normas de presentación tabular de las normas ABNT/WBR 6023/2000 de la Asociación Brasileña de Normas Técnicas, ABNT, identificadas en el texto como Tabla; bajo la **forma de figuras** en los casos de gráficos, fotografías, dibujos, mapas, etc., ordenadas en algarismos arábigos hasta un máximo de seis, y citadas en el texto como Figura. **Fotografías** pueden ser en blanco y negro o a colores; identificadas con el nombre del autor o autores al lado opuesto. En el caso de **dibujos originales**, la impresión debe ser en papel adecuado, de calidad.

Discusión: Debe ser entendida como la interpretación de los resultados, confrontando la literatura pertinente, descrita en la introducción. De ser conveniente los resultados y discusión podrán ser presentados conjuntamente.

Conclusiones: Es la síntesis final, fundamentada en los resultados y en la discusión.

Referencias: Deben ser presentadas de acuerdo con las normas de Vancouver (<http://www.icmje.org/>), y el arreglo organización debe ser en orden alfabético por apellido del autor (modelos anexos al final).

Deberán ser editados en Microsoft Word for Windows, para edición de textos, Excel (cualquier versión) para gráficos, formato JPEG o GIF (imagen) para fotografías, formato A4 (21,0 x 29,7 cm), a doble espacio, manteniendo márgenes de 2,5 cm, en las laterales, parte superior e inferior de cada página, fuente Times New Roman, número 12 y numeración consecutiva de las páginas en números arábigos, a partir de la hoja de identificación. Deberán presentar también la numeración en las líneas, recomenzando la cuenta a cada página nueva. Ilustraciones y leyendas deben ser presentadas en hojas separadas.

No se ofrecerán separatas. Los artículos estarán disponibles en el formato PDF en la página WEB de la revista. Para las demás secciones de la revista son válidas las normas anteriores. No deben exceder las 15 páginas. Abreviaturas no usuales, deben ser empleadas después de haber sido escritas por extenso en la primera utilización.

ARTÍCULOS DE REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los artículos de la revisión bibliográfica serán publicados en los idiomas portugués, inglés y español, cuando el autor presente contribución científica, importante en el área específica del asunto abordado, y por invitación de los editores.

Deberán contener: Título (portugués, inglés y español), resumen con palavras-chave, abstract con keywords e resumen con palabras claves, introducción, desarrollo del tema, conclusión y referencias. Deberán contener como máximo 20 páginas y 60 referencias (citas bibliográficas).

ESTUDIOS DE CASO

No deben ser subdivididos, como para los artículos. Deben presentar el título en portugués, en inglés y español, resumen con palavras-chave, abstract con key words e resumen con palabras-claves y referencias. Deben contener como máximo cinco páginas, tres tablas o figuras y 15 referencias bibliográficas.

COMUNICACIONES CORTAS

Son relatos con datos inéditos y relevantes de estudios originales, como por ejemplo resultados preliminares de una investigación. Deben ser presentados como máximo en cinco páginas, una tabla y 10 referencias bibliográficas. La estructuración debe respetar las normas para estudios de caso.

REFERENCIAS E CITACIONES

Numerar las referencias consecutivamente según el orden en que se mencionen por primera vez en el texto. En éste, en los cuadros y leyendas, las referencias se identificarán mediante números arábigos entre paréntesis. Abreviar los títulos de las revistas según *List of Journals Indexed in Index Medicus* disponible en: <http://www.nlm.nih.gov>.

Ejemplos

Citations

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

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

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

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

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

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

Referencias

Mencionan los seis primeros autores seguidos de la abreviatura et al.

1 Artículo de periódico

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

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

2 Organización como autor

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

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

3 Libro

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

4 Capítulo en libro

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

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

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

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

6 Tesis

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

7 Medios electrónicos en Internet

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