

# A Pesquisa nos Diferentes Campos da Medicina Veterinária

---

Alécio Matos Pereira  
Lauro César Soares Feitosa  
Sara Silva Reis  
(Organizadores)



**Atena**  
Editora

Ano 2020

# A Pesquisa nos Diferentes Campos da Medicina Veterinária

---

Alécio Matos Pereira  
Lauro César Soares Feitosa  
Sara Silva Reis  
(Organizadores)



**Atena**  
Editora

Ano 2020

2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Diagramação:** Karine de Lima

**Edição de Arte:** Lorena Prestes

**Revisão:** Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa

Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia

Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá

Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima

Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros

Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice

Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão

Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará

Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste

Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador

Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia  
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará  
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília  
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília  
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira  
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Fernando José Guedes da Silva Júnior – Universidade Federal do Piauí  
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco  
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas  
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá  
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto

Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí  
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza  
Prof. Me. Adalto Moreira Braz – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba  
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Andrezza Miguel da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia  
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais  
Prof<sup>a</sup> Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar  
Prof<sup>a</sup> Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos  
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas  
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará  
Prof<sup>a</sup> Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília  
Prof<sup>a</sup> Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás  
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil  
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases  
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita  
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí  
Prof<sup>a</sup> Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora  
Prof. Dr. Fabiano Lemos Pereira – Prefeitura Municipal de Macaé  
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo  
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária  
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina  
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro  
Prof<sup>a</sup> Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College  
Prof<sup>a</sup> Ma. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho  
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará  
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay  
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco

Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
 Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA  
 Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis  
 Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR  
 Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
 Profª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará  
 Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ  
 Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás  
 Prof. Me. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe  
 Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados  
 Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná  
 Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos  
 Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior  
 Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo  
 Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
 Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco  
 Prof. Me. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados  
 Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
 Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo  
 Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana  
 Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
P474	<p>A pesquisa nos diferentes campos da medicina veterinária [recurso eletrônico] / Organizadores Alécio Matos Pereira, Lauro César Soares Feitosa, Sara Silva Reis. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.</p> <p>Formato: PDF            Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader.            Modo de acesso: World Wide Web.            Inclui bibliografia            ISBN 978-65-5706-054-4            DOI 10.22533/at.ed.544202205</p> <p>1. Medicina veterinária – Pesquisa – Brasil. I. Pereira, Alécio Matos. II. Feitosa, Lauro César Soares. III. Reis, Sara Silva.  <span style="float: right;">CDD 636.089</span></p>
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
 Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
 contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

A necessidade de ser um profissional cada dia mais capacitado passa pelo compromisso do estudo constante e pela oportunidade de acesso a um material atualizado e de qualidade, é com esse propósito que vem o lançamento desse e-book “A Pesquisa nos Diferentes Campos da Medicina Veterinária”, com texto escrito de forma clara e direta, trazendo muitos assuntos atuais no campo da medicina veterinária, proporcionando ao leitor uma viagem científica e agradável, pelo cuidado que os autores dos capítulos tiveram em convidar especialistas com longa experiência em cada área a ser abordada.

Os assuntos são diversos para facilitar atualização dos leitores, que precisam saber de temas como: homeopatia e imunidade em gado leiteiro, bem-estar dos equídeos, vísceras de bovinos na alimentação, óleo de neem para *Chrysomya megacephala*, babesiose em cães, mormo, pesquisa do vírus zika e alfavírus, leishmaniose visceral, habronemose cutânea, topografia vertebromedular de cateto e sertolioma benigno em cão. A abordagem de cada tema traz uma pesquisa minuciosa pelos principais artigos da área, propiciando uma fácil revisão sobre os temas, tornando essa obra uma fonte científica nas mais diversas áreas da ciência animal.

Os estudantes e profissionais da área hoje sofrem em busca de uma fonte revisada e científica, pois, a internet nem sempre entrega um material revisado por pesquisadores da área de estudo. O que deixa esse livro ainda mais interessante, por ser uma obra baseada em pesquisa, e referências confiáveis no mundo científico da medicina veterinária. Sendo o e-book esclarecedor para todos que desejam estudar os assuntos aqui expostos.

Alécio Matos Pereira

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
AVALIAÇÃO DO USO DA HOMEOPATIA NA REDUÇÃO DO ÍNDICE DE MASTITE SUBCLÍNICA E NO AUMENTO DA IMUNIDADE EM GADO LEITEIRO	
Verônica Rodrigues Fozza Leonardo Maggio de Castro Fábio André Ferreira Custódio Ana Carolina Rusca Correa Porto	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5442022051</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>12</b>
AVALIAÇÃO CLÍNICA E DE BEM-ESTAR DOS EQUÍDEOS DE TRACÇÃO DA ZONA URBANA DE PIRES DO RIO – GOIÁS	
Daniel Barbosa da Silva Carla Cristina Braz Louly Carla Faria Orlandini Iaciara Luana de Xavier Albernaz Naílla Crystine de Carvalho Dias Yoshihara Cristina de Sousa Suyan Brethel dos Santos Campos Ana Karolina Camargo	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5442022052</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>19</b>
AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE HIDROLISADOS PROTEICOS OBTIDOS A PARTIR DE VÍSCERAS DE BOVINOS	
Thailan Arlindo da Silva Keila Aparecida Moreira Wellington Leal dos Santos Edson Flávio Teixeira da Silva	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5442022053</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>35</b>
EFEITOS DO ÓLEO DE NEEM ( <i>AZADIRACHTA INDICA</i> A. JUSS.) NO DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO DE <i>CHRYSOMYA MEGACEPHALA</i> (FABRICIUS, 1794) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)	
Daniele da Silva Luz Ana Elisa Moraes de Oliveira Ronaldo Roberto Tait Callefe Helio Conte	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5442022054</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>47</b>
BABESIOSE EM CÃES: ARTIGO DE REVISÃO COM ÊNFASE SOBRE SEU DIAGNÓSTICO	
Vanessa Feliciano de Souza Rafael Molina Figueiredo	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5442022055</b>	
<b>CAPÍTULO 6</b> .....	<b>53</b>
ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DO MORMO NO MUNICÍPIO DE TERESINA, PIAUÍ	
Yara Maria Feitosa Borges Andrezza Caroline Aragão da Silva Tairine Melo Costa	

Mônica Arrivabene  
Roselma de Carvalho Moura  
Carolina Carvalho dos Santos Lira  
Luciana Ferreira de Sousa Luz  
Muriel Magda Lustosa Pimentel  
Camila Arrivabene Neves  
Tábatta Arrivabene Neves  
Tania Vasconcelos Cavalcante  
Isabella de Oliveira Barros  
Tatiana Figueiredo  
Luan Luthzemberg Ferreira de Andrade  
Laís Alves Mendonça  
Artur Bibiano de Vasconcelos

**DOI 10.22533/at.ed.5442022056**

**CAPÍTULO 7 ..... 69**

ESTUDO RETROSPECTIVO PARA PESQUISA DO VÍRUS ZIKA E ALFAVÍRUS EM AMOSTRAS DE PRIMATAS NÃO HUMANOS, EM 2015, NO BRASIL

Sélyly Socorro dos Praseres Lira  
Emylly Barrozo Caldas  
Daniela Sueli Guerreiro Rodrigues  
Ana Cecília Ribeiro Cruz

**DOI 10.22533/at.ed.5442022057**

**CAPÍTULO 8 ..... 82**

LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

Andrei Kelliton Fabretti  
Raquel Carolina Simões Siqueira  
Rafael Oliveira Chaves  
Patrícia Mendes Pereira

**DOI 10.22533/at.ed.5442022058**

**CAPÍTULO 9 ..... 88**

HABRONEMOSE CUTÂNEA EM UM EQUINO DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR: RELATO DE CASO

Hiury Alberto Moraes da Costa Cruz  
Bianca Suruagy dos Santos  
Larissa de Souza Cavalcante  
Erivan Luiz Pereira de Andrade  
Gilsan Aparecida de Oliveira  
Muriel Magda Lustosa Pimentel  
Valesca Barreto Luz  
Isabelle Vanderlei Martins Bastos  
Raíssa Karolliny Salgueiro Cruz

**DOI 10.22533/at.ed.5442022059**

**CAPÍTULO 10 ..... 95**

TOPOGRAFIA VERTEBROMEDULAR DE CATETO (*PECARI TAJACU LINNAEUS*, 1758)

Marta Adami  
Rafael da Silva Carmo Neto  
Ana Elisa Fernandes de Souza Almeida  
Marcia Maria Magalhães Dantas de Faria  
Ricardo Diniz Guerra e Silva  
Maria das Graças Farias Pinto

**DOI 10.22533/at.ed.54420220510**

**CAPÍTULO 11 ..... 103**

SERTOLIOMA BENIGNO EM CÃO SEM PADRÃO RACIAL DEFINIDO E NÃO CRIPTORQUIDA:  
RELATO DE CASO

Dawys Elisio de Oliveira Peroba  
Eliane Macedo Bernieri  
Karen Noronha Sarmiento  
Ana Gabriela Almeida Luna Vieira  
Mariah Tenório de Carvalho Souza  
Gilsan Aparecida de Oliveira  
Rodrigo Antônio Torres Matos  
Raíssa Karolliny Salgueiro Cruz  
Valesca Barreto Luz

**DOI 10.22533/at.ed.54420220511**

**SOBRE OS ORGANIZADORES..... 110**

**ÍNDICE REMISSIVO ..... 111**

## AVALIAÇÃO DO USO DA HOMEOPATIA NA REDUÇÃO DO ÍNDICE DE MASTITE SUBCLÍNICA E NO AUMENTO DA IMUNIDADE EM GADO LEITEIRO

*Data de submissão: 13/03/20*

*Data de aceite: 15/05/2020*

### **Verônica Rodrigues Fozza**

Universidade de Sorocaba, Graduanda curso de  
Medicina Veterinária  
Sorocaba/SP

<http://lattes.cnpq.br/7566845558321029>

### **Leonardo Maggio de Castro**

Universidade de Sorocaba, Hospital Veterinário  
Universitário  
Sorocaba/SP

<http://lattes.cnpq.br/6560788894683200>

### **Fábio André Ferreira Custódio**

Universidade de Sorocaba, Professor curso de  
graduação em Medicina Veterinária  
Sorocaba/SP

<http://lattes.cnpq.br/2902151640590420>

### **Ana Carolina Rusca Correa Porto**

Universidade de Sorocaba, Coordenação curso de  
graduação em Medicina Veterinária  
Sorocaba/SP

<http://lattes.cnpq.br/7318699464819416>

**RESUMO:** A mastite bovina afeta ao redor de 90% das propriedades leiteiras de média e alta produção no país, levando uma perda de 10 a 30% por lactação. Com o custo de tratamento cada vez mais elevado e a crescente preocupação com a presença de vestígios de

antibiótico no leite, os produtores têm buscado novas opções profiláticas e terapêuticas para intervenção desses animais. É nesse cenário que a homeopatia, por ser uma alternativa aceita internacionalmente, vem ganhando espaço no mercado brasileiro. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de produto homeopático, na redução do número de animais com mastite subclínica no rebanho, e sua influência na concentração de células sanguíneas. Para tanto, foram utilizadas 19 vacas holandesas em lactação, durante 4 meses. Os animais receberam diariamente 50 gramas por indivíduo do produto homeopático misturados à ração durante a alimentação da manhã. Para avaliação da eficácia do produto na redução da mastite subclínica no rebanho, e sua influência nas células do sangue dos animais, foram realizados CMT, CCS e hemograma. Os resultados do CMT e CCS sugerem que a formulação utilizada foi eficaz tanto na diminuição da intensidade quanto na prevenção da mastite subclínica. Na análise do hemograma, observou-se que não houve influência da formulação utilizada no número de leucócitos. Conclui-se que a formulação utilizada foi eficaz na diminuição dos casos de mastite subclínica na propriedade e não levou a alterações no hemograma.

**PALAVRAS-CHAVE:** Gado de leite. Homeopatia. Mastite bovina. Modulação Imune.

## EVALUATION OF HOMEOPATHY USAGE FOR THE REDUCTION OF SUBCLINICAL MASTITIS INDICATION AND FOR IMMUNE INCREASE OF DAIRY CATTLE

**ABSTRACT:** Bovine mastitis affects around 90% of medium and high production dairy farms in the country, leading to a loss of 10 to 30% during lactation. Due to the increasingly higher cost of the treatment and the great concern about traces of antibiotic in the milk, the producers have sought new prophylactic and therapeutic options for intervention on these animals. In this scenario, homeopathy, for being an internationally accepted alternative, has been gaining ground in the Brazilian market. The present work aimed to evaluate the effect of homeopathic product on the reduction of the number of animals with subclinical mastitis in the herd, and also its influence on the concentration of blood cells. For this study, 19 Holstein cows in lactation were used during 4 months. Each individual was given 50 grams of the homeopathic test product daily, mixed with the feed during the morning feeding. In order to evaluate the product effectiveness in reducing subclinical mastitis in the herd as well as its influence on the blood cells of the animals, CMT, CCS and CBC were performed. The results of the CMT and CCS suggest that the formulation used was effective in reducing the intensity and also preventing subclinical mastitis. No influence of the formulation on the number of leukocytes was observed during the CBC analysis. In conclusion, the formulation used was effective in the reduction of subclinical bovine mastitis cases in the farm and did not lead to changes in the CBC.

**KEYWORDS:** Bovine mastitis. Dairy cattle. Homeopathy. Immune modulation.

### 1 | INTRODUÇÃO

Sabe-se hoje que existe um grande gargalo no manejo sanitário do gado leiteiro, a mastite. Devido ao uso de antibióticos de maneira indiscriminada e a onda naturalista que vem surgindo no Brasil e no mundo, o uso de terapias alternativas chamam cada vez mais a atenção dos produtores, já que com a margem de lucro do leite cada vez menor, o produtor que preza pela qualidade é bonificado pelas leiterias. Junto a isso, grandes empresas exigem cada vez mais um produto de qualidade, com o mínimo de antibióticos possível (*antibiotic free*). É nesse cenário que a homeopatia está ganhando espaço e fazendo a diferença nas granjas leiteiras, reduzindo o custo com medicamentos e atuando de forma preventiva no rebanho, sendo que quando aliada a um manejo sanitário adequado, o produtor fornece um leite de qualidade com menor custo de produção por litro. Devido a facilidade de manejo com o produto homeopático e o custo relativamente baixo, tanto pequenos como grandes produtores podem adicionar o componente na dieta dos animais. Com isso, esse projeto tem como objetivo estudar o comportamento da fórmula homeopática em relação a redução da mastite subclínica em um rebanho leiteiro, avaliando seu resultado e desempenho tanto na qualidade do leite quanto na imunidade individual.

## 2 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Produção de leite

A produção mundial de leite em 2017, chegou à 513.476 bilhões de litros segundo a CONAB. De acordo com a companhia, a União Europeia lidera esse ranking de países, produzindo 152.500 bilhões de litros, e o Brasil vem em quinto lugar produzindo 33,5 bilhões de litros, tendo um aumento de 2,7% em relação à 2016. Segundo técnicos da Embrapa Gado de Leite, o crescimento do consumo de leite nos próximos anos deve estar próximo ao da produção, estando o estimado anualmente em 2,1% podendo chegar a 3,3% (Companhia Nacional de Abastecimento, 2017).

### 2.2 Mastite

A mastite é umas das principais patologias do rebanho leiteiro. Possui diversas formas, dentre elas, a subclínica que é a mais frequente nos animais afetados, e causa grandes prejuízos econômicos devido a diminuição da produção de leite (ZAFALON, et al. 2017). Por não levar à nenhuma alteração clínica visível torna-se difícil o seu diagnóstico, sendo o aumento do número de células somáticas no leite o principal indicativo do problema (COSTA et al. 2000; REYNOL, et al. 2005).

Essa afecção é definida como uma inflamação das glândulas mamárias, que pode ter origem em um trauma físico, uso de agentes químicos ou o que é mais comum pela invasão de microrganismos patogênicos. Dentre esses, os microrganismos de maior significância são *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase* negativo e *Streptococcus uberis* (LEAL e COSTA, 2013). Para que haja o controle da mastite bovina, o principal objetivo é a redução da incidência de casos subclínicos (ZAFALON, et al. 2017), podendo ser realizadas medidas profiláticas principalmente a respeito da higiene da ordenha, que se combinada ao uso de antibióticos na hora da secagem são determinantes para a redução de casos subclínicos da doença (NOBREGA, et al. 2009). O custo com o diagnóstico, tratamento, a perda econômica com o descarte do leite, tornam a mastite bovina subclínica um problema econômico (COSTA et. al., 2000) podendo gerar um custo de até 200,00 dólares/vaca/ano (LEAL e COSTA, 2013.)

Na última década tem-se percebido uma grande preocupação com a segurança alimentar, em todo o elo da cadeia dos lácteos (FILGUEIRAS, 2011). O que preocupa os especialistas é um dos grandes entraves na produção leiteira: a adulteração, que hoje ainda é muito realizada com o uso do formol, água, urina, etc. Além do uso de aditivos para aumentar o rendimento do leite, o percentual de resíduos de antibióticos cresce cada vez mais e gera novos debates (MASSIGNANI, 2015). Adicionalmente, a questão do bem estar animal está cada vez mais em pauta, por isso procura-se novas formas de criação que busquem respeitar o comportamento natural dos animais, utilizar um manejo voltado para a prevenção de doenças, além de preconizar o uso de métodos terapêuticos mais suaves, e dentre essas, destaca-se a homeopatia,

(HORONATO, 2006) que surge como uma importante alternativa sendo aceita nacional e internacionalmente (MANGIERI, 2007).

### 2.3 A homeopatia

A palavra homeopatia é de origem grega e significa *homeo*=semelhante e *pathos*=doença, sendo assim é a ciência que trata os indivíduos doentes e não a doença em si (XIMENES, 2009), essa tem por fundamento a lei estudada por Dr. Samuel Hanemann em 1810, similia *similibus curantur* (semelhante cura semelhante) sendo assim toda substância capaz de causar sintomas físicos e psíquicos nos indivíduos sadios, também possui capacidade de curar um indivíduo que esteja doente. O tratamento ocorre por meio de um preparado, que quando administrado em um indivíduo sadio, produz os mesmos efeitos constatados em um indivíduo que se deseja curar (BARBOSA, et al. 2013). É importante salientar que a homeopatia não tem como objetivo eliminar os agentes causadores das doenças, pois visa preservar a biodiversidade do ambiente (MITIDIERO, 2002). Já foi descrito que se o medicamento escolhido for administrado em uma superdosagem, este é capaz de mascarar a visualização da cura, ou até induzir uma acentuação nos sintomas (SILVA, 2009).

De acordo com Souza (1998), o medicamento homeopático exerce um efeito sobre o sistema imunológico do animal, mediado por efeitos hormonais, emocionais, eletrolíticos ou metabólicos (SILVA, 2009).

A prática homeopática contempla o bem estar animal, uma vez que o medicamento pode ser fornecido na água ou ração, não havendo a necessidade de contenção dos animais que é um fator gerador de estresse (HONORATO, et al, 2006), além disso, alguns fatores estão sendo empregados para justificar o uso da homeopatia como o baixo custo do tratamento e a possibilidade de obter um produto livre de resíduos, sem necessidade de imposição de período de carência a ser respeitado. As informações e estudos sobre os produtos homeopáticos ainda são muito falhos, o que gera uma série de discussões sobre o seu real funcionamento e eficácia (MASSIGNANI,2015) assim ocorre a livre comercialização sem a necessidade de uma receita médica, podendo ser utilizado como aditivos alimentares com o intuito de aumentar os índices zootécnicos e a produção animal (SILVA, et al. 2011).

Para melhorar a qualidade do leite e garantir um alimento seguro e de alto valor nutricional, é fundamental o controle das mastites nos rebanhos. Muitos esforços têm sido empregados para isso, incluindo uma bonificação pela qualidade do leite, baseado na redução da contagem de células somáticas por mililitro de leite, que reflete o nível de ocorrência de mastite (LEAL e COSTA, 2013.).

A produção animal, em um sistema orgânico que seja certificado, ainda é pouco difundida no Brasil, apesar do aumento significativo da procura por esses produtos, alguns autores relatam que a contagem de células somáticas em fazendas orgânicas foi maior do que em fazendas que utilizam antibióticos (ZAFALON, et al. 2017). O

interesse por produtos orgânicos, como alimentos vindo de animais homeopatizados, se baseia no fato de eles possuírem maior segurança (SILVA, et al. 2011), já que sabe-se que o uso descontrolado de antimicrobianos leva a seleção e resistência bacteriana, fazendo com que a droga não surta efeito (GASPAR, et al. 2017).

De acordo com Leal e Costa. (2013) que realizaram um estudo com 48 vacas sadias em lactação em um período de cem dias, houve redução, porém não significativa da CCS com o uso da homeopatia. Já Silva et al., (2011), ao suplementarem 22 vacas holandesas com produto homeopático por 63 dias, observaram que houve uma tendência de aumento na CCS de vacas com glândula mamaria sadia. No mesmo estudo observou-se que o uso da combinação homeopática tendeu a aumentar o teor de proteína no leite, levando os autores a concluir que o uso da homeopatia foi capaz de induzir uma resposta no aumento de secreção proteica do leite. Mangieri et. al., (2015) que analisaram 122 ovelhas no período de 2 anos, observaram que o tratamento homeopático foi eficiente na cura microbiológica das mastites subclínicas em ovinos. Além disso o tratamento homeopático usado de forma correta reduziu a taxa de reinfecção dos animais avaliados. Já resultado encontrado por Gaspar et al., (2017), em estudo realizado em conjunto com a Embrapa pecuária Sul, conduzido com 37 animais, mostrou que o tratamento homeopático não acarretou mudanças relevantes em alguns parâmetros, como a CCS e os testes microbiológicos, levando os autores a concluir que a homeopatia não foi eficaz na prevenção de mastite.

## 3 | MÉTODOS

### 3.1 Animais

Para a realização desse estudo foram utilizadas dezenove vacas da raça holandesa entre 3 e 5 anos, todas em período de lactação, provenientes do Sítio Terra Milho localizado no município de Araçoiaba da Serra- SP. Na propriedade, os animais são mantidas no sistema de confinamento (*Compost Barn*), onde passam pelo mesmo manejo sanitário e são ordenhadas mecanicamente duas vezes ao dia, com a utilização de pré e pós-dipping e não possuem bezerro ao pé. Com relação ao manejo nutricional, a quantidade de concentrado oferecido aos animais está de acordo com a produção leiteira diária.

### 3.2 Produtos e administração

Durante o período do estudo, que ocorreu por quatro meses, os animais consumiram 50 gramas/cabeça/dia do produto homeopático em pó que possui a seguinte formulação: *Natrum muriaticum 10-60, Silicea terra 10-400, Hypothalamus 10-30, Urtica urens 10-30, Colibacillum 10-30, Calcium phosphoricum 10-30, Staphylococcus aureus 10-60, Streptococcus uberis 10-60, Phytolacca 10-12, Veiculo gsp 1000 g*. O produto foi ingerido misturado ao concentrado sendo oferecido às vacas

no trato da manhã. Não é necessário interromper o uso do produto por não ter efeito residual.

### 3.3 Análises do leite

As vacas foram submetidas, quinzenalmente, na ordenha ao teste da caneca, que tem como objetivo identificar os animais com mastite clínica, e ao teste CMT (*California Mastitis Test*) para a observação da presença de mastite subclínica, de acordo com a classificação de cada quarto mamário.

Uma vez ao mês realizou-se a coleta de uma amostra de leite em tubo estéril, contendo conservante Bronopol<sup>®</sup> (2-bromo-2 nitropropano-1,3 diol), e as amostras foram enviadas para a Clínica do Leite<sup>®</sup> que realizou a CCS (Contagem de células somáticas) individual.

### 3.4 Análises do sangue

Quinzenalmente realizou-se a coleta de sangue, o qual foi dividido em dois tubos, um contendo anticoagulante EDTA e outro sem anticoagulante. As amostras foram encaminhadas ao laboratório da universidade para que os exames fossem feitos. O hemograma foi realizado em contador automático na marca Brasmed<sup>®</sup>.

## 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Administração do produto

A administração do produto ocorreu sem nenhuma intercorrência, sendo este bem aceito pelos animais. O produto foi fracionado em porções diárias para cada lote, a fim de garantir o consumo de maneira correta.

### 4.2 Avaliação do teste da caneca de fundo preto

O teste é utilizado para a detecção de mastite clínica, observando a presença de grumos. É realizado após o pré-dipping, onde os três primeiros jatos de cada teto são direcionados para a caneca. Nenhuma vaca deu início ao experimento com mastite clínica.

Durante o estudo somente um animal apresentou grumo em duas coletas realizadas.

### 4.3 Avaliação do CMT

. O CMT foi realizado quinzenalmente no fosso da ordenha, sendo classificado e anotado no dado momento (Figuras 1).

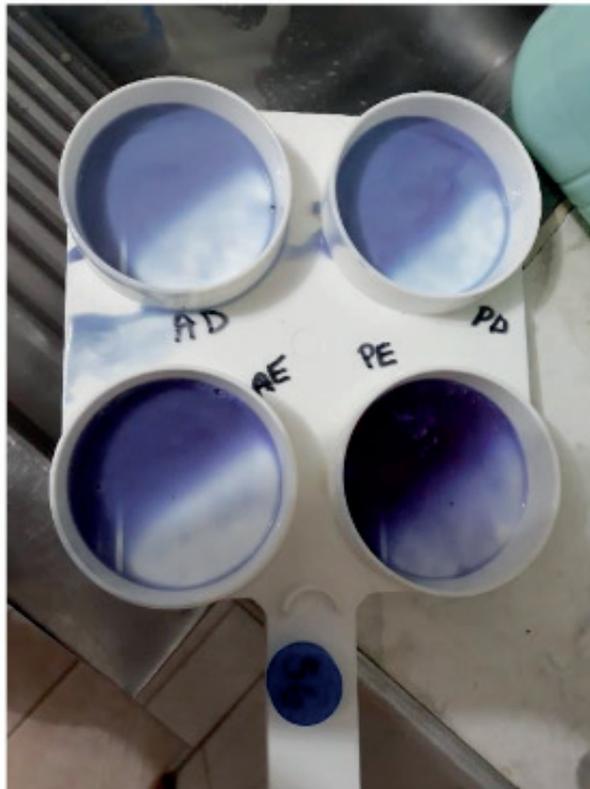


Figura 1- Teste CMT.

Fonte: Própria Autoria

Observou-se que 52,6 % dos animais apresentaram melhora progressiva na avaliação pelo CMT, enquanto que 47,3% mantiveram seu resultado final igual ao inicial (Tabela 1). Apenas dois animais não apresentaram esse padrão.

Pode-se sugerir que a administração do produto ajudou na prevenção e na redução da intensidade do aparecimento da mastite subclínica no rebanho.

Tabela 1- Resultado da primeira e última realização do CMT dos animais do estudo-Continua

ANIMAL	EXAME	CMT <sup>2</sup> 0+ a 4+				INTERPRETAÇÃO
		AE*	AD**	PE***	PD****	
7	I	0+	1+	0+	0+	
	F	0+	0+	0+	0+	
53	I	1+	1+	1+	1+	
	F	0+	0+	0+	0+	
56	I	0+	0+	0+	0+	Animal apresentou mastite olnica
	F	0+	1+	0	0+	
57	I	0+	0+	0+	0+	
	F	0+	0+	0+	0+	
58	I	0+	0+	0+	0+	
	F	0+	0+	0+	0+	
59	I	1+	1+	1+	1+	
	F	1+	0+	0+	1+	
63	I	1+	1+	1+	1+	
	F	0+	0+	0+	0+	
64	I	0+	0+	0+	0+	
	F	0+	0+	0+	0+	
65	I	0+	0+	0+	0+	
	F	0+	0+	0+	0+	
66	I	1+	1+	1+	1+	Animal com mastite crônica
	F	1+	1+	1+	1+	
68	I	2+	1+	1+	1+	
	F	0+	0+	0+	0+	
70	I	2+	2+	2+	2+	
	F	0+	0+	0+	0+	
71	I	2+	2+	2+	2+	
	F	0+	0+	0+	0+	
72	I	1+	1+	1+	1+	
	F	1+	1+	1+	1+	
74	I	0+	0+	0+	0+	
	F	0+	0+	0+	0+	
75	I	1+	1+	1+	1+	
	F	0+	0+	0+	0+	

ANIMAL	EXAME	CMT <sup>2</sup> 0+ a 4+				INTERPRETAÇÃO
		AE*	AD**	PE***	PD****	
	F	0+	0+	0+	0+	
76	I	0+	0+	0+	1+	
	F	0+	0+	0+	0+	
77	I	0+	0+	0+	0+	
	F	0+	0+	0+	0+	
78	I	1+	1+	1+	1+	
	F	0+	0+	0+	0+	

I- Inicial F- Final CMT<sup>2</sup>- California Mast Test \* Anterior esquerdo \*\* Anterior Direito  
 \*\*\*Posterior esquerdo \*\*\*\*Posterior direito

Valores de referência: CCPR Leite e ACTA Biomédica Brasileira

Fonte: Elaboração Própria/Dados trabalhados pelo autor

#### 4.4 Avaliação da CCS

Todas as amostras de leite para realização da CCS foram coletadas e enviadas para análise na Clínica do Leite®.

Observou-se que 89,4% dos animais apresentaram um pequeno aumento no número de células somáticas se comparado ao início do experimento ainda sim mantendo-se dentro do limite aceitável (Gráfico 1). Essa elevação pode ter sido decorrente do aumento da porcentagem de proteína no leite, fato comum em animais que fazem uso de homeopatia (SILVA, et al. 2011, MAZIERO et al. 2013.), porém dados da proteína do leite não foram analisados no presente estudo. Apenas 10,52% (2 animais) tiveram uma contagem acima do limite permitido, sendo esses os animais que apresentaram mastite clínica e mastite crônica. Os resultados foram organizados no gráfico abaixo:

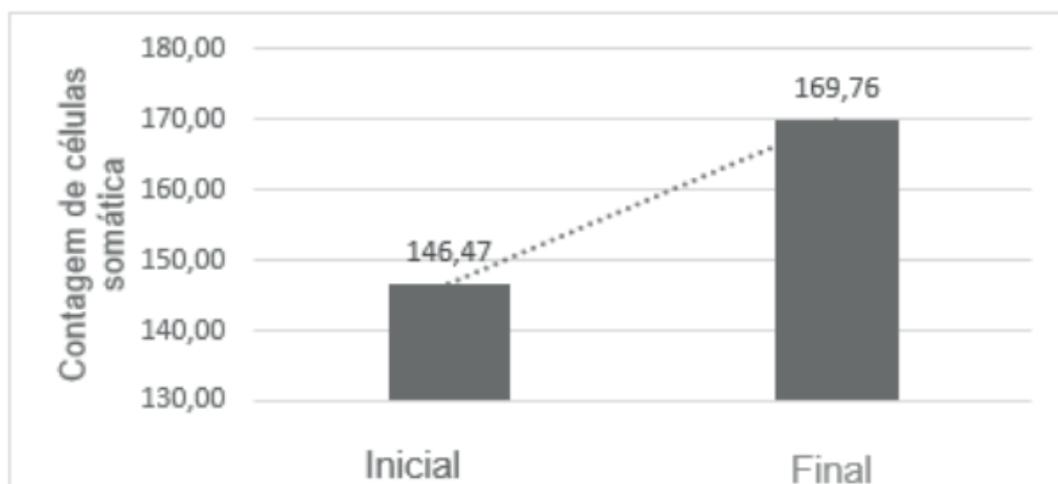


Gráfico 1- Resultado da análise de CCS no início e no final do estudo

Valores de referência: CCPR Leite e ACTA Biomédica Brasileira

Fonte: Elaboração Própria/Dados trabalhados pelo autor.

#### 4.5 Avaliação do perfil leucocitário

Todas as amostras de sangue dos dezenove animais foram coletadas e submetidas a realização de hemograma completo. Em relação ao número de leucócitos 36,8% dos animais apresentaram um aumento leucocitário, 57,9% tiveram uma diminuição do número e 5,2% mantiveram o mesmo valor inicial. Porém todos continuaram dentro do valor de referência.

Os valores do hematócrito se apresentaram da seguinte forma, 52,63% dos animais apresentaram um aumento, 36,84% uma diminuição quando comparado ao valor inicial e 10,52% mantiveram o valor.

## 5 | CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos nesse trabalho pode-se concluir que a administração do produto ajudou na prevenção e na redução da intensidade do aparecimento da mastite subclínica no rebanho. O produto não teve influência na concentração das células sanguíneas dos animais.

## REFERÊNCIAS

- BARBOSA, S. Aline.; NERO, D. Bruna.; AMBROSIO, E. Carlos.; **Terapia Homeopática em Dermatopatias em Gatos - Revisão de Literatura. Acta Veterinária Brasilica**, v.7, n.1, p.29-37, 2013. Disponível em: <<https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/acta/article/view/2950/5187>>. Acesso em: 30 de jan. 2019.
- BRASIL.; **Instrução Normativa Nº 62, De 29 De Dezembro de 2011. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, Gabinete do Ministro. Disponível em: <<https://www.apcbrh.com.br/files/IN62.pdf>>. Acesso em: 6 fev. 2019.
- CONAB.; **Conjuntura Mensal Especial, Leite e Derivados, Companhia Nacional de Abastecimento**, Brasília, abr. 2017. Disponível em: [http://http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17\\_05\\_15\\_14\\_13\\_38\\_leite\\_abril\\_2017.pdf](http://http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_05_15_14_13_38_leite_abril_2017.pdf)>. Acesso em: 28 fev. 2018.
- COSTA, O. Elisabeth.; et al.; **Estudo da etiologia das mastites bovinas nas setes principais bacias leiteiras do Estado de São Paulo. Napgama**, São Paulo, v.3, n.4, p. 6-13, 2000. Disponível em: <<https://repositorio.usp.br/item/001322489>>. Acesso em: 17 jan. 2019.
- FILGUEIRAS, A. Evandro.; MAGNABOSCO, U. Cláudio.; **Aditivos Probióticos Bacterianos na Alimentação de Bovinos Leiteiros. Universidade Federal de Goiás**, Goiânia, 2011. Disponível em: <[https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/67/o/semi2011\\_Evando\\_\\_Alves\\_\\_2c.pdf](https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/67/o/semi2011_Evando__Alves__2c.pdf)>. Acesso em: 15 jan. 2019.
- GASPAR, B. Emanuelle.; et al.; **Avaliação de Complexo Homeopático para o Tratamento de Mastite Subclínica no Rebanho Leiteiro da Embrapa Pecuária Sul. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 41/ Embrapa Pecuária Sul**, Bagé, 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1082634/avaliacao-de-complexo-homeopatico-para-o-tratamento-de-mastite-subclinica-no-rebanho-leiteiro-da-embrapa-pecuaria-sul>>. Acesso em: 15 jan. 2019.
- HONORATO, A. Luciana.; et al.; **A Interação Humano Animal e a Homeopatia em Bovinos de Leite. Universidade Federal de Santa Catarina**, Florianópolis, Fev, 2006. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/89256/230078.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 15 jan. 2019.
- LEAL, P. Leonardo; COSTA, Cláudio.; **Utilização da Homeopatia para a Redução da Contagem de Células Somáticas (CCS) em Vacas Girolando. PUBVET**, Londrina, V.7, N 14, Ed.237, Art. 1562, Jul, 2013. Disponível em : <<https://www.pubvet.com.br/uploads/8170a7e540c73347aefe8c8abec85f10.pdf>>Acesso em: 30 jan. 2019.
- MANGIÉRI, Junior. R. et al.; **Avaliação de Tratamento Homeopático na Mastite Bovina Subclínica. Revista Veterinária e Zootecnia**, v.14, n.1, p. 91-99, Jun, 2007.
- MANGIERI, Junior. R. et al.; **Avaliação de Tratamento Homeopático na Mastite Ovina Subclínica. Revista Veterinária e Zootecnia**, 22(3): 455-464, Set, 2015. Disponível em:<[https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/veterinaria-e-zootecnia/22-\(2015\)-3/avaliacao-de-tratamento-homeopatico-na-mastite-ovina-subclinica/](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/veterinaria-e-zootecnia/22-(2015)-3/avaliacao-de-tratamento-homeopatico-na-mastite-ovina-subclinica/)>. Acesso em: 08 ago. 2019.

- MASSIGNANI, Caroline.; **Qualidade do Leite de Vacas Submetidas a Tratamento Homeopático para Mastite. Universidade Federal de Santa Catarina**, Florianópolis, 2015. Disponível em:< repositório.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/159999/TCCVERSÃOFINAL08\_12caroline%20pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 15 mar. 2019.
- MAZIERO, Maíke; MURARA, M. Helena; NETO, M. Roberto; **Influência da Contagem de Células Somáticas Sobre os Componentes do Leite. Ver. Ints. Laticínios Cândido Tostes**, Juíz de Fora, v.68, n. 392, p. 18-22, Mai/Jun, 2013. Disponível em:< https://pt.engormix.com/pecuaria-leite/artigos/influencia-contagem-celulas-somaticas-t38456.htm>. Acesso em: 23 jan. 2019.NOB
- MITIDIERO, A. M. Maria.; **Potencial do Uso de Homeopatia, Bioterápicos e Fitoterapia como Opção na Bovinocultura Leiteira: Avaliação dos Aspectos Sanitários e de Produção. Universidade Federal de Santa Catarina**, Florianópolis, 2002. Disponível em: < https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/82532/198173.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 06 ago. 2019.
- NÓBREGA. D. B.; et al.; **Utilização de Composto Homeopático no Tratamento de Mastite Bovina. Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.4, p. 523-537, out/dez., 2009. Disponível em: < http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/v76\_4/nobrega.pdf>. Acesso em: 23 mai. 2019.
- REYNOL V. Morales, et al.; **Efecto de la aplicación del Reylac sobre la Calidad de la Leche en Rebaños con Mastitis Subclínica Bovina. REDVET**, v.1, n. 6 p. 112-127, 2012. Disponível em: < http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012034982>. Acesso em: 08 ago. 2019.
- SILVA, J. R. M. et al.; **Suplementação de Vacas Leiteiras com Homeopatia: Células Somáticas do Leite, Cortisol e Imunidade. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.63, nº4, p. 805-813, 2011. Disponível em:< http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v63n4/03.pdf>. Acesso em: 25 Jan. 2019.
- SILVA, J. R. M, et al.; **Suplementação de Vacas Leiteiras com Homeopatia: Desempenho e Digestibilidade. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.63, nº4, p. 922-930, 2011. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352011000400018&script=sci\_abstract&tIng=pt>. Acesso em: 24 Ago. 2019.
- SOUZA. L. Francisco.; **Homeopathy and immunology. The British Institute of Homeopathy**, London,1998. Disponível em: <http://www.homeopathy2health.com/immunology.pdf>. Acesso em: 23 de fev. 2018.
- XIMENES, N. Gustavo.; **Terapêutica da Mastite Utilizando Medicamentos Homeopáticos. Universidade Federal de Goiás**, Jataí, 2009. Disponível em: < https://veterinaria.jatai.ufg.br/up/178/o/Gustavo%20Naciff%20Ximenes.pdf>. Acesso em 06 ago. 2019.
- ZAFALON, F. Luiz.; ALVES, C. Teresa.; GHAGAS, S. C. Ana.; **Uso da Homeopatia para o Controle da Mastite Subclínica Bovina. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 41/Embrapa Pecuária Sudeste**, São Carlos, 2017. Disponível em: < infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1076420/1/Boletim41.pdf>. Acesso em: 5 jun. 2019.

## AVALIAÇÃO CLÍNICA E DE BEM-ESTAR DOS EQUÍDEOS DE TRACÇÃO DA ZONA URBANA DE PIRES DO RIO – GOIÁS

Data de aceite: 15/05/2020

### **Daniel Barbosa da Silva**

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano  
Urutaí, Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/2632303926331980>

### **Carla Cristina Braz Louly**

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano  
Urutaí, Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/6916213086136790>

### **Carla Faria Orlandini**

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano  
Urutaí, Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/9581101104834461>

### **Iaciara Luana de Xavier Albernaz**

Residente em Clínica e Cirurgia de Grandes Animais – HV (Uniuibe)  
Uberaba, Minas Gerais  
<http://lattes.cnpq.br/4806817855376860>

### **Naílla Crystine de Carvalho Dias**

Médica Veterinária Autônoma  
Goiânia, Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/9590525180967918>

### **Yoshihara Cristina de Sousa**

Médica Veterinária Autônoma  
Caldas Novas, Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/1540447037528914>

### **Suyan Brethel dos Santos Campos**

Médica Veterinária Sócia-proprietária (Saúde Rural)

Goiânia, Goiás

<http://lattes.cnpq.br/5616309332348447>

### **Ana Karolina Camargo**

Médica Veterinária Sócia-proprietária (Saúde Rural)

Goiânia, Goiás

<http://lattes.cnpq.br/5616309332348447>

**RESUMO:** Foram avaliados 14 equídeos de trabalho da cidade de Pires do Rio – Goiás, após a assinatura do termo de ciência e autorização pelos proprietários realizou-se a anamnese e exame físico, pesquisa por hematozoários, contagem de ovos por grama de fezes, além da verificação das condições de manejo. O presente trabalho correlacionou os resultados da avaliação clínica, hematológica, coproparasitológica e de manejo e identificou o estado geral e de bem-estar dos animais. Posteriormente os proprietários foram orientados de acordo com a condição individual dos seus animais, além disso receberam uma cartilha com informações gerais sobre a criação de equídeos de trabalho. Conclui-se que os equídeos de trabalho da zona urbana de Pires do Rio – Goiás foram submetidos a práticas de manejo adequadas, respeitado as condições de

bem-estar animal.

**PALAVRAS-CHAVE:** bem-estar animal, equídeos, Pires do Rio

**ABSTRACT:** 14 working horses from the city of Pires do Rio - Goiás were evaluated, after signing the term of science and authorization by the owners, the anamnesis and physical examination, research by hematozoa, counting of eggs per gram of feces, and verification of management conditions were carried out. The present work correlated results of clinical, hematological, coproparasitological and management evaluation and identified the general and welfare status of the animals. Later the owners were guided according to the individual condition of their animals, in addition they received a booklet with general information about the breeding of working horses. It is concluded that working horses from the urban area of Pires do Rio - Goiás were submitted to appropriate management practices, respecting animal welfare conditions.

**KEYWORDS:** animal welfare, equines, Pires do Rio

## INTRODUÇÃO

Há muitos anos o homem utiliza meios de transporte para se locomover e para a movimentação de cargas. Um dos meios utilizados são as carroças, movidas pela força motriz de equídeos (WSPA, 2006). De acordo com o MET (2010) nas cidades encontram-se pessoas que utilizam esses meios para manter seu sustento. As carroças possuem um papel importante por colaborarem a darem destino aos resíduos de construção civil e a materiais recicláveis, ajudando a manter a cidade limpa, contribuindo também com o meio ambiente (SILVA & VENTURA, 2001; FILHO et al., 2004; MARANHÃO et al., 2006).

Na zona urbana, quando os animais são submetidos ao trabalho pelos carroceiros, estão sujeitos a sofrerem problemas como claudicação, estresse, risco de acidentes de trânsito, condução inadequada por carroceiros destreinados, além de muitas vezes se manterem em instalações inadequadas para que permaneçam enquanto não estão trabalhando (HOUP, 2001). O bem-estar dos animais está diretamente relacionado com o desempenho em suas atividades de trabalho, desta forma, a queda no desempenho pode acarretar alguns problemas para o carroceiro, como a necessidade de aquisição de outros animais, além de prejuízos no rendimento de trabalho. Tais situações podem ser evitadas com a adoção de um manejo correto que preze pelo bem-estar animal.

Considerando os fatores relevantes para o bem-estar animal, faz-se necessário estudos que avaliem as condições gerais e de manejo dos animais de tração. Tais avaliações podem permitir a identificação das principais orientações aos proprietários dos animais de tração necessárias ao bem-estar animal. Desta forma, o presente trabalho objetivou analisar diversos fatores relacionados ao bem-estar dos equídeos de trabalho da cidade de Pires do Rio – Goiás por meio de avaliação clínica, hematológica,

coproparasitológica e de manejo.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram cadastrados 14 animais de trabalho de carroceiros da cidade de Pires do Rio – Goiás. Após a assinatura do termo de ciência e autorização iniciou-se as atividades com os proprietários e seus animais. Realizou-se anamnese e exame físico, pesquisa de hematozoários, contagem de ovos por grama de fezes (OPG), além da verificação das condições de manejo realizadas pelos proprietários. Os equídeos foram analisados por meio de exame físico geral, o qual foi realizado sistematicamente avaliando fatores, como comportamento, condição corporal, grau de hidratação, temperatura corporal, dentre outros (FEITOSA, 2008).

Para a pesquisa de hematozoários, foi realizada a colheita de sangue dos animais (n=14) por meio de punção de 5,0 ml de sangue da veia jugular com agulha 40 x 12, em seguida foram armazenados para a posterior realização da técnica de gota de coágulo (STOBBE et al., 1992).

As coletas de fezes dos animais (n=14), foram realizadas imediatamente após a defecação ou diretamente da ampola retal com o auxílio luvas descartáveis lubrificadas. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e mantidas sob refrigeração em recipiente de isopor com gelo para transporte até o Laboratório de Parasitologia do Instituto Federal Goiano - Câmpus Urutaí, para a realização do teste de Gordon e Whitlock modificado (ABIDU et al., 1999).

Correlacionou-se os resultados dos exames com a avaliação clínica e as condições de manejo dos animais, desta forma, definiu-se o estado geral e de bem-estar dos animais, e assim os proprietários foram orientados de acordo com a condição individual dos seus animais. Além das informações individualizadas recebidas durante a visita os proprietários também receberam uma cartilha com informações gerais sobre a criação de equídeos de trabalho. Toda a conduta experimental seguiu os preceitos exigidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo inclusive, prévia aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-IFGOIANO), sob o processo de nº 9269140416.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 14 animais avaliados, oito eram machos e seis fêmeas, 13 equinos e um muar, com idade entre dois e doze anos. Observou-se que 100% dos animais não apresentaram alterações ao exame clínico geral. Durante a avaliação das condições de manejo os proprietários responderam sobre a desverminação de seus animais, sendo que 21,5% destes afirmaram ter realizado a desverminação há menos de três meses, 14,3% entre três e seis meses, 28,4% há mais de sete meses e 35,7%

alegaram nunca terem realizado. Os equinos são hospedeiros exclusivos de dezenas de espécies diferentes de endoparasitas. De acordo com Cristofolini et al. (2015) grande parte dos animais de tração não recebem tratamento anti-helmíntico ou recebem de forma inadequada, corroborando com a situação observada neste trabalho, pois 35,7% dos proprietários relataram nunca terem desverminado seus animais. Contudo, mesmo com um alto percentual de animais não desverminados nenhum dos animais apresentou alterações clínicas, corroborando com Ferreira (2016) ao afirmar que a relação parasita-hospedeiro pode ocorrer de forma mais ou menos equilibrada, e a severidade dos sinais clínicos varia de acordo com a quantidade de parasitos e situações como stress e mal nutrição.

Nenhum dos animais obtiveram resultado positivo na contagem de de fezes OPG diferentemente do encontrado por Rego et al. (2009) ao estudarem a incidência de endoparasitose em equinos de tração na cidade de Curitiba, onde 33,1% dos animais foram considerados infectados. Portando, não foi possível estabelecer relação entre o tempo de desverminação e a presença de parasitos nas fezes. Mas a grande maioria dos proprietários relataram a utilização de plantas para o controle dos parasitos, todavia, não souberam dizer os nomes dos fitoterápicos. Oliveira et al. (2009) afirmaram que o uso de terapia alternativa com plantas podem controlar parasitos internos. Estudos que comprovem a eficácia de fitoterápicos de uso popular são escassos e a utilização de produtos naturais na criação animal ainda é pouco explorada (CATALAN et al., 2012). Desta forma, tais relatos associados ao fato de que mesmo os animais nunca desverminados apresentaram resultados negativos na contagem de OPG, apontam que são necessários estudos futuros que identifiquem tais plantas e atestem sua eficácia no controle de endoparasitos em equinos.

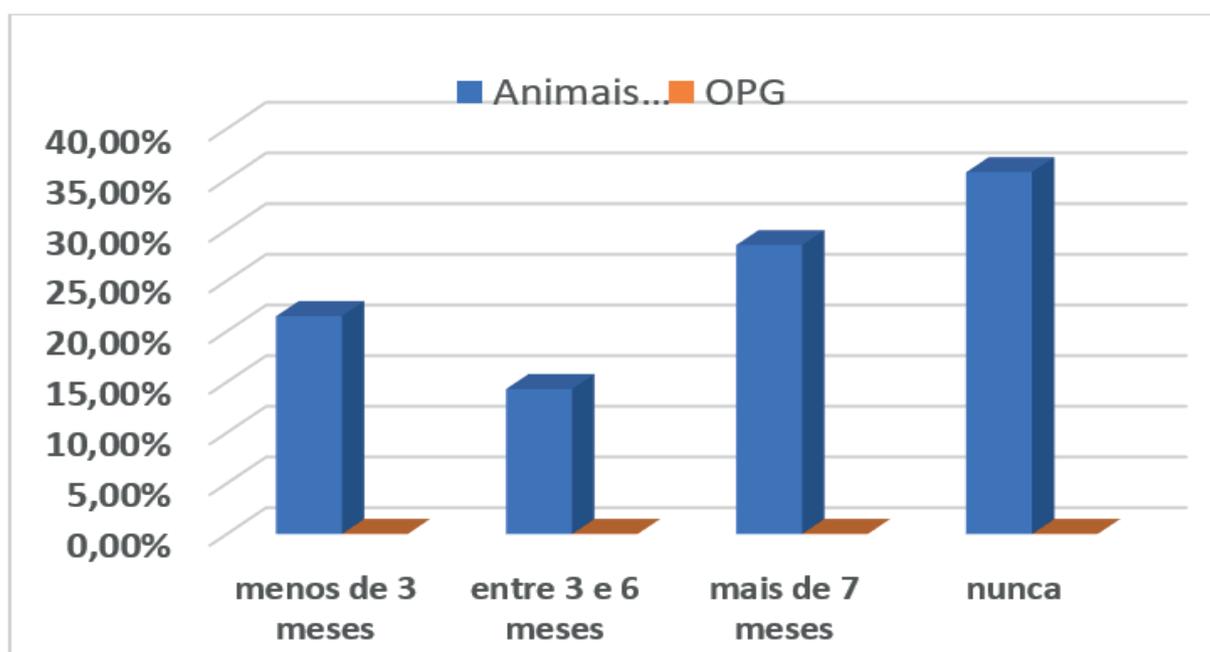


Tabela 1 - Relação entre desverminação e presença de ovos por grama de fezes (OPG) nos equídeos de tração da zona urbana do município de Pires do Rio-Goiás, no ano de 2017.

Junior et al. (2017) afirmam que a falta de informação entre os carroceiros é frequente e que pode resultar em desequilíbrios nutricionais tornando os animais mais susceptíveis à doenças, além de um menor rendimento no trabalho de tração. Diferentemente do observado por Junior et al. (2017) os proprietários dos animais de tração da área urbana do município de Pires do Rio, Goiás demonstraram conhecer não apenas a importância da relação entre a saúde de seus animais e o rendimento no trabalho mas também um conhecimento ainda que parcial das adequadas práticas de manejo, contudo alegam que os custos é fator limitante para executar alguns destes cuidados.

Ao exame clínico, os únicos parâmetros comumente alterados foram as frequências cardíacas e respiratórias, porém a alteração é justificada pela dificuldade dos proprietários em deixarem o animal em repouso antes da avaliação clínica já que havia ansiedade em retornarem as suas atividades. As condições de escore corporal encontradas foram, em geral boas. A avaliação externa, juntamente com a pesquisa por hematozoários, evidenciou o efetivo controle de ectoparasitas realizados pelos proprietários. De acordo com Reichmann (2003), muitas práticas errôneas de manejo comumente empregadas pelos carroceiros na zona urbana são baseadas em informações adquiridas por meio da própria experiência ou advindas de outros colegas de profissão, sem nenhum acompanhamento de profissionais especializados. Dória et al. (2016) descreveram que é frequente encontrar animais de tração em condições precárias de saúde e Chaves et al. (2014) observaram que muitos animais transportaram cargas demasiadamente pesadas em São Luís (MA). Entretanto, não foram observadas tais práticas neste estudo, a isto atribuímos o fato da proximidade do município de Pires do Rio ao Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí, o que proporcionou a difusão da informação por meio dos cursos técnicos, de graduação e por meio de projetos de extensão.

## CONCLUSÃO

Foi perceptível aos executores do projeto a preocupação e o cuidado da maioria dos proprietários com os animais de tração no município de Pires do Rio-Goiás. Porém, verificou-se que os animais não foram adequadamente desverminados, conforme recomenda a literatura, mas contraditoriamente as amostras de fezes de todos os animais foi negativa na contagem de OPG. Este fato, pode ser atribuído ao relato do uso de fitoterápicos com ação parasiticida, contudo serão necessários outros estudos para a confirmação de tal hipótese.

## REFERÊNCIAS

ABIDU, M.; REINECKE, R.; MAIO, F.; GRISI, L.; SCHIAVO, P. **Comparação entre a técnica de Mc Master e do filtro de Visser para a contagem de ovos de helmintos gastrointestinais de**

**equínos.** Parasitol. día v.23 n.3-4 Santiago jul. 1999

CATALAN, A. A. S.; GOPINGER, E.; LOPES, D. C. N.; GONÇALVES, F. M.; ROLL, A. A. P.; XAVIER, E. G.; AVILA, V. S.; ROLL, V. F. B. **Aditivos fitogênicos na nutrição animal: *Panax ginseng*.** Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, v. 107, p. 15-21, 2012.

CRISTOFOLINI, M. M.; FINGER, M. A.; JOÃO HENRIQUE PEROTTA, J. H.; DECONTO, I.; MARCONCIN, S. **Avaliação do perfil hematológico e coproparasitológico de cavalos de tração do município de Pinhais – PR.** 42º Congresso Bras. de Medicina Veterinária e 1o Congresso Sul-Brasileiro da ANCLIVEPA - 31/10 a 02/11 de 2015 - Curitiba - PR

CHAVES, N. P.; BEZERRA D. C.; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. M.; GUERRA, P. C. G.; SILVA, A. L. A. **Ocorrência e fatores de risco associados à identificação da anemia infecciosa equina em equídeos de tração.** Ciência animal brasileira.v.15n.3Goiânia,2014.

DÓRIA, R. G. S.; P ASSARELLI, D.; CHEQUER, T. N.; REGINA TO, G. M.; HAYASAKA, Y. B.; et al. **Investigação clínica e comparação do esfregaço sanguíneo e PCR para diagnóstico de hemoparasitas em equinos de esporte e tração (carroceiros).** Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro,v.36no.8,2016.

FEITOSA, F. L. F. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico: cães, gatos, equinos, ruminantes e silvestres.** 2.ed. São Paulo: Roca, 2008.

FERREIRA, M. S. **Parasitas gastrintestinais em equinos com aptidão de trabalho e desporto no distrito de Santarém.** Portugal. Lisboa. 2016.

FILHO, J. M. S.; PALHARES, M. S.; MARANHÃO, R. P. A. et al. 2004. **Manejo alimentar dos animais de tração da regional Pampulha – Belo Horizonte.** Anais 7o Encontro de Extensão da Universidade Federal de Minas Gerais, 12-15 set., Belo Horizonte, MG.

HOUPPT K. A. 2001. **Equine welfare.**Capturado em 10 de jan. 2020. Online. Disponível na Internet [http://www.ivis.org/advances/Behavior\\_Houpt/houpt3/chapter\\_frm.asp?LA=1](http://www.ivis.org/advances/Behavior_Houpt/houpt3/chapter_frm.asp?LA=1)

JUNIOR, S. C. S.; SANTOS, K. R.; GIRELLI, G. C. **Bem-estar e sanidade de animais utilizados para tração animal no município de Parnaíba, Piauí.** Enciclopédia Biosfera, v. 14, n. 26, p. 84-95, 2017.

MARANHÃO, R. P. A.; PALHARES, M. S.; MELO, U. P.; REZENDE, H. H. C.; BRAGA, C. E.; SILVA FILHO, J. M.; VASCONCELOS, M. N. F. 2006. **Afecções mais frequentes do aparelho locomotor dos equídeos de tração no município de Belo Horizonte.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 58(1):21-27.

Ministério do Trabalho e Emprego - MTE. 2010. **Classificação brasileira de ocupações.** 3a ed. Vol. 2. MTE, Brasília. 594p. Capturado em 19 de maio 2010. Online. Disponível na Internet <http://www.mteco.gov.br/cbosite/pages/download?tipoDownload= 2>

OLIVEIRA, L. S. T.; SILVA, S. L. C.; TAVARES, D. C.; SANTOS, A. V.; OLIVEIRA, G. C. B. **Uso de plantas medicinais no tratamento de animais.** Enciclopédia Biosfera, v. 5, n. 8, p. 1-8, 2009.

REGO, D. X.; SCHMEIL, B.R.P.; SCHILLER, J.W. et al. **Incidência de endoparasitas e ectoparasitas em equinos do município de Curitiba – PR.** Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais, v. 7, p. 281-287, 2009.

REICHMANN P. Projeto Carroceiro: 10 anos de atuação. *Estação*, n.2, p.1-3, 2003.

SILVA L. V. & VENTURA V. N. 2001. **Correção ambiental e reciclagem com carroceiros.** São Paulo: Programa Gestão Pública e Cidadania, São Paulo, p.12. Capturado em 20 de maio 2010. Online.

STOBBE, N. S.; CHAPLIN, E. L.; PAIVA, M. G. S.; SILVA, N. R. S.; ARAÚJO F. A. P. & FORTES, E. Diagnóstico de hemoparasitose através da técnica **de distensão de distensão de gota de coágulo sanguíneo**. Braz. J. Res. Anim. Sci. v. 29, p. 390-393, 1992.

World Society for the Protection of Animals - WSPA. 2006. **Conceitos em bem-estar animal. Curso de Docência em Bem-Estar Animal**, 11-13 maio 2010, Belo Horizonte, MG. 1 CD-ROM.

## AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE HIDROLISADOS PROTEICOS OBTIDOS A PARTIR DE VÍSCERAS DE BOVINOS

*Data de aceite: 15/05/2020*

### **Thailan Arlindo da Silva**

Universidade Federal do Agreste de Pernambuco  
Garanhuns - Pernambuco  
<http://lattes.cnpq.br/5371447938003091>

### **Keila Aparecida Moreira**

Universidade Federal do Agreste de Pernambuco  
Garanhuns - Pernambuco  
<http://lattes.cnpq.br/6589137488914452>

### **Wellington Leal dos Santos**

Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal  
Recife - Pernambuco  
<http://lattes.cnpq.br/6417801338031111>

### **Edson Flávio Teixeira da Silva**

Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal  
Recife - Pernambuco  
<http://lattes.cnpq.br/6788630196847634>

**RESUMO:** A conversão de subprodutos de abatedouros em componentes com propriedades funcionais empregando enzimas, soluciona problemas econômicos e de saúde devido ao descarte inadequado destes resíduos. Os componentes com propriedades funcionais, principalmente peptídeos bioativos, desempenham função biológica, fisiológica e bioquímica no organismo. Diante do exposto,

a realização do presente trabalho visou a investigação das características e aplicações biotecnológicas dos peptídeos obtidos pela hidrólise enzimática de vísceras bovinas por meio da ação de duas enzimas comerciais, a tripsina e a pepsina, empregando-se um planejamento composto central rotacionado com oito ensaios e duas repetições no ponto central. O software utilizado para realizar a análise estatística foi o SISVAR, versão 5.6, DEX-UFLA. A média de hidrólise para a pepsina foi de 18,43%, já para a tripsina a hidrólise se mostrou mais eficaz alcançando uma média de grau de hidrólise de 63,96%. Quanto a atividade de quelação de íons de cobre e ferro, os hidrolisados da pepsina apresentaram médias de quelação de 51,03% e 51,74%, respectivamente. Enquanto os hidrolisados da tripsina apresentaram média de quelação de 17,77% para o cobre e de 77,44% para o ferro. Frente as atividades de eliminação de radicais livres (ABTS, DPPH, hidroxila e superóxido), os hidrolisados de ambas as enzimas se mostraram eficientes, demonstrando taxas de quelação acima de 65,43% para todas as atividades, atingindo níveis máximos de quelação do radical hidroxila pelos hidrolisados da pepsina. Com os resultados da pesquisa é possível constatar o potencial biotecnológico dos hidrolisados das vísceras bovinas (coração, fígado e pulmão), sendo uma fonte de peptídeos bioativos com

atividade antioxidante de quelação de íons metálicos (ferro e cobre) e de eliminação de radicais livres (hidroxila, superóxido, DPPH e ABTS) *in vitro*, com potencial de se tornarem agentes antioxidantes de uso comercial passíveis de serem utilizados na indústria alimentícia, farmacêutica e química.

**PALAVRAS-CHAVE:** Peptídeos, hidrólise, vísceras, bioprodutos, bovinos.

## EVALUATION OF FUNCTIONAL PROPERTIES OF PROTEIN HYDROLYSIS OBTAINED FROM OF CATTLE VINCERS

**ABSTRACT:** The conversion of slaughterhouse by-products into components with functional properties using enzymes, solves economic and health problems due to the inappropriate disposal of these residues. The components with functional properties, mainly bioactive peptides, perform biological, physiological and biochemical functions in the body. In view of the above, this study aimed at investigating the biotechnological characteristics and applications of peptides obtained by enzymatic hydrolysis of bovine viscera through the action of two commercial enzymes, trypsin and pepsin, using a central compound rotated with eight trials and two repetitions at the central point. The software used to perform the statistical analysis was SISVAR, version 5.6, DEX-UFLA. The average hydrolysis rate for pepsin was 18.43%, whereas for trypsin hydrolysis was more effective, reaching an average hydrolysis degree of 63.96%. Regarding the chelation activity of copper and iron ions, pepsin hydrolysates showed chelation averages of 51.03% and 51.74%, respectively. While trypsin hydrolysates showed an average chelation of 17.77% for copper and 77.44% for iron. In view of the free radical scavenging activities (ABTS, DPPH, hydroxyl and superoxide), the hydrolysates of both enzymes proved to be efficient, showing chelation rates above 65.43% for all activities, reaching maximum levels of radical chelation. hydroxyl by pepsin hydrolysates. With the results of the research, it is possible to verify the biotechnological potential of the bovine viscera hydrolysates (heart, liver and lung), being a source of bioactive peptides with antioxidant activity of metal ion chelation (iron and copper) and free radical scavenging (hydroxyl, superoxide, DPPH and ABTS) *in vitro*, with the potential to become antioxidants for commercial use that can be used in the food, pharmaceutical and chemical industry.

**KEYWORDS:** Peptides, hydrolysis, viscera, bioproducts, cattle.

## 1 | INTRODUÇÃO

Os peptídeos bioativos, podem ser definidos como componentes proteicos contendo de 2 a 20 aminoácidos que, além do seu valor nutricional, exercem um efeito regulatórios no organismo animal por meio da interação com receptores específicos localizados nas células de órgãos específicos, ou pela indução de respostas fisiológicas (RYAN *et al.*, 2011; RAIKOS e DASSIOS, 2014). Dentre funções modulatórias, pode-se citar ação anti-hipertensiva, antioxidante, agonista opioide, imunomoduladora,

antimicrobiana, prebiótica, antitrombótica e hipocolesterolêmica (CHABANCE *et al.*, 1998; RYAN *et al.*, 2011; COSTA *et al.*, 2014; MOHANTY *et al.*, 2016; LORENZO *et al.*, 2018), além da suas ações terapêuticas, como por exemplo no tratamento de equinos atletas com osteoartrite a partir de suplementação alimentar com peptídeos bioativos de colágeno (DOBENECKER *et al.*, 2018).

De acordo com Morales-Medina *et al.* (2016), a conversão de subprodutos de matadouros, em particular as vísceras, alguns órgãos, sangue e resíduos da indústria cárnea que são descartados ou ineficientemente aproveitados em componentes com propriedades funcionais a partir da hidrólise enzimática, pode solucionar problemas econômicos e de saúde pública devido ao descarte inadequado destes resíduos. A utilização de enzimas proteolíticas para obtenção destes bioprodutos oriundos de subprodutos do abate de animais, aumenta o valor agregado e a lucratividade destas empresas, beneficiando também a população em termos de saúde pública e geração de uma nova fonte de renda.

A atividade antioxidante desempenhada por peptídeos bioativos baseia-se na diminuição dos processos oxidativos e da formação de moléculas conhecidas como espécies reativas de oxigênio (ROS, *reactive oxygen species*) (GU *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2015; MARQUES *et al.*, 2015), que podem atacar lipídios de membranas plasmáticas, proteínas e DNA (ácido desoxirribonucleico), causando, desta forma, muitas doenças, tais como doenças cardiovasculares, diabetes, câncer e doença de Alzheimer, que afetam tanto animais quanto humanos (RYAN *et al.*, 2011).

Por sua vez, a oxidação lipídica pode causar deterioração da qualidade dos alimentos e redução na vida útil do produto, além do consumo de alimentos contendo produtos de oxidação lipídica estar associado a inúmeras doenças (ESTERBAUER, 1993; GIMÉNEZ, 2009; RYAN *et al.*, 2011).

Os peptídeos bioativos antioxidantes apresentam grande vantagem, do ponto de vista comercial, em relação aos antioxidantes sintéticos, já que estes estão sobre legislação específica o que restringe seu uso. Desta forma, os antioxidantes naturais, tais como os peptídeos bioativos, merecem destaque, além de apresentarem alta eficiência e segurança (GU *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2015; MARQUES *et al.*, 2015). Diante do exposto, o presente trabalho visa investigar as características e aplicações biotecnológicas dos peptídeos obtidos pela hidrólise enzimática destes subprodutos do abate.

## 2 | METODOLOGIA

As vísceras bovinas, coração, fígado e pulmão, foram obtidas de fornecedores locais, situados em mercados públicos de municípios do agreste pernambucano. As vísceras foram coletadas logo após o abate, acondicionadas e transportadas sob refrigeração (4 °C), lavadas, pesadas, trituradas, homogeneizadas e armazenadas sob

congelamento (-18 °C) até a realização das análises e/ou utilização para obtenção dos hidrolisados proteicos, apresentando período de armazenamento inferior a 60 dias na proporção 1:3 (m/v). Posteriormente empregou-se um planejamento composto central rotacionado com oito ensaios e duas repetições no ponto central. Variando o tempo de hidrólise e a relação enzima: substrato (Tabela 1).

Hidrolisado	Tempo de hidrólise <sup>a</sup>	[E]:[S] <sup>b</sup>
1	60	1:90
2	60	1:30
3	180	1:90
4	180	1:30
5	35	1:60
6	205	1:60
7	120	1:112
8	120	1:25
9	120	1:60
10	120	1:60

<sup>a</sup>Minutos. <sup>b</sup>Relação Enzima/substrato (p/p).

Tabela 1. Planejamento composto central rotacionado para hidrólise enzimática de vísceras bovinas empregando pepsina e tripsina.

Para hidrólise das vísceras foram empregadas duas enzimas de origem animal, a pepsina (pH 2,0 e 37 °C) e a tripsina (pH 8,0 e 37 °C), respeitando suas condições ótimas de atividade.

O teor de aminoácidos liberados pela hidrólise das vísceras (grau de hidrólise) foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Benjakul e Morrissey (1997) com algumas modificações. Foram empregados 31,25 µL do hidrolisado, 0,5 mL de tampão fosfato de sódio (pH 8,2; 0,2 M), em seguida adicionou-se 250 µL de solução de TNBS (ácido 2,4,6-trinitrobenzenossulfônico) a 0,01%. A mistura reacional foi incubada em banho maria a 50 °C por 30 minutos. A reação foi interrompida com a adição de 0,5 mL de sulfito de sódio (0,1 M). A mistura foi mantida ao abrigo da luz por 15 minutos a temperatura ambiente (25 °C). A absorbância foi lida a 420 nm em espectrofotômetro (Biochrom LibraS22, Reino Unido) e os aminoácidos expressos em relação a L-leucina. O grau de hidrólise (GH) foi calculado de acordo com a equação:  $\left[ \frac{A_t - A_0}{A_{\max} - A_0} \right] \times 100$ . Onde  $A_t$  é a quantidade de ligações peptídicas clivadas no tempo t.  $A_0$  é a quantidade de aminoácido presente no substrato original.  $A_{\max}$  é a quantidade de aminoácidos presentes na amostra original obtidos após hidrólise ácida (HCl 6 M a 100 °C durante 24 horas).

A atividade quelante de ferro foi realizada de acordo com a metodologia descrita em Sánchez-Vioque *et al.* (2012) com modificações, empregando 125 µL dos hidrolisados, misturados a 0,5 mL de tampão acetato de sódio (0,1 M e pH 4,9) e a 12,5 µL de solução Fe<sup>2+</sup> (2 mM). Após 30 minutos de incubação, foi adicionado 50 µL de

solução ferrozina (5mM), e decorrido mais 30 minutos foi realizada leitura em 562 nm (CARTER, 1971), em espectrofotômetro. A atividade quelante de cobre foi realizada de acordo com a metodologia descrita Saiga *et al.* (2003) com modificações, em que 0,5 mL de tampão acetato de sódio (pH 6,0, 50 mM) misturado a 12,5  $\mu$ L de solução de  $\text{CuSO}_4$  (5mM) e 125  $\mu$ L do hidrolisado. Essa mistura foi incubada por 30 minutos e em seguida adicionado 12,5  $\mu$ L da solução de violeta de pirocatecol (4mM), após mais 30 minutos de incubação, a mistura foi lida a 632 nm em espectrofotômetro. Para ambas as atividades o controle negativo foi realizado com água ao invés da amostra, o controle positivo foi realizado com solução de EDTA a 0,045%, a porcentagem de inibição foi determinada de acordo com a equação:

$$\text{Atividade quelante (\%)} = \left[ \frac{(A_{\text{Controle}} - A_{\text{Amostra}})}{A_{\text{Controle}}} \right] * 100$$

O ensaio de eliminação do radical hidroxila foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Li *et al.* (2008) com modificações propostas por Pownall *et al.* (2010). Foram homogeneizados 50 $\mu$ L da amostra contendo os diferentes hidrolisados, 50  $\mu$ L de 1,10-fenantrolina (3 mM) dissolvido em tampão fosfato de sódio (0,1 M, pH 7,4), 50  $\mu$ L de  $\text{FeSO}_4$  (3 mM) e 30  $\mu$ L de tampão fosfato de sódio (0,2 M, pH 7,4) em microplacas de 96 poços de poliestireno (Corning®, Tewksbury, MA). Após 5 minutos, 50  $\mu$ L de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (0,01%) foi adicionado para iniciar a reação de eliminação. A mistura reacional foi incubada por 1 h a 37 °C, a absorbância foi mensurada a 536 nm empregando leitor de microplaca. A atividade de eliminação do radical hidroxila foi calculado de acordo com a equação:

$$\text{Atividade quelante do radical } OH^{\cdot} (\%) = \left( \frac{A_{\text{Amostra}} - A_{\text{Degradada}}}{A_{\text{não degradada}} - A_{\text{Degradada}}} \right) * 100$$

Onde, os grupos degradados contêm todos dos reagentes envolvidos na reação, exceto pelo uso de água substituída pela amostra. O grupo não-degradado possui as soluções da amostra do grupo degradado exceto pelo uso de água substituindo o  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

A atividade de eliminação do radical superóxido foi determinada de acordo com o método descrito por Pownall *et al.* (2010), com modificações, no qual foram empregados 80  $\mu$ L das amostras hidrolisadas e misturadas a 80  $\mu$ L de tampão Tris-HCl-EDTA 50 mM (pH 8,3 contendo 1 mM de EDTA). A mistura reacional foi incubada a 25 °C por 10 minutos. Posteriormente, adicionou-se 40  $\mu$ L de solução de pirogallol 1,5 mM, empregou-se tampão Tris-HCl-EDTA como controle. A absorbância foi determinada a 420 nm por 4 minutos. A capacidade de eliminação do radical superóxido

foi quantificada de acordo com a equação:

$$\begin{aligned} & \textit{Atividade de elimina\c{c}\~{a}o do \^{\text{a}}nion super\^{\text{o}}xido (\%)} \\ & = \frac{\Delta A_{\text{Controle}} / \text{min} - \Delta A_{\text{Amostra}} / \text{min}}{\Delta A_{\text{Controle}} / \text{min}} * 100 \end{aligned}$$

Na qual,  $A_{\text{controle}} / \text{min}$  representa a absorb\~{a}ncia por minuto da solu\c{c}\~{a}o controle contendo pirogalol e tamp\~{a}o, e  $A_{\text{amostra}} / \text{min}$  representa a absorb\~{a}ncia por minuto da amostra.

O efeito de elimina\c{c}\~{a}o das amostras frente ao radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrasil) foi determinado de acordo com a metodologia previamente descrita por Yen e Chen (1995), modificada por Li *et al.* (2008). A mistura reacional consistiu em 100  $\mu\text{L}$  da amostra contendo os hidrolisados e 100  $\mu\text{L}$  de solu\c{c}\~{a}o etan\^{\text{o}}lica de DPPH 0,16 mM. A rea\c{c}\~{a}o foi incubada por 30 min no escuro, e a absorb\~{a}ncia mensurada a 517 nm. A habilidade de elimina\c{c}\~{a}o do radical DPPH foi calculado usando a equa\c{c}\~{a}o:

$$\textit{Elimina\c{c}\~{a}o do radical DPPH (\%)} = \left[ 1 - \left( \frac{A_{\text{amostra}} - A_{\text{amostra branco}}}{A_{\text{Controle}}} \right) \right] * 100$$

Onde, o  $A_{\text{amostra}}$  \^{\text{e}} a absorb\~{a}ncia das amostras,  $A_{\text{amostra branca}}$  \^{\text{e}} a absorb\~{a}ncia da amostra sem o DPPH e  $A_{\text{controle}}$  \^{\text{e}} a absorb\~{a}ncia do controle (solu\c{c}\~{a}o de DPPH sem amostra).

O ensaio de atividade antioxidante envolveu a elimina\c{c}\~{a}o do radical c\~{a}tion ABTS<sup>+</sup>, gerado a partir da oxida\c{c}\~{a}o de 2,2' - azinobis - 3 - etilbenzotiazolina - 6 - \^{\text{a}}cido sulf\^{\text{o}}nico (ABTS) 7 mM com persulfato de pot\~{a}sio 2,45 mM pr\^{\text{e}}-incubados ao abrigo da luz por 12-16 horas antes da utiliza\c{c}\~{a}o. A solu\c{c}\~{a}o ABTS<sup>+</sup> foi ajustada para absorb\~{a}ncia de 0,70 $\pm$ 0,02 a 734 nm em espectrof\^{\text{o}}t\^{\text{o}}metro, por dilui\c{c}\~{a}o em tamp\~{a}o fosfato 5 mM, sendo realizado de acordo com metodologia descrita por Re *et al.* (1999), modificada por Chang *et al.* (2013). Uma al\^{\text{i}}quota de 50  $\mu\text{L}$  da amostra foi misturada a 950  $\mu\text{L}$  da solu\c{c}\~{a}o dilu\^{\text{i}}da de ABTS<sup>+</sup>, a mistura reacional foi incubada por 10 minutos a abrigo da luz a temperatura ambiente (24  $^{\circ}\text{C}$ ). A absorb\~{a}ncia da rea\c{c}\~{a}o foi mensurada a 734 nm e a atividade de elimina\c{c}\~{a}o do radical ABTS foi calculada de acordo com a equa\c{c}\~{a}o:

$$\textit{Efeito de elimina\c{c}\~{a}o do radical ABTS (\%)} = \left[ \left( \frac{A_{\text{Controle}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{Controle}}} \right) \right] * 100$$

Onde, o  $A_{\text{amostra}}$  \^{\text{e}} a absorb\~{a}ncia das amostras, e  $A_{\text{controle}}$  \^{\text{e}} a absorb\~{a}ncia do controle negativo empregando \^{\text{a}}gua destilada.

Por fim, para realiza\c{c}\~{a}o da an\~{a}lise estat\^{\text{i}}stica, os par\~{a}metros foram analisados

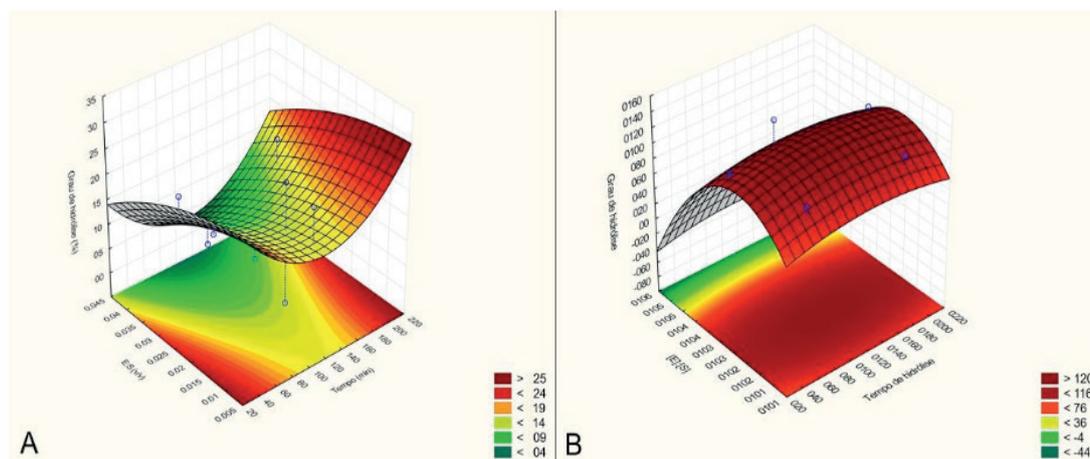
em triplicata e os dados expressos em média. Diferenças significativas entre as vísceras submetidas a diferentes tratamentos enzimáticos e tempo de hidrólise foram obtidas através da avaliação de diferenças entre as médias empregando-se o teste de comparação múltiplas de Tukey utilizado o software SISVAR, versão 5.6, DEX-UFLA (FERREIRA, 2014).

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a análise dos resultados do grau de hidrólise das vísceras bovinas coração, fígado e pulmão, submetidas à ação de duas enzimas pepsina e tripsina, é possível constatar que a média de hidrólise para a pepsina foi de 18,43%, já para a tripsina a hidrólise se mostrou mais eficaz alcançando uma média de grau de hidrólise de 63,96%. Os tratamentos que alcançaram maior hidrólise pelo emprego da pepsina foram 1 (28,17%), 2 (41,32%), 4 (25,11) e 5 (22,70%) não diferindo estatisticamente entre si ( $p < 0,05$ ). Por sua vez, os hidrolisados gerados pela ação da tripsina sobre as vísceras que apresentaram maiores valores de grau de hidrólise foram os ensaios 3 (72,66%), 5 (74,47%), 8 e 10 (ambos com 100%) não sendo verificada diferença estatisticamente relevante entre eles ( $p < 0,05$ ).

Os resultados obtidos com a hidrólise de vísceras bovinas nesta pesquisa se mostram semelhantes aos dados encontrados por Ramírez *et al.* (2016), nos quais obtiveram os valores máximos de grau de hidrólise de 5,25%, 22,22% e 23,83% a partir da hidrólise enzimática de vísceras de peixe empregando pepsina, pancreatina e a associação das duas, respectivamente, durante 390 minutos.

Na figura de superfície de resposta para a hidrólise das vísceras pela pepsina (Figura 1A), é possível constatar que os tratamentos que apresentam a melhor combinação de tempo de hidrólise e proporção enzima:substrato para potencializar o grau de hidrólise são aqueles que possuem um tempo de hidrólise entre 180 a 220 minutos, e proporção enzima:substrato (volume/volume) de 0,005 a 0,025. Demonstra uma baixa eficiência enzimática na hidrólise destes bioprodutos. Por outro lado, o gráfico de superfície resposta para os hidrolisados da tripsina (Figura 1B), apresenta uma configuração diferente, na qual a capacidade hidrolítica das enzimas não é afetada pelo tempo de exposição destas ao substrato.



(A) hidrolisados da pepsina e (B) hidrolisados da tripsina.

Figura 1. Superfície de resposta da relação entre o tempo de hidrólise e proporção enzima:substrato (E:S) para obtenção do grau de hidrólise das vísceras submetidas à hidrólise enzimática de acordo com o planejamento composto central rotacionado 2<sup>2</sup>.

A atividade de quelação de cobre pelos hidrolisados está representada na tabela 2. A ação da pepsina sobre as vísceras bovinas resultou na obtenção de hidrolisados com considerável atividade de quelação deste íon, com média de quelação de 51,03%. Os tratamentos que resultaram em hidrolisados com maior capacidade quelante foram 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9 e 10, não sendo verificada diferença estatisticamente significativa entre eles ( $p < 0,05$ ). No entanto, os hidrolisados obtidos pela atividade da tripsina não apresentaram quelação de cobre significativa, quando comparados com os hidrolisados gerados pela ação da pepsina. Os produtos da hidrólise da tripsina apresentaram uma média de quelação de cobre de 17,77%, sendo o tratamento 7 (120 minutos de hidrólise e relação enzima:substrato de 1:112) o que alcançou a maior porcentagem de quelação. No entanto, os tratamentos de 1 a 9 não diferiram estatisticamente ( $p > 0,05$ ).

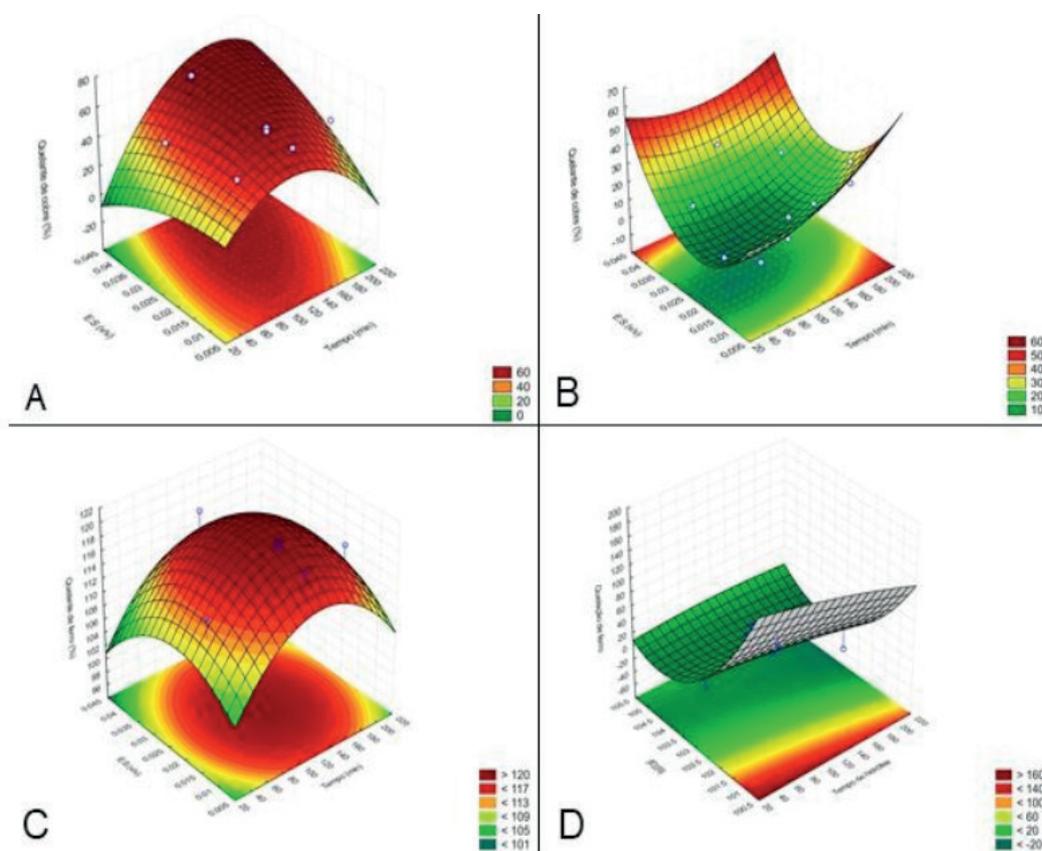
Tratamento	Quelação de íons de cobre (%)		Quelação de íons de ferro (%)	
	Tripsina	Pepsina	Tripsina	Pepsina
1	7,51 ± 5,27 <sup>ab</sup>	50,83 ± 4,70 <sup>ab</sup>	71,70 ± 6,02 <sup>ab</sup>	62,74 ± 8,70 <sup>a</sup>
2	12,26 ± 5,27 <sup>ab</sup>	43,04 ± 4,70 <sup>ab</sup>	83,38 ± 6,02 <sup>ab</sup>	60,17 ± 8,70 <sup>a</sup>
3	27,28 ± 5,27 <sup>ab</sup>	28,73 ± 4,70 <sup>a</sup>	61,30 ± 6,02 <sup>a</sup>	65,73 ± 8,70 <sup>a</sup>
4	19,95 ± 5,27 <sup>ab</sup>	63,02 ± 4,70 <sup>b</sup>	82,84 ± 6,02 <sup>ab</sup>	51,60 ± 8,70 <sup>a</sup>
5	8,38 ± 5,27 <sup>ab</sup>	28,48 ± 4,70 <sup>a</sup>	73,20 ± 6,02 <sup>ab</sup>	38,93 ± 8,70 <sup>a</sup>
6	28,63 ± 5,27 <sup>b</sup>	47,83 ± 4,70 <sup>ab</sup>	94,38 ± 6,02 <sup>b</sup>	43,17 ± 8,70 <sup>a</sup>
7	30,18 ± 5,27 <sup>b</sup>	60,17 ± 4,70 <sup>b</sup>	81,81 ± 6,02 <sup>ab</sup>	47,70 ± 8,70 <sup>a</sup>
8	27,96 ± 5,27 <sup>ab</sup>	65,52 ± 4,70 <sup>b</sup>	82,95 ± 6,02 <sup>ab</sup>	45,46 ± 8,70 <sup>a</sup>
9	13,90 ± 5,27 <sup>ab</sup>	62,67 ± 4,70 <sup>b</sup>	71,00 ± 6,02 <sup>ab</sup>	48,34 ± 8,70 <sup>a</sup>
10	1,70 ± 5,27 <sup>a</sup>	60,02 ± 4,70 <sup>b</sup>	71,84 ± 6,02 <sup>ab</sup>	53,59 ± 8,70 <sup>a</sup>
Média	17,77 ± 5,27	51,03 ± 4,70	77,44 ± 6,02	51,74 ± 8,70
CV 1 (%)	15,96	51,34	29,13	13,46
CV 2 (%)	33,15	68,61	14,12	3,38

Os resultados representam a média das triplicatas e seu respectivo desvio padrão. Médias indicadas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de significância de 5%. CV 1: coeficiente de variação dos ensaios. CV 2: coeficiente de variação das enzimas.

Tabela 2. Atividade quelante de íons de cobre e ferro dos hidrolisados das vísceras bovinas obtidos por hidrólise enzimática.

De acordo com Saiga et al. (2003) a capacidade de se ligar à íons metálicos ( $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Cu}^{2+}$ ) dos peptídeos, assim como das proteínas, baseia-se na presença de aminoácidos de caráter ácido (grupamento carboxila em sua cadeia ramificada) e básico (grupamento amino em sua cadeia ramificada) na sua estrutura. Os resultados sobre a atividade de quelação de  $\text{Cu}^{2+}$  pelos hidrolisados de vísceras bovinas corroboram os de Liu *et al.* (2010) que identificaram uma expressiva capacidade quelante de  $\text{Cu}^{2+}$  pelos hidrolisados de proteínas do plasma suíno obtidos pela hidrólise da alcalase, onde a atividade quelante aumenta de acordo com o grau de hidrólise, oscilando de 24,23% de quelação com 6,2% de hidrólise para 44,45% com 17,6% de hidrólise, justificado pela maior liberação de peptídeos com aminoácidos básicos e ácidos.

Na figura 2A é possível observar a superfície resposta para quelação de cobre pela associação do tempo de hidrólise da pepsina sobre as vísceras e a relação enzima:substrato, que demonstra a alta eficiência desta enzima na obtenção de hidrolisados com capacidade quelante de cobre. Por conseguinte, a figura 2B possui a relação entre o tempo de hidrólise da tripsina e a proporção enzima:substrato na obtenção de hidrolisados com capacidade de quelar íons de cobre, revelando um menor potencial biotecnológico desta enzima para a geração de hidrolisados queladores deste íon a partir de vísceras bovinas.



A. Quelação de cobre pelos hidrolisados da pepsina; B. quelação de cobre pelos hidrolisados da tripsina; C. quelação de ferro pelos hidrolisados da pepsina; D. quelação de ferro pelos hidrolisados da tripsina.

Figura 2. Superfície de resposta da relação entre o tempo de hidrólise e proporção enzima:substrato (E:S) para a quelação de íons metálicos pelos hidrolisados oriundos da ação da enzimática de acordo com o planejamento composto central rotacionado 2<sup>2</sup>.

Quanto a atividade de quelação de íons de ferro, os hidrolisados obtidos pela ação das duas enzimas gastrointestinais (pepsina e tripsina) sobre as vísceras bovinas demonstraram apreciáveis porcentagens de quelação desse íon (Tabela 3). A média de quelação de ferro pelos hidrolisados da tripsina foi de 77,44%, sendo observada diferença significativa apenas entre o tratamento 3 (180 minutos de hidrólise e relação de enzima:substrato de 1:90), com a menor capacidade quelante de 61,30% , e o tratamento 6 (205 minutos de hidrólise e relação de enzima:substrato de 1:60), que apresentou maior atividade quelante de ferro de 94,38%. Por sua vez, os hidrolisados da pepsina apresentaram média de 51,74% de quelação de íons ferrosos, não sendo verificada diferença estatisticamente relevante entre os tratamentos. Desta forma, como os hidrolisados da pepsina não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos para a atividade de quelação de ferro, o tratamento que apresenta melhor custo benefício é o 2 (60 minutos de hidrólise e relação enzima:substrato de 1:30) já que possui uma pequena relação enzima:substrato associado a um menor tempo de hidrólise.

Esses dados corroboram a pesquisa de Yi et al. (2017) no qual a partir da hidrólise enzimática da pele de carpa-do-limo (*Ctenopharyngodon idella*) encontraram uma capacidade que quelação de ferro de 40% e 60% para os hidrolisados obtidos pela ação associada de colagenase e tripsina por 20,4 horas e 21,9 horas, respectivamente, e de 95% para os hidrolisados gerados pela alcalase® por 1,6 horas. De forma menos expressiva quanto a quelação de ferro, WU et al. (2017) através da hidrólise enzimática da gelatina de bacalhau do Pacífico, identificaram uma capacidade de quelação deste íon de 12%, 6% e 9% para os hidrolisados obtidos da proteólise da tripsina, alcalase e flavoenzima, respectivamente, por 120 minutos em condições ótimas para cada enzima. Outros autores como Jamdar et al. (2010) e Thiansilakul et al. (2007) identificaram alta capacidade de quelação de Fe<sup>2+</sup> em hidrolisados de proteínas do amendoim obtidos pela atividade da alcalase e hidrolisados de proteínas musculares de peixes (*Decapterus m. urussii*), respectivamente.

A figura 2C contém a superfície resposta para a quelação de ferro pela associação do tempo de hidrólise da pepsina sobre as vísceras bovinas com a proporção enzima:substrato de acordo com o planejamento composto central rotacionado 2<sup>2</sup>, onde é possível visualizar que os hidrolisados com maior capacidade quelante para esse íon são aqueles obtidos por uma combinação de relação [E]:[S] entre 0,015 a 0,035 com tempo de hidrólise entre 80 a 160 minutos. Já em relação aos hidrolisados da tripsina (Figura 2D), é possível observar que a maior capacidade quelante de ferro ocorre por hidrolisado obtidos por uma junção de baixa relação [E]:[S] (100.5 a 101.5) e tempos de hidrólise reduzidos (20 a 80 minutos), o que revela um baixo custo-

benefício para obtenção de bioprodutos com ação antioxidante de quelação de ferro pelo emprego da tripsina sobre as vísceras bovinas.

Analisando a capacidade dos hidrolisados em eliminar os radicais hidroxila e superóxido *in vitro* (Tabela 4), foi constatado que esses bioprodutos obtidos da hidrólise enzimática de vísceras bovinas empregando diferentes relações enzima:substrato e tempos de exposição às enzimas apresentam alta capacidade de eliminação do radical hidroxila, em todas as condições aplicadas (exceto no tratamento 5 da tripsina no qual foi empregado 35 minutos de hidrólise e uma relação enzima:substrato de 1:60), obtendo uma média de eliminação de 100% para os hidrolisados da tripsina e de 95,95% para os hidrolisados da pepsina, não apresentando diferença estatisticamente relevante ( $p < 0,05$ ) entre as enzimas. Apesar de uma menor taxa de eliminação do radical superóxido quando comparados ao radical hidroxila, os hidrolisados se mostraram eficientes na eliminação desse radical livre, sendo observado uma média de eliminação de 81,02% para os hidrolisados da tripsina e de 65,43% para os bioprodutos gerados pela ação da pepsina.

Tratamento	Eliminação do radical hidroxila (%)		Eliminação do radical superóxido (%)	
	Tripsina	Pepsina	Tripsina	Pepsina
1	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	84,9 ± 4,04	61,73 ± 14,92
2	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	78,92 ± 1,61	65,51 ± 6,77
3	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	78,18 ± 2,63	62,63 ± 2,70
4	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	76,98 ± 1,37	43,64 ± 10,29
5	59,5 ± 10,15	100,0 ± 0,00	72,94 ± 2,02	78,62 ± 11,64
6	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	79,67 ± 3,76	70,25 ± 11,35
7	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	84,15 ± 2,02	49,48 ± 27,06
8	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	81,76 ± 1,12	76,83 ± 22,99
9	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	87,59 ± 2,07	75,93 ± 15,98
10	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	85,05 ± 0,52	65,62 ± 16,07
Média	95,95 ± 12,80	100,0 ± 0,00	81,02 ± 4,48	65,43 ± 11,57

Os resultados representam a média das triplicatas e seu respectivo desvio padrão.

Tabela 3. Atividade de eliminação de radicais livres *in vitro* pelos hidrolisados das vísceras bovinas obtidos por hidrólise enzimática.

A figura 3A contém o gráfico de superfície resposta para a eliminação do radical superóxido pelos hidrolisados da tripsina, onde é possível visualizar que os hidrolisados com maior capacidade de eliminação para esse radical são aqueles obtidos pelos ensaios com alta relação enzima:substrato, não sendo relevante o tempo de hidrólise.

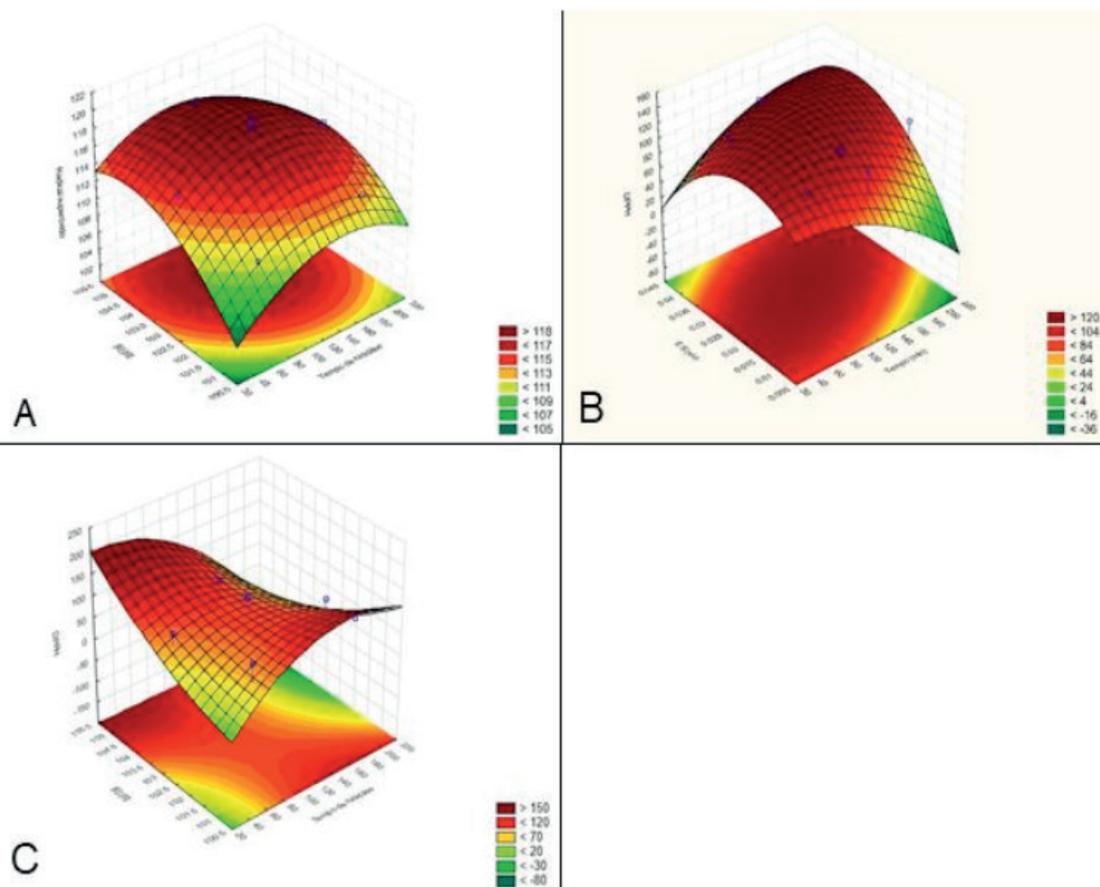


Figura 3. Superfície de resposta da relação entre o tempo de hidrólise e proporção enzima:substrato (E:S) para a atividade de eliminação dos radicais livres pelos hidrolisados oriundos da ação da enzimática de acordo com o planejamento composto central rotacionado  $2^2$ .

A. eliminação do radical superóxido pelos hidrolisados oriundos da ação tripsina; B. eliminação do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) pelos hidrolisados oriundos da ação da pepsina; C. eliminação do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) pelos hidrolisados oriundos da ação da tripsina.

Outrossim, os dados das taxas de eliminação dos radicais DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) e  $ABTS^{+•}$  (2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) estão listados na tabela 5. Foi constatado que os hidrolisados da pepsina possuem maior capacidade de eliminação do radical DPPH em comparação com os da tripsina, sendo uma média de eliminação de 78,68% e 68,74%, respectivamente. Apenas os tratamentos 2 (60 minutos de hidrólise e relação [E]:[S] de 1:30) e 6 (205 minutos de hidrólise e relação [E]:[S] de 1:60) da tripsina e o tratamento 3 (180 minutos de hidrólise e relação [E]:[S] de 1:80) da pepsina não apresentaram poder de eliminação para esse radical. Por outro lado, os bioprodutos gerados pela ação da tripsina demonstraram maior eficiência de eliminação do radical ABTS (97,88% de eliminação) em comparação aos hidrolisados da pepsina (94,51% de eliminação). Sendo que os tratamentos 3, 7, 8, 9 e 10 da tripsina apresentaram máximo poder de eliminação do radical ABTS *in vitro*.

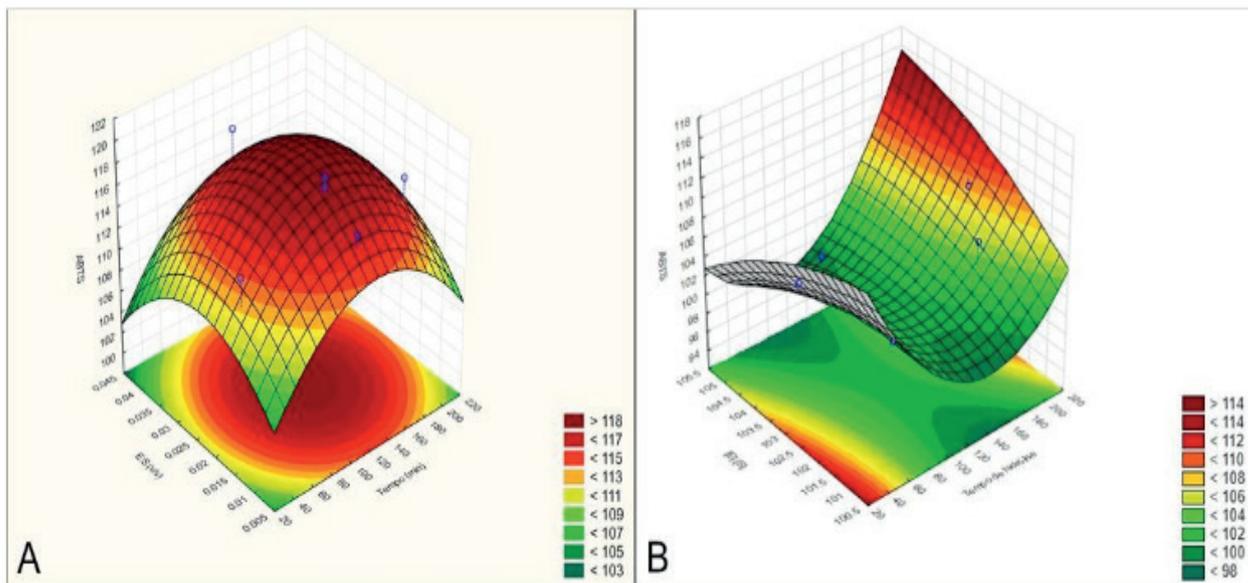
Tratamento	Eliminação do radical DPPH (%)		Eliminação do radical ABTS (%)	
	Tripsina	Pepsina	Tripsina	Pepsina
1	38,51 ± 7,83	78,98 ± 33,49	96,75 ± 0,77	95,65 ± 0,24
2	0,00 ± 0,00	22,83 ± 9,37	96,75 ± 0,97	93,63 ± 2,81
3	100,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	90,52 ± 0,26
4	100,00 ± 0,00	56,25 ± 6,55	99,32 ± 0,06	92,30 ± 0,10
5	84,07 ± 7,63	80,12 ± 7,82	87,06 ± 4,17	98,39 ± 0,30
6	0,00 ± 0,00	76,49 ± 9,04	98,97 ± 0,18	93,36 ± 0,06
7	96,11 ± 27,69	76,60 ± 7,30	100,00 ± 0,00	97,60 ± 0,26
8	89,05 ± 12,72	73,27 ± 5,98	100,00 ± 0,00	92,37 ± 0,76
9	94,55 ± 27,10	68,71 ± 6,98	100,00 ± 0,00	95,38 ± 0,62
10	85,11 ± 32,78	70,26 ± 6,47	100,00 ± 0,00	95,86 ± 0,93
Média	68,74 ± 40,34	78,98 ± 33,43	97,88 ± 4,02	94,51 ± 2,50

Os resultados representam a média das triplicatas e seu respectivo desvio padrão.

Tabela 4. Atividade de eliminação de radicais livres pelos hidrolisados das vísceras bovinas obtidos por hidrólise enzimática.

Os gráfico de superfície resposta para a eliminação do radical DPPH pelos hidrolisados da pepsina e tripsina de acordo com o planejamento composto central rotacionado 2<sup>2</sup> (Figuras 3B e 3C, respectivamente), demonstram que os hidrolisados da pepsina que associam elevada relação [E]:[S] com prolongado tempo de hidrólise e baixa relação [E]:[S] com tempo de hidrólise reduzido, apresentam menor capacidade de eliminação desse radical. Em contrapartida, os hidrolisado da tripsina que apresentam associações de menor relação [E]:[S] com tempo de hidrólise reduzido e elevada relação [E]:[S] com tempo de hidrólise aumentado são os que demonstraram menor eficiência como agentes antioxidantes para a eliminação do radical DPPH.

As figuras 4A e 4B contêm a superfície resposta da ação antioxidante de eliminação do radical ABTS dos hidrolisados da pepsina e tripsina, por essa ordem. É possível atestar que os hidrolisados da pepsina que apresentam maior capacidade antioxidante para esse radical são aqueles obtidos pelos ensaios do planejamento composto central rotacionado 2<sup>2</sup> que associam relações enzima:substrato medianas (0,015 a 0,030) com tempos de hidrólise entre 80 e 160 minutos. Já para os hidrolisados da tripsina, aqueles gerados pela associação de altas relações enzima:substrato com duradouros tempos de hidrólise (180 a 220 minutos) apresentam maior poder de eliminação do radical ABTS.



A. hidrolisados da pepsina; B. Hidrolisados da tripsina.

Figura 4. Superfície de resposta da relação entre o tempo de hidrólise e proporção enzima:substrato (E:S) para a atividade de eliminação do radical ABTS pelos hidrolisados oriundos da ação enzimática de acordo com o planejamento composto central rotacionado  $2^2$ .

#### 4 | CONCLUSÕES

Com os resultados da pesquisa é possível constatar o potencial biotecnológico dos hidrolisados das vísceras bovinas (coração, fígado e pulmão), sendo uma fonte de peptídeos bioativos com atividade antioxidante de quelação de íons metálicos (ferro e cobre) e de eliminação de radicais livres (hidroxila, superóxido, DPPH e ABTS) *in vitro*. A utilização das enzimas comerciais pepsina e tripsina se mostra eficaz na obtenção de peptídeos com capacidade antioxidante a partir de materiais de descarte em abatedouros (vísceras bovinas) e as relações enzima:substrato utilizadas no planejamento composto central rotacionado  $2^2$  se mostram igualmente efetivas na liberação por hidrólise destes bioprodutos, apresentando uma favorável relação custo-benefício. Os hidrolisados da pepsina, apesar de apresentarem um menor grau de hidrólise se comparados aos da tripsina, apresentam maior atividade antioxidante de quelação de cobre e eliminação do radical DPPH. Por sua vez, os hidrolisados obtidos da ação proteolítica da tripsina, que se mostra a enzima mais eficaz na hidrólise das vísceras, revelam um maior poder de quelação de íons de ferro e eliminação dos radicais superóxido e ABTS. No que concerne a eliminação do radical hidroxila, os hidrolisados de ambas as enzimas apresentam boa eficiência antioxidante para essa atividade. Desta forma, o hidrolisados de vísceras bovinas demonstram potencial biotecnológico de se tornarem agentes antioxidantes de uso comercial passíveis de serem utilizados na indústria alimentícia, farmacêutica e química.

## REFERÊNCIAS

- BENJAKUL, S.; MORRISSEY, M.T. Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, n.9, p.3423-3430, 1997.
- CARTER, P. Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). **Analytical biochemistry**, v. 40, n. 2, p. 450-458, 1971.
- CHABANCE, B.; MARTEAU, P.; RAMBAUD, J. C.; MIGLIORE-SAMOUR, D.; BOYNARD, M.; PERROTIN, P.; FIAT, A. M. Casein peptide release and passage to the blood in humans during digestion of milk or yogurt. **Biochimie**, v.80, n.2, p.155-165, 1998.
- CHANG, O. K.; SEOL, K. H.; JEONG, S. G.; OH, M. H.; PARK, B. Y.; PERRIN, C.; HAM, J. S. Casein hydrolysis by *Bifidobacterium longum* KACC91563 and antioxidant activities of peptides derived therefrom. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 9, p. 5544-5555, 2013.
- COSTA, W. K. A.; DE SOUZA, E. L.; BELTRAO-FILHO, E. M.; VASCONCELOS, G. K. V.; SANTI-GADELHA, T.; GADELHA, C. A.; MAGNANI, M. Comparative protein composition analysis of goat milk produced by the Alpine and Saanen breeds in northeastern Brazil and related antibacterial activities. **PloS One**, v.9, n.3, p.e93361-e93361, 2014.
- DOBENECKER, B.; REESE, S.; JAHN, W.; SCHUNCK, M.; HUGENBERG, J.; LOULTON, H.; OESSER, S. Specific bioactive collagen peptides (PETAGILE®) as supplement for horses with osteoarthritis: A two-centred study. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.102, p.16-23, 2018.
- ESTERBAUER, H. Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.57, n.5, p.779S-786S, 1993.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia [online]**, v.38, n.2, p.109-112, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>.
- GIMÉNEZ, B.; ALEMÁN, A.; MONTERO, P.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. Antioxidant and functional properties of gelatin hydrolysates obtained from skin of sole and squid. **Food Chemistry**, v.114, n.3, p.976-983, 2009.
- GU, M.; CHEN, H.; ZHAO, M.; WANG, X.; YANG, B.; REN, Y.; SU, G. Identification of antioxidant peptides released from defatted walnut (*Juglans sigillata* Dode) meal proteins with pancreatin. **LWT - Food Science and Technology**, v.60, n.1, p.213 -220, 2015.
- JAMDAR, S. N.; RAJALAKSHMI, V.; PEDNEKAR, M. D.; JUAN, F.; YARDI, V.; SHARMA, A. Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate. **Food Chemistry**, v.121, n.1, p.178-184, 2010.
- LI, Y.; JIANG, B.; ZHANG, T.; MU, W.; LIU, J. Antioxidant and free radical-scavenging activities of chickpea protein hydrolysate (CPH). **Food Chemistry**, v. 106, n. 2, p. 444-450, 2008.
- LIU, J.; JIN, Y.; LIN, S.; JONES, G.S.; CHEN, F. Purification and identification of novel antioxidant peptides from egg white protein and their antioxidant activities. **Food Chemistry**, v.175, p.258-266, 2015.
- LIU, Q.; KONG, B.; XIONG, Y. L.; XIA, X. Antioxidant activity and functional properties of porcine plasma protein hydrolysate as influenced by the degree of hydrolysis. **Food Chemistry**, v.118, n.2, p.403-410, 2010.
- LORENZO, J. M.; MUNEKATA, P. E.; GOMEZ, B.; BARBA, F. J.; MORA, L.; PÉREZ-SANTAESCOLÁSTICA, C.; TOLDRÁ, F. Bioactive peptides as natural antioxidants in food products - A

review. **Trends in Food Science & Technology**, v.79, p.136-147, 2018.

MARQUES, M.R.; FREITAS, R.A.M.S.; CARLOS, A.C.C.; SIGUEMOTO, E.S.; FANTNORI, G.G.; ARÊAS, J.A.G. Peptides from cowpea present antioxidant activity, inhibit cholesterol synthesis and its solubilisation into micelles. **Food Chemistry**, v.168, p.288-293, 2015.

MOHANTY, D.P.; MOHAPATRA, S.; MISRA, S.; SAHU, P.S. Milk derived bioactive peptides and their impact on human health - a review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.23, n.5, p.577-583, 2016.

MORALES-MEDINA, R.; TAMM, F.; GUADIX, A. M.; GUADIX, E. M.; DRUSCH, S. Functional and antioxidant properties of hydrolysates of sardine (*S. pilchardus*) and horse mackerel (*T. mediterraneus*) for the microencapsulation of fish oil by spray drying. **Food Chemistry**, v.194, p.1208-1216, 2016.

POWNALL, T. L.; UDENIGWE, C. C.; ALUKO, R. E. Amino acid composition and antioxidant properties of pea seed (*Pisum sativum L.*) enzymatic protein hydrolysate fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 8, p. 4712-4718, 2010.

RAIKOS, V.; DASSIOS, T. Health-promoting properties of bioactive peptides derived from milk proteins in infant food: a review. **Dairy Science e Technology**, v.94, n.2, p.91-101, 2014.

RAMÍREZ, J. A.; MORA, M. G.; VÁQUIRO, H. A.; SOLANILLA, J. F. Hidrólisis enzimática de vísceras de pescado utilizando pepsina y pancreatina. **Agronomía Colombiana**. v.34, n.1, p.S1013-S1015, 2016.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology and medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

RYAN, J.T.; ROSS, R.P.; BOLTON, D.; FITZGERALD, G.F.; STANTON, C. Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish. **Nutrients**, v.3, n.9, p.765-791, 2011.

SAIGA, A. I.; TANABE, S.; NISHIMURA, T. Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.12, p.3661-3667, 2003.

SÁNCHEZ-VIOQUE, R.; RODRÍGUEZ-CONDE, M. F.; REINA-UREÑA, J. V.; ESCOLANO-TERCERO, M. A.; HERRAIZ-PEÑALVER, D.; SANTANA-MÉRIDAS, O. In vitro antioxidant and metal chelating properties of corm, tepal and leaf from saffron (*Crocus sativus L.*). **Industrial Crops and Products**, v.39, p.149-153, 2012.

THIANSILAKUL, Y.; BENJAKUL, S.; SHAHIDI, F. Compositions, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad (*Decapterus maruadsi*). **Food Chemistry**, v. 103, n. 4, p. 1385-1394, 2007.

WU, W.; LI, B.; HOU, H.; ZHANG, H.; ZHAO, X. Identification of iron-chelating peptides from Pacific cod skin gelatin and the possible binding mode. **Journal of Functional Foods**, v. 35, p. 418-427, 2017.

YEN, G. and CHEN, H. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their anti-mutagenicity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 1, p. 27-32, 1995.

YI, J.; DE GOBBA, C.; SKIBSTED, L. H.; OTTE, J. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory and antioxidant activity of bioactive peptides produced by enzymatic hydrolysis of skin from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 5, p. 1129-1144, 2017.

## EFEITOS DO ÓLEO DE NEEM (*Azadirachta indica* A. JUSS.) NO DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO DE *Chrysomya megacephala* (FABRICIUS, 1794) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)

Data de aceite: 15/05/2020

### Daniele da Silva Luz

Laboratório de Controle Biológico, Morfologia e Citogenética de Insetos, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, CEP: 87020-900, Brasil.

### Ana Elisa Moraes de Oliveira

Laboratório de Controle Biológico, Morfologia e Citogenética de Insetos, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, CEP: 87020-900, Brasil.

### Ronaldo Roberto Tait Callefe

Laboratório de Controle Biológico, Morfologia e Citogenética de Insetos, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, CEP: 87020-900, Brasil.

### Helio Conte

Laboratório de Controle Biológico, Morfologia e Citogenética de Insetos, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, CEP: 87020-900, Brasil.

**RESUMO:** A espécie *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) popularmente conhecida como mosca varejeira, possui grande importância médico-veterinária, pois é vetor de

inúmeras doenças para humanos e animais. Essas moscas possuem hábitos sinantrópicos, permitindo sua rápida proliferação em diferentes ambientes, pois apresentam considerável resistência a alterações ambientais. Devido a essas características, é fundamental o controle deste inseto, buscando o controle alternativo para substituir compostos químicos por naturais. O óleo de neem é uma destas alternativas, pois, de acordo com pesquisas possui alto potencial de controle de diversos insetos, inclusive *C. megacephala*. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo a aplicação do óleo de neem em diferentes concentrações (1%, 2%, 4% e 10%) sobre larvas em primeiro instar de *C. megacephala*. A concentração com maior indicativo de mortalidade, tanto em larvas como pupas foi a de 10%, com eficiência de 12,5% e 37% respectivamente. Analisando o modo de aplicação do óleo de neem, foi observado que este causou efeito na sobrevivência para esta espécie, considerando que registrou elevada taxa de sobreviventes nos tratamentos contendo o composto, em contraste com o grupo controle. O óleo de neem não foi eficiente no controle de *C. megacephala* submergindo as larvas nas diluições por dois minutos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Controle alternativo; azadiractina; insetos; bioinseticida.

**ABSTRACT:** The *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae), commonly known as blowfly, have great medical-veterinary importance, vectoring various diseases to human and animals. These blowflies are synanthropic, enable rapid proliferation in different environmental since have resistance to environmental alterations. Owing to these characteristics, the insect control is necessary, seeking out the alternative control to substitute to replace chemical compounds with natural ones. The neem extract is one of those alternatives because, according to research, it has a high potential for controlling various insects, including *C. megacephala*. Thus, the present work aimed to apply neem oil in different concentrations (1%, 2%, 4% and 10%) on larvae in the first instar of *C. megacephala*. The concentration with higher mortality of larvae and pupae was the 10%, with 12,5% and 37% of efficiency, respectively. Analyzing the mode of application of neem oil, it was observed that it caused an effect on survival for this species, considering that it registered a high rate of survivors in treatments containing the compound, in contrast to the control group. Neem oil was not efficient in controlling *C. megacephala* by submerging the larvae in dilutions for two minutes. Analyzing the application of neem oil, it was observed that it caused an effect on survival for this species, considering that it registered a high rate of survivors in treatments containing the compound, in contrast to the control group. Neem oil was not efficient in controlling *C. megacephala* by submerging the larvae in dilutions for two minutes.

**KEYWORDS:** Alternative control; azadiractin; insects; bioinsecticide.

## INTRODUÇÃO

Alguns dípteros são considerados de grande importância médico-veterinária por serem vetores de inúmeras doenças (enterovírus, bactérias entéricas, esporos de fungos, cistos de protozoários, ovos e larvas de helmintos), as larvas de algumas espécies são consideradas pragas na pecuária e podem causar miíase em animais e humanos (MELLO, 2007). Em contrapartida, possuem importante papel na decomposição de matéria orgânica, terapia larval e entomologia forense (GOMES, VON ZUBEN, SANCHES, 2003).

O gênero *Chrysomya* utiliza diversas fontes para se alimentar, possui fácil adaptação às alterações ambientais e tem adquirido hábito de frequentar locais como, depósitos de lixo a céu aberto, aterro sanitário e carcaças de animais, características estas que facilitam seu desenvolvimento em diferentes ambientes (LIMA, LUZ, 1991).

Uma das espécies da família *Calliphoridae* é a *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (mosca varejeira) que atua como inseto sinantrópico (CARVALHO et al, 2004; WELLS, 1991), ou seja, aprendeu a conviver com a sociedade e são transmissores de doenças. Foi observado que os adultos de *C. megacephala* transmitem mais patógenos que a mosca doméstica (Prefeitura Municipal de São Paulo, 2018; MEHDI et. al, 2018)

Devido ao aumento populacional e a maior quantidade de resíduos gerados,

contribuíram para aumentar a quantidade de moscas, por isso vem se tornando necessário um controle desses insetos, de maneira segura, sem agressão a biodiversidade, de acordo com a cultura local, sem torna-los resistentes ao controle e com a menor geração de resíduos tóxicos possíveis (AXTELL, 1981).

A aplicação de controle de pragas visando maior consciência ambiental é chamada de controle biológico, esse foi substituído por substâncias químicas após 1940, com a descoberta dos inseticidas, porém, sua elevada toxicidade vem acarretando resistência nos insetos. Diante disso o controle biológico vem ganhando novamente maior aplicabilidade, já que seu objetivo é controlar pragas com utilização de predadores, parasitoides, patógenos e compostos naturais (LEGNER & POORBAUGH, 1972).

Uma das maneiras de controle alternativo é a utilização de compostos orgânicos, tendo como exemplo uma árvore da família Meliaceae, o neem (*Azadirachta indica* A. Juss), proveniente da Índia, a qual possui ampla aplicabilidade sendo utilizada há muito tempo, desde controle de insetos pragas, fungos, bactérias, medicina humana e animal até a fabricação de cosméticos, reflorestamento e paisagismo. Nos dias de hoje existem compostos químicos ativos que atuam sobre mais de 200 espécies de insetos. Pesquisas esclarecem que produtos de origem natural são muito mais seguros que outros de origem sintética, que por sua vez são utilizados em maior quantidade no controle de insetos, podendo ser altamente tóxicos para mamíferos (JÚNIOR, 2003).

O neem possui como principal ação a fagoinibição, sendo a substância azadiractina, responsável por inibir a alimentação dos insetos, afeta o desenvolvimento larval, interfere na regulação hormonal, responsável pela metamorfose dos insetos jovens, prejudicando assim na reprodução dos adultos e estudos registram modificações no desenvolvimento de ovos (JÚNIOR, 2003).

O controle de *C. megacephala* é importante e necessário já que essa espécie possui relevante interesse médico-veterinário, pois são vetores de diferentes agentes patogênicos. Desta forma este trabalho poderá fornecer subsídios que auxiliem na identificação e comprovação da eficiência de um método alternativo de controle, utilizando um composto bioativo extraído naturalmente de uma planta.

Visando a maior segurança da população e animais, evitando a contaminação com patologias, cujas moscas são transmissoras, tendo em vista a necessidade da minimização do uso de pesticidas, sem causar prejuízo à biodiversidade, o presente trabalho teve como objetivo analisar em condições laboratoriais a efetividade e alterações morfológicas causadas pelo óleo de neem em larvas de *C. megacephala*, através de tratamento por imersão das larvas em primeiro instar durante três dias.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Insetos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Controle Biológico, Morfologia e Citogenética de Insetos, do Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, da Universidade Estadual de Maringá (UEM), *Campus Maringá*, PR.

As moscas da espécie *C. megacephala* foram adquiridas da criação existente no laboratório, capturadas no entorno da Universidade Estadual de Maringá (UEM), município de Maringá/PR, (Latitude: 23°25'S; Longitude: 51°57'W e Altitude de 596 metros) com iscas de carne sendo criadas e mantidas em laboratório (CALEFFE et al, 2015).

Os imaturos foram mantidos em potes de polipropileno de 500 mL e alimentados com dieta artificial (10 g de leite em pó, 10 g de levedo de cerveja, 0,8 g de ágar, 0,5 g de caseína e 0,2 g de nipagin (Leal et al., 1982), diluídos em 100 mL de água destilada). Ao atingirem estágio de pupa foram dispostos em pote de polipropileno de 250 mL.

Os adultos de *C. megacephala* foram mantidos em recipientes de plástico transparente (24 cm x 33 cm x 27,5 cm) e alimentados com dieta artificial em placa de Petri contendo, 8 g de leite em pó, 8 g de levedo de cerveja e 8 g de açúcar (GARCIA, 1993) e outra placa de Petri com algodão e água destilada visando manter umidade no ambiente.

### Óleo de Neem

O óleo de neem utilizado foi o Naturalneem Original emulsificado, fabricado pela empresa Base Fertil Agronegócios LTDA ME, com 2000 ppm de azadiractina e 98% de pureza, garantido pelo fabricante com registro no Ministério da Saúde nº 3.4191.0002 – Aut. Funcionamento MS 3.04191-1. O fabricante do Naturalneem recomenda a diluição a 1% utilizando 10 mL do produto em 1 litro de água, portanto, para as concentrações de 1%, 2%, 4% e 10% foram pipetados 1 mL, 2 mL, 4 mL e 10 mL respectivamente na proveta de 100 mL, e completando com água destilada. A concentração em ppm das diluições correspondem a 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, 200 ppm para 1%, 2%, 4% e 10% respectivamente

### Bioensaios com as larvas

Após a eclosão dos ovos, foram retiradas as larvas de primeiro instar e submetidas aos tratamentos. Estes consistiram na imersão das larvas por dois minutos na solução contendo o produto ou em água para o controle, sendo repetido este procedimento durante três dias seguidos. Foram realizados cinco tratamentos (controle, 1%, 2%, 4% e 10%) em triplicata, contendo 15 larvas em cada réplica, totalizando 225 larvas. Durante todo experimento as larvas permaneceram em BOD com temperatura ( $26 \pm 2^\circ\text{C}$ ), umidade de  $60 \pm 10\%$  e fotofase (12:12 D:N).

Após 24 horas, foram quantificadas larvas vivas em cada repetição. Ao atingirem estágio de pupa foram transferidas para potes de polipropileno de 250 mL contendo serragem, vedado por tecido de voal. Foi analisada a emergência dos adultos, mantidos no mesmo recipiente das pupas, até sua morte para análise de mortalidade das pupas e malformações.

Para analisar a ação do neem, levou-se em consideração a eficiência larvicida e de emergência. Para isso foi utilizado a fórmula:  $[(\text{soma das larvas vivas no grupo controle} - \text{soma das larvas vivas no grupo tratado}) / \text{soma das larvas vivas no grupo controle}] \times 100$ , para o cálculo de eficiência larvicida. E para o cálculo da eficácia de emergência de adultos foi aplicado a seguinte fórmula:  $[(\text{soma dos adultos emergidos no grupo controle} - \text{soma dos adultos emergidos no grupo tratado}) \div \text{soma dos adultos emergidos no grupo controle}] \times 100$  (Fernandes et al., 2010).

### Análises estatísticas

Os valores de mortalidade larval e pupal foram submetidos à análise estatística utilizando o software Statistica com aplicação de Anova ( $p < 0,05$ ). A análise da variância foi seguida por aplicação do teste de Tukey para comparação entre as médias, verificar a precisão dos dados e identificar as diferenças entre as concentrações do óleo de neem.

## RESULTADOS

Com base na análise dos dados observaram-se diferenças estatísticas significativas na mortalidade larval quando utilizou óleo de neem. A aplicação do teste de Tukey permitiu identificar que a diferença na mortalidade das larvas se deu apenas entre os grupos com concentrações de 1% e 10%. Os restantes dos grupos não divergiram estatisticamente entre si na mortalidade de larvas ( $F = 4.4$ ,  $p = 0,02$ ) e pupas ( $F = 1.2$ ,  $p = 0.4$ ). A média da mortalidade larval e pupal nos grupos controle e nos grupos tratados, com as diferentes concentrações de neem encontram-se listados na Tabela 1 e Gráfico 1, e a eficácia do óleo de neem contra larvas e pupas está apresentada na Tabela 2.

Tratamento	Mortalidade larval	Mortalidade pupal
Controle	4,33 ( $\pm 1,527$ ) <sup>a</sup>	1,66 ( $\pm 0,577$ ) <sup>a</sup>
1%	1,66 ( $\pm 2,081$ ) <sup>a,b</sup>	1,33 ( $\pm 1,527$ ) <sup>a</sup>
2%	2 ( $\pm 1$ ) <sup>a</sup>	2,33 ( $\pm 2,309$ ) <sup>a</sup>
4%	5 ( $\pm 1$ ) <sup>a</sup>	1,33 ( $\pm 1,154$ ) <sup>a</sup>
10%	5,66 ( $\pm 1,527$ ) <sup>a,c</sup>	3,66 ( $\pm 1,527$ ) <sup>a</sup>

Letras iguais não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Tabela 1. Mortalidade larval e pupal de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) expostas a diferentes concentrações de óleo de neem. Valor médio ( $\pm$ desvio padrão).

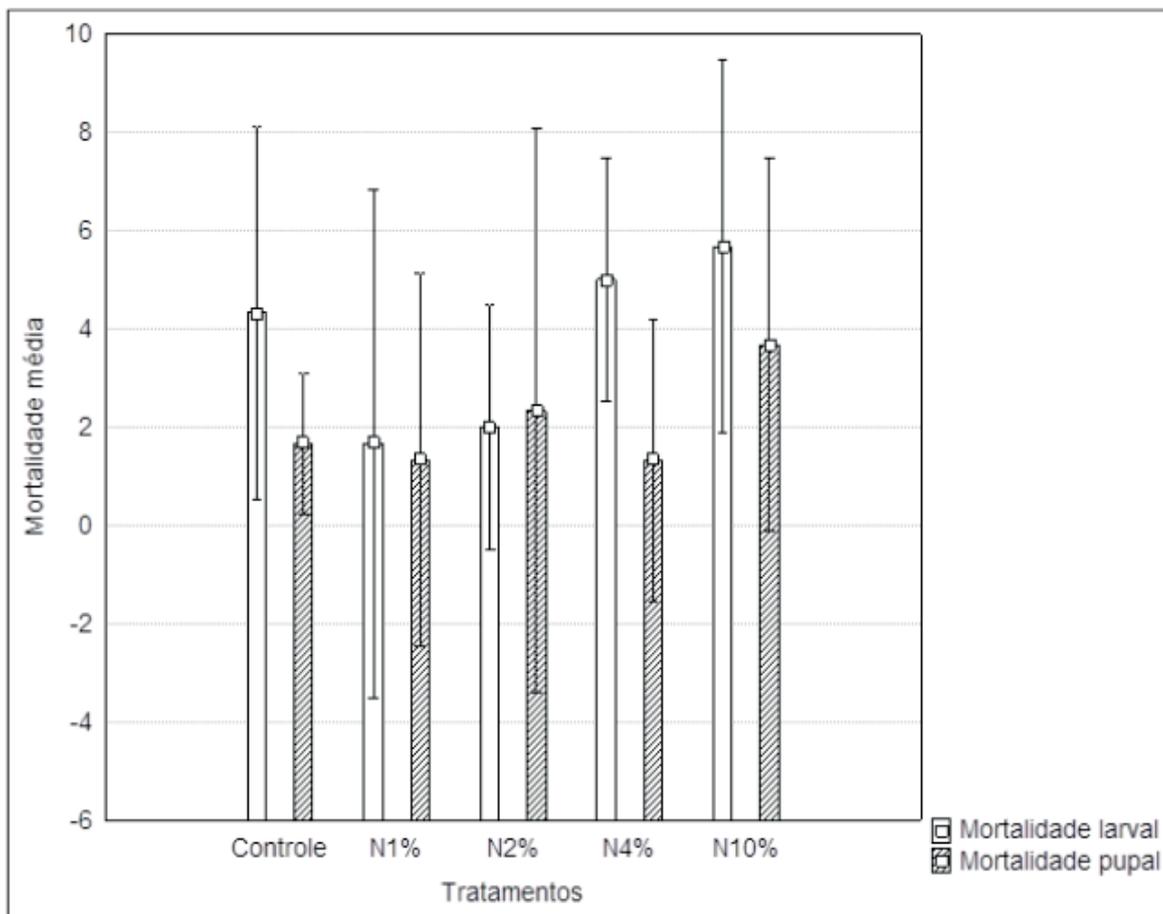


Gráfico 1. Mortalidade larval e pupal de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) expostas a diferentes concentrações de óleo de neem. Valor médio ( $\pm$ desvio padrão).

Tratamento	Eficiência larval (%)	Eficiência pupal (%)
1%	- 25	0
2%	-22	-18
4%	6,25	3,70
10%	12,5	37

Tabela 2. Eficiência do controle larval e pupal de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) expostas a diferentes concentrações de óleo de neem.

Durante o desenvolvimento do experimento, as larvas do controle, 1%, 2% e 4% começaram a abandonar o substrato após 144 horas para pupação, já as larvas da concentração de 10% começaram a empupar com 168 horas, ou seja, com 24 horas de diferença. Nas 45 larvas de cada concentração, foi possível observar o escurecimento e possível melanização em concentrações de 1% (1 larva) e 10% (3 larvas) (Figura 1).

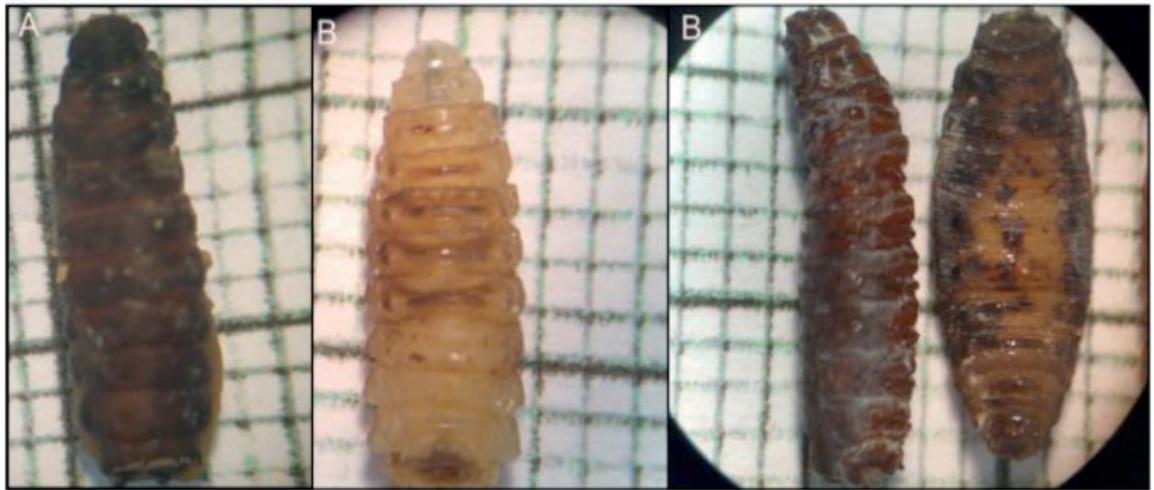


Figura 1. Larvas de *Chrysomya megacephala* com escurecimento e possível melanização. A) 1% e B) 10%.

Analisando as pupas formadas, a emergência de adultos no controle e nos tratamentos com concentrações de 1 e 2% iniciaram após 240 horas de desenvolvimento. Nos tratamentos com concentrações de 4 e 10% a emergência iniciou-se após 264 horas, também com 24 horas de diferença. Foram verificadas malformações nas pupas submetidas aos tratamentos e na concentração de 2% uma pupa apresentou emergência incompleta em um adulto. Nos tratamentos com concentrações de 1 e 10% somente uma mosca emergiu com asas atrofiadas, enquanto na concentração de 4% dois adultos emergidos apresentaram malformação, com redução corporal, coloração escura e asas atrofiadas (Figura 2).

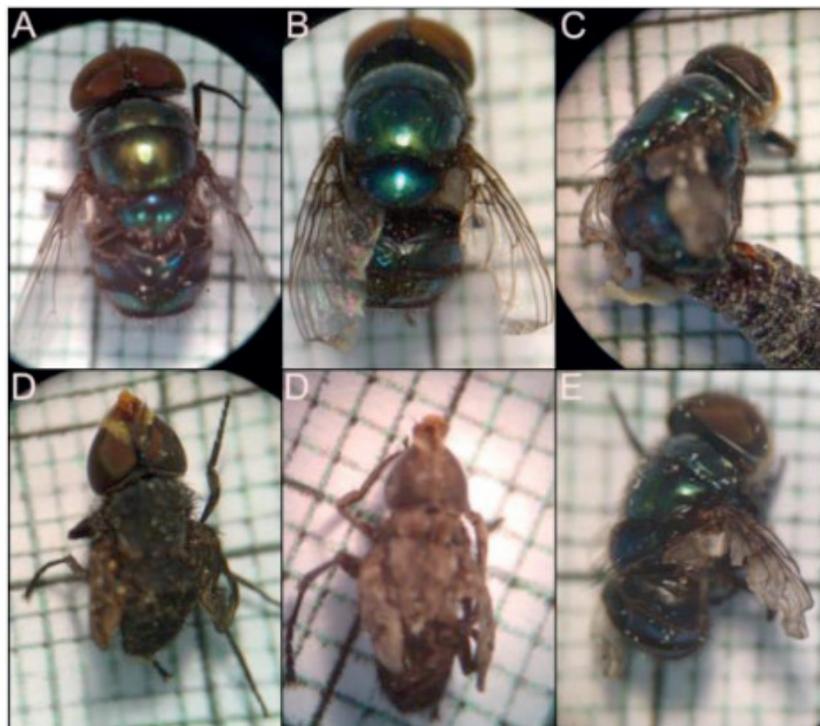


Figura 2. Moscas de *Chrysomya megacephala* do controle e tratamentos. A) controle, B) 1%, C) 2%, D) 4% e E) 10%. Em A mosca normal, B, C, D e E moscas com asas atrofiadas, C moscas com emergência incompleta e em D moscas com redução corporal, coloração escura e desenvolvimento incompleto.

## DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos e segundo Roel (2000), os efeitos de tratamento em insetos estão sujeitos à dosagem, e no presente trabalho a mortalidade e os efeitos também aumentaram à medida que se aumentaram as concentrações de neem, mesmo que em baixa quantidade. Em todos os tratamentos foram observadas malformações ou alterações no desenvolvimento, como, escurecimento e possível melanização de larvas. Em adultos ocorreram expansões incompletas das asas, corpo reduzido, emergência incompleta e redução da emergência das moscas. O mesmo resultado foi obtido por Deleito e Borja (2008), após pulverização em pupas de *C. megacephala* com diferentes concentrações de óleo de neem (0,2%; 0,3%; 0,4%; 0,5% e 0,6%) e Mehdi et al. (2018), após pulverização em larvas do segundo instar de *C. megacephala* com diferentes concentrações de óleo de neem (0,3, 0,6 e 1 mL/L). Uma explicação para esses efeitos, segundo Garcia (2001), seria a ação exercida pela azadiractina, um dos principais componentes bioativos do neem, que afeta o controle de hormônios nos insetos. A metamorfose requer a sincronia de vários hormônios, por consequência a troca de estágios e formação de adultos não é bem sucedida, gerando larvas e moscas com malformações (DELEITO e BORJA, 2008).

Com base nos dados obtidos na tabela 1, nota-se que houve maior mortalidade larval no controle que em 1 e 2%, e maior mortalidade pupal do controle quando comparados a 1 e 4%. Esse mesmo fato ocorreu durante o experimento de SANTOS (2013) utilizando progesterona e estrogênio em larvas de *C. megacephala* e FERRARI et al. (2008), aplicando testosterona de uso veterinário em imaturos de *C. albiceps*, ambos não obtiveram uma explicação para o ocorrido. Entretanto, não descartaram a hipótese de que os hormônios utilizados possam promover um efeito anabólico no desenvolvimento larval, evitando a mortalidade de larvas mesmo em situações laboratoriais controladas (SANTOS, 2013).

Apenas a aplicação da maior concentração (10%) de óleo de neem, foi capaz de promover controle eficiente larval e pupal considerável, 12,5% e 37% respectivamente. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Fernandes et al., (2010) que, aplicando neem a concentração de 10% em *Musca domestica*, obtiveram controle larval de 10,2% e 16,9% em dose única e em dose diária respectivamente. Os trabalhos se opõem na maneira de aplicação do produto, pois, no estudo em questão a aplicação foi por submersão das larvas, durante três dias seguidos começando com as larvas em primeiro instar. Em contrapartida, o autor adicionou óleo de neem à dieta apenas no primeiro dia em que as larvas atingiram terceiro instar, e em doses diárias a partir do terceiro instar até a formação de pupas. Alinhado ao presente trabalho, Kumarasinghe et al. (2000) também encontrou dificuldades em controlar o estágio imaturo de *C. megacephala* em contato contínuo ao extrato de neem.

Contrário ao presente estudo, Deleito e Borja (2008) alcançaram resultados superiores, com controle de até 95% das pupas. Foi borrifado óleo de neem em dose

única nas concentrações de 0,2%; 0,3%; 0,4%; 0,5% e 0,6% nas pupas de moscas das espécies *Lucilia cuprina*, *C. megacephala*, *Cochliomyia hominivorax* e *M. domestica*. Através da pulverização de menor concentração (0,2%) de óleo de neem, os autores obtiveram controle pupal de 40,7% e 23,3% em condições de laboratório e campo respectivamente, sendo que no trabalho em questão, para alcançar 37% de eficiência pupal foi preciso utilizar 10% de óleo de neem, concentração consideravelmente mais elevada.

Siriwattananarungsee et al. (2008) também obtiveram resultados positivos em relação a mortalidade de larvas e pupas de *M. doméstica* e *C. megacephala*, aplicando neem à 0,2% na alimentação das larvas em terceiro instar. Os resultados obtidos para *C. megacephala* foram de, 16,67% e 24,44% de mortalidade larval em dose única e em doses múltiplas respectivamente. Já em larvas de *M. doméstica* alcançaram mortalidade de 21,11% e 33,33% em dose única e em doses múltiplas respectivamente. O autor também aplicou o produto na dieta das larvas, assim como Fernandes et al. (2010). Isso sugere que os efeitos podem variar de acordo com o estágio, espécie e método de exposição.

Uma possível explicação para a elevada mortalidade de larvas e pupas aplicando o bioinseticida na dieta é devido ao caráter repelente do neem, fazendo com que as larvas se afastem da dieta não se alimentando adequadamente (SAITO, 2004). Este fator pode ter causado a mortalidade de larvas, e as pupas sobreviventes com peso inferior podem ser explicadas dado que, as larvas não consumiram o necessário de dieta. Outra explicação vem de estudos que mostraram a deformação das peças bucais na ninfa do percevejo verde do sul, *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758), após exposição ao extrato de neem incapacitando os insetos de se alimentar, levando a sua morte (SINGHA et al. 2007).

Mesmo com eficiência do controle larval e pupal mais elevada na concentração de 10%, foi observado que, o extrato neem não interferiu com a taxa de desenvolvimento das larvas sobreviventes nos grupos tratados. Já que em todas as concentrações, a taxa de crescimento das larvas foi semelhante à dos controles, atingindo o estágio pupal em 144 e 168 horas após a eclosão e emergindo em 240 e 264 horas. Esses valores são considerados normais, tendo como base o trabalho de De Carvalho et. al (2012), onde o desenvolvimento larval de *C. albiceps* e *C. putoria* teve duração de 150 e 157 horas respectivamente, e Siddiki e Zambare (2017) relataram emergência de *C. megacephala* iniciando-se após 263 horas.

Para explicar a baixa mortalidade no presente trabalho, pode-se citar o trabalho de Siriwattananarungsee et al. (2008), onde revelaram que as moscas de *C. megacephala* possuem mais resistência ao bioinseticida neem em comparação a outras moscas como, *M. doméstica* que apresentou-se com maior sensibilidade ao extrato de neem. Revelaram também que, a incorporação do extrato de neem a dieta das larvas de *C. megacephala* e *M. domestica*, poderia levar a maior inibição do crescimento e fecundidade nas próximas gerações do que na mortalidade larval e pupal. Portanto,

pode ser esperado que o controle de *C. megacephala* utilizando azadiractina apresente melhores resultados a longo prazo, ou seja, em gerações futuras, se considerarmos que um dos efeitos da azadiractina é a redução da fecundidade levando ao bloqueio do desenvolvimento ovariano, o que poderá levar a longo prazo a um declínio da população efetivando o controle da mesma (WEATHERSBEE III e TANG, 2002).

A toxicidade do neem pode ser ampliada com aplicação de combinação de bioinseticidas, contendo outras substâncias ativas, como relatado por Singh et al. (2007) onde combinaram o neem com a bactéria *Bacillus thuringiensis Berliner*, contra as larvas da mariposa *H. armigera* (Hübner) obtendo melhores resultados.

O óleo de neem alterou o desenvolvimento de larvas e pupas de *C. megacephala*, sendo que o tratamento com a maior concentração (10%) resultou em maior mortalidade larval e pupal, quando comparado a concentrações inferiores (1%, 2% e 4%). Entretanto não apresentou boa eficiência para controle do inseto, já que não atingiu mortalidade da metade de larvas e pupas. O produto pode ter causado efeito positivo na taxa de sobrevivência para esta espécie, visto que houve uma quantidade elevada de sobreviventes nos tratamentos de 1% e 2%, quando comparados com o controle. O óleo de neem pode promover inibição do crescimento e fecundidade nas gerações subsequentes, portanto, é importante investigar os efeitos dos produtos à base de neem nas futuras gerações das moscas de *C. megacephala*, que sobreviverem as aplicações dos tratamentos.

## REFERÊNCIAS

ANIMAIS SINANTRÓFICOS. Prefeitura Municipal de São Paulo: 2018. Disponível em:<[https://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/saude/vigilancia\\_em\\_saude/controle\\_de\\_zoonoses/animais\\_sinantropicos/index.php?p=4558](https://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/saude/vigilancia_em_saude/controle_de_zoonoses/animais_sinantropicos/index.php?p=4558).> Acesso em 06 de maio de 2019.

AXTELL, R. C. Use of predators and parasites in filth fly IPM programs in poultry housing In: PATTERSON, R. S.; KOHELERN, P. G.; MORGAN, P. B. & HARRIS, R. L. Status of biological control of filth flies New Orleans, US Depart of Agriculture. p. 26-46. 1981.

CALEFFE, R. R. T.; OLIVEIRA, S. R.; NANYA, S.; CONTE, H. Calliphoridae (Diptera) de interesse forense com ocorrência em Maringá-Paraná-Brasil. Revista Uningá. v.43, p.10 – 15, 2015.

CARVALHO, A. R.; d' ALMEIDA, J. M.; MELLO, R. P. Mortalidade de larvas de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) e seu parasitismo por microhimenópteros na cidade do Rio de Janeiro RJ. Neotrop. Entomol., v. 33, n. 4, p. 505 – 509, 2004.

COELHO, V. M. A.; AZEVEDO, E. M. V. M. Associação entre larvas de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) e *Chrysomya albiceps* (Wiedemanni), *Chrysomya megacephala* (Fabricius) e *Cochlomyia macellaria* (Fabricius) (Calliphoridae, diptera) sob condições de laboratório. Revista brasileira de Zoologia. v. 12, nº 4, p. 991 – 1000, 1995.

DE CARVALHO, L. M. L.; LINHARES, A. X.; PALHARES, B. F. A. The effect of cocaine on the development rate of immatures and adults of *Chrysomya albiceps* and *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) and its importance to postmortem interval estimate. Forensic Science International. 2012. DOI:10.1016/j.forsciint.2012.01.023.

- DELEITO, C. S. R.; BORJA, G. E. M. Nim (*Azadirachta indica*): uma alternativa no controle de moscas na pecuária. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 28, p. 293 – 298, 2008.
- FERNANDES et al. Eficácia larvicida de uma emulsão contendo 10% de óleo de nim (*Azadirachta indica*) no controle de *Musca domestica* (Linnaeus, 1758). *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*; v. 32, n. 1, p. 25 – 30, 2010.
- FERRARI, A. C.; SOARES, A. T. C.; GUIMARÃES, M. A.; THYSSEN, P. J. Efeito da testosterona no desenvolvimento de *Chrysomya albiceps* (Wiedman) (Diptera: Calliphoridae). *Medicina (Ribeirão Preto)*; v. 41, n. 1, p. 30 – 34, 2008.
- GARCIA, C. R. Radiomarcagem de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) e criação de *Belonuchus rufipennis* (Fabricius, 1801) (Coleoptera, Staphylinidae) em ovos desta mosca. Tese (Doutorado em Ciências de Tecnologia Nuclear). Comissão Nacional de Energia Nuclear, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. São Paulo, p. 1. 1993.
- GARCIA J. L. M. O nim indiano. *Revista Associação de Agricultura Orgânica*, São Paulo, 15 p. 2001.
- GOMES, L.; VON ZUBEN, C. J.; SANCHES, M. R. Estudo da dispersão larval radial pós-alimentar em *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 47, n. 2, p. 229 – 234, 2003.
- JÚNIOR, C. V. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. *Revista Química Nova*, vol. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.
- KUMARASINGHE, S. P. W.; KARUNAWEEERA, N. D.; IHALAMULLA, R. L. A study of cutaneous myiasis in Sri Lanka. *International Journal of Dermatology*, v. 39, p. 689-694, 2000.
- LEAL, T. T. S.; PRADO, A. P.; ANTUNES, A. J. Rearing the larvae of the blowfly *Chrysomya chloropyga* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae) on oligidic diets. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 1, nº 1, p. 41 – 44, 1982.
- LEGNER, E. F.; POORBAUGH, J. H. Biological control of vector and noxious synanthropic flies: a review. *California Vector Views*, v.19, p.81-100, 1972.
- LIMA, M. L. P. S.; LUZ, Ennio. Espécies exóticas de *Chrysomya* (Diptera, Calliphoridae) como veiculadoras de enterobactérias patogênicas em Curitiba, Paraná, Brasil. *Revista Acta Biológica Paranaense*, v. 20, p. 61-83, 1991.
- MEHDI, N. S.; HUSSEIN, A. A. M.; ABBOD, H. M. Laboratory Evaluation of Supernemic Insecticide (Neem Oil) and its Effect on Larvae of Big Headed myiasis Blow Fly *Chrysomya Megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Global Pharma Technology*. v. 10, nº 03, p. 1021 – 1026, 2018.
- MELLO, R. S. Efeito da densidade de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) e do hospedeiro *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) sobre os aspectos biológicos do microhimenóptero. 2007.70f. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D.; FRIGHETTO, R. T. S.; FRIGHETTO, N. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, Londrina, v. 29, n. 4, p. 799 – 808, 2000.
- SAITO, M. L. As Plantas praguicidas: alternativa para o controle de pragas da agricultura. *Informativo Meio Ambiente e Agricultura*, Jaguariúna, v. 12, n. 47, p. 1 – 3, 2004. Disponível em: <[http://www.cnpma.embrapa.br/download/informativo/informativo\\_47.pdf](http://www.cnpma.embrapa.br/download/informativo/informativo_47.pdf)>. Acesso em: 12 dez. 2019.

SANTOS, F. V. Efeito de anticoncepcional humano no desenvolvimento larval de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) para uso forense. 2013. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Rio Claro, 2013.

SIDDIKI S.; ZAMBARE S. P. Studies on Time Duration of Life Stages of *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae) during Different Seasons. J Forensic. 2017. DOI:10.4172/2157-7145.1000379.

SINGH G.; RUP P. J.; KOUL O. Acute, sublethal and combination effects of azadirachtin and *Bacillus thuringiensis* toxins on *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. Bull Entomol Res. 2007. DOI:10.1017/S0007485307005019.

SINGHA A., THAREJA V., SINGH A. K. Application of neem seed kernel extracts result in mouthpart deformities and subsequent mortality in *Nezara viridula* (L.) (Hem: Pentatomidae). J. Appl. Entomol. 2007. DOI: 10.1111/j.1439-0418.2006.01134.x.

SIRIWATTANARUNGSEE, S.; SUKONTASON, K. L.; OLSON, J. K.; CHAILAPAKUL, O.; SUKONTASON, K. Efficacy of neem extract against the blowfly and housefly. Parasitol Res. 2008. DOI 10.1007/s00436-008-1004-6.

WEATHERSBEE III, A. A.; TANG, Y. Q. Effect of neem extract on feeding, growth, survival, and reproduction of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). J Econ Entomol. 2002. DOI: 10.1603/0022-0493-95.4.661.

WELLS, J. D. *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) has reached the continental United States: review of its biology, pest status, and spread around the world. Entomol. Soc. Am., v. 28, n. 3, p. 471 – 473, 1991.

## BABESIOSE EM CÃES: ARTIGO DE REVISÃO COM ÊNFASE SOBRE SEU DIAGNÓSTICO

Data de aceite: 15/05/2020

**Vanessa Feliciano de Souza**  
**Rafael Molina Figueiredo**

**RESUMO:** A babesiose, conhecida como "doença do carrapato", é uma patologia infecciosa causada por protozoários do gênero *Babesia spp.*, que parasitam eritrócitos e os destroem. São heteróxenos e em cães seu vetor mais comum é o carrapato marrom (*Rhipicephalus sanguineus*). A babesiose é uma doença silenciosa, sendo dividida em não complicada ou grave. O animal pode demorar a apresentar manifestações clínicas, tais como anemia, fadiga, vômitos e hipertermia. É possível prevenir a babesiose controlando infestações por carrapatos, usando acaricidas e colares específicos, por tempo determinado. A evolução da babesiose pode ser aguda e rápida, sendo necessário um diagnóstico preciso e eficiente, para que não haja complicações clínicas. Não possui predisposição por idade ou sexo de seus hospedeiros. Para o diagnóstico é essencial à realização de exames complementares, tais como hemograma, ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), Imunofluorescência Indireta (IFI) e Reação em Cadeia de Polimerase (PCR).

**PALAVRAS-CHAVE:** Anemia hemolítica. *Babesia canis*. *Rhipicephalus sanguineus*.

### INTRODUÇÃO

A babesiose é uma afecção comum, conhecida popularmente como a "doença do carrapato". Encontrada frequentemente dentro da rotina clínica veterinária de importância mundial (GREENE et al, 2015a). Os primeiros relatos de parasitos localizados dentro das hemácias ocorreram na África em 1896, e o primeiro relato de babesiose canina especificamente ocorreu nos EUA em 1934, cerca de 40 anos depois. (GREENE et al, 2015b).

*Babesia spp.* é um protozoário intraeritrocitário pertencente ao filo apicomplexa (GREENE et al, 2015c), dispõe de um ciclo flexível, uma vez que pode demorar dias, meses ou anos até que o animal demonstre suas manifestações clínicas. Além disso, é dependente das condições nutricionais e imunológicas que o animal se encontra. Devido sua prevalência por regiões tropicais e subtropicais é recorrente no Brasil (BRANDÃO, 2012a). Foi descrito a variação de mais que 100 espécies e cada uma delas com sua especificidade de hospedeiros (seja cães,

gatos, equinos, etc.), são classificadas de acordo com seu tamanho e considerados heteróxeos, pois necessitam de um animal vertebrado e um carrapato para completar seu ciclo (GREENE et al, 2015d).

A babesiose é transmitida através da picada do carrapato infectado com o parasita. Os carrapatos podem parasitar animais que convivem no mesmo ambiente como por exemplo em cães e parques de uso coletivo (GREENE et al, 2015e). Quando não diagnosticada de forma eficaz pode ocorrer diversas complicações no quadro clínico culminando na morte do animal (BRANDÃO,2012b; PELCZAR JR et al, 1996).

Para seu diagnóstico é necessária a realização de exames complementares, específicos. Dentre os exames complementares podemos citar: O hemograma, que é um exame de triagem, sorológico e totalmente inespecífico, ELISA, teste imunoenzimático que reconhece anticorpos e antígenos, Imunofluorescência Indireta (IFI) um teste que possui antígenos fixados em sua lamina, também sorológico e quando positivo entra em reação com os anticorpos do animal e Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) que é um técnica dentro da biologia molecular realizada a partir do DNA do animal (ROCHA, 2013a; SARMA et al, 2019a).

O objetivo desse trabalho foi realizar revisão bibliográfica de caráter exploratório sobre babesiose em cães, com ênfase sobre seu diagnóstico.

## DESENVOLVIMENTO

O trabalho foi realizado através de pesquisas bibliográficas de caráter descritivo. Delineamento foi realizado por meio da documentação obtida pela revisão bibliográfica em nove artigos científicos e sete livros que discorriam sobre o tema. As perspectivas do estudo proposto trouxeram informações importantes sobre a babesiose em cães com ênfase sobre suas possíveis maneiras de diagnóstico proporcionando informações relevantes sobre um tema tão importante na Medicina Veterinária.

Há relatos de diversas espécies que transmitiram o protozoário para cães. Entre sua grande variedade podemos citar principalmente as subespécies *B. canis canis*, *Babesia c. vogeli*, *Babesia c. rossi* (O'DWYER et al, 2009) e *B. gibsoni*, há relatos também de *B. microti*, sendo esta muito comum em roedores. Em casos específicos a babesiose pode acometer humanos, que pode ser facilmente confundida com malária (TORTORA et al, 2012; SARMA et al, 2019b; CHECA et al, 2019).

Assim como a variedade de espécies temos variações em relação aos seus vetores em sua literatura foi possível encontrar também outras espécies de carrapatos já relatadas que transmite a doença, sendo a mais encontrada *Rhipicephalus sanguineus* (BICHARD,2013a; ARAÚJO et al, 2015a), seguida por *Rangelia vitalli* (SILVA, 2019a) e *Dermacentor reticulatus* (FOUREI, 2019a). Quando pesquisada *B. gibsoni* foi constatada uma variação maior em sua forma de transmissão, esta espécie não

considera uma única espécie de carrapato como um vetor competente (GREENE et al, 2015), se diferenciando ainda mais neste quesito.

Quando classificada *Babesia canis* é considerada grande e piriforme, que pode ocorrer em pares ou de forma isolada dentro dos eritrócitos, sendo mais comum quando encontrado de forma isolada *B. gibsoni* (GREENE et al, 2015f), de acordo com a fase em que a infecção está os tamanhos, quantidade e formato variam, tornando-se um obstáculo maior para alguns tipos de diagnóstico (GREENE et al, 2015g).

Um de seus vetores mais comuns é o *Rhipicephalus sanguineus*, conhecido popularmente como “carrapato marrom” (BICHARD, 2003b), que possui um ciclo evolutivo rápido, dividido em quatro fases (ovo, larva, ninfa e adulta). Vivendo no ambiente apenas em sua fase de ovo (DANTAS, 2010a). O vetor contribui para o ciclo da *Babesia* por meio de sua saliva, os esporozoítas do protozoário são liberados na corrente sanguínea do animal no momento em que o vetor (carrapato) se alimenta, e assim quando encontram os eritrócitos do sangue fazem a endocitose dos mesmos, se reproduzem de forma assexuada e acometem novos eritrócitos (GREENE et al, 2015h).

A babesiose acomete uma larga faixa etária de animais, não tendo preferência de sexo ou idade, podendo acometer desde filhotes até idosos (SILVA, 2019b, GREENE et al, 2015i). Sendo uma patologia que parasita os glóbulos vermelhos do sangue e os destrói, ocasiona anemia hemolítica regenerativa (BICHARD, 2003c).

As manifestações clínicas da babesiose incluem hipertermia, anorexia, apatia, vômito, hemorragia, anemia, icterícia esplenomegalia e trombocitopenia, que pode estar ligada com a lesão hemolítica, em casos graves possuem complicações como insuficiência renal aguda, coagulopatia, edema pulmonar, hepatopatia e até mesmo choque (ROCHA, 2013b; GREENE et al, 2015j).

Para a prevenção do carrapato, importante vetor da doença, é possível utilizar medicamentos acaricidas e colares específicos (FOUREI, 2019b; BEUGNET, 2019a). É de suma importância também realizar o controle ambiental do vetor, fazendo o manejo adequado do ambiente para que minimize a chance do vetor entrar em contato com novos hospedeiros.

É importante ressaltar que dependendo do acaricida utilizado, para sua prevenção o mesmo pode permitir que o vetor parasite o animal sem se alimentar durante até 48h e não haja a transmissão do protozoário, mesmo com este intervalo é importante para que não ocorra a infecção o acaricida ser utilizado com intervalo de 28 dias (BEUGNET, 2019b).

Babesiose pode ser adquirida de maneira horizontal, no ambiente, uma vez que os carrapatos passam por sua fase reprodutiva desprendidos de seus hospedeiros e após esta fase voltam a ter contato com o mesmo ou um novo hospedeiro ou até mesmo de um animal para outro, por contato, em brigas (DANTAS, 2010b; GREENE et al, 2015k), existe também a possibilidade do contágio através de transfusões sanguíneas, por isso é necessário realizar exames complementares, uma vez que os

protozoários estão localizados no interior das hemácias (CORRÊA, 2005).

Seu diagnóstico é considerado difícil já que não possui sintoma patognomônico. A diferenciação entre as babesias é realizada de acordo com seus diferentes tamanhos (ARAÚJO et al, 2015b), para um diagnóstico se faz necessária a realização de exames complementares, dentro da rotina podemos solicitar hemograma, ELISA, imunofluorescência indireta (IFI) ou Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (ROCHA, 2013c; SARMA et al, 2019c).

Hemograma é um exame comum na rotina, rápido e totalmente inespecífico, que permite identificar se o animal possui algum tipo de anemia, é possível também realizar o exame através do microscópio óptico, apesar de ser extremamente específico para observar hemoparasitas, o mesmo não é eficaz, pois, o não é encontrado o protozoário em todos os exames positivos, sendo sua porcentagem é de 0,001% por isto não é considerado um exame de eleição para seu diagnóstico (FURUTA, et al, 2009a; GREENE et al, 2015l).

ELISA ou ensaios imunossorventes ligados a enzima é um teste imunoenzimático que reconhece anticorpos ou antígenos específicos, porém foi mais utilizado com a finalidade de estudos soropidemiológicos do que para seu diagnóstico clínico, este teste não está disponível para comercialização para EUA e comumente utilizado no Brasil não só para *Babesia*, mas para várias doenças (GREENE et al, 2015m; FURUTA, et al, 2009b).

IFI também consiste em um exame sorológico que reconhece anticorpos presentes em uma lâmina específica com antígenos pré-fixados que absorve luz ultravioleta (UV). Este é um teste comumente utilizado para o diagnóstico de babesias, possui uma maior variedade entre os laboratórios que fornecem o teste, seja em valores ou a quantidade de antígenos que o laboratório disponibiliza para testes. Como exemplo *B. canis* possui como anticorpos intitulados superiores a 64 em uma única amostra. Porém há relatos de que há falsos-negativos, sendo em porcentagem 36% dos casos alguns cães não apresentaram anticorpos em testes realizados anti-babesia (FOUREI, 2019b; GREENE et al, 2015n).

PCR que é um exame específico é uma técnica recente utilizada na biologia molecular, trabalha a partir das cópias em um fragmento de DNA, amplificando a amostra, e assim permitindo que se façam vários teste, se tornando mais específico, pois permite o reconhecimento do protozoário e sua subespécie, ex. ao invés de diagnosticar como *Babesia spp.* em seu resultado temos *Babesia canis canis* quando em relação ao agente procurado e considerado sensível e rápido, uma desvantagem pode ser a geração de falsos resultados positivos (SARMA et al, 2019d).

A melhora do paciente pode ser rápida (24h) ou demorado, podendo levar até 7 dias, para o tratamento pode-se utilizar como fármacos diaminidinas e dipropionato de imidocarb, realizar transfusão sanguínea e dependendo do caso hemodiálise (caso o animal tenha insuficiência renal). Imidocarb é eficaz em relação a *Babesia canis*, em sua ação ele elimina a infectividade dos vetores (carrapatos) (CAMACHO, 2003;

GREENE et al, 2015o).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo, após revisão do tema Babesiose concluímos que em cães, *Babesia canis* parasita intracelularmente os eritrócitos, que possui um ciclo dependente de animais vertebrados e de um vetor como o carrapato, e são classificados de acordo com seu tamanho microscópico. Este protozoário atua de maneira silenciosa, permitindo uma evolução flexível. O estado nutricional e imunológico do animal parasitado influencia muito no curso da afecção. Como seus sintomas são inespecíficos, a babesiose é considerada uma doença de diagnóstico clínico difícil, pois há necessidade de exames complementares. Na rotina médica veterinária são utilizados exames como hemograma, teste totalmente inespecífico para determinação de *Babesia spp.*, ELISA, exame sorológico específico e de custo acessível, mas passível de falsos resultados, e com a finalidade maior para estudos, muito comercializado no Brasil, IFI foi um dos exames que mais encontrei dentro de relatórios para auxiliar no diagnóstico em alguns foi considerado o mais comum e utilizado, porém possui algumas restrições entre seus pacientes para um diagnóstico efetivo. Atualmente PCR, possui alta sensibilidade e especificidade, pois o método trabalha a partir da cópia do DNA do animal, porém é preciso critérios para que não haja erros em sua manipulação que possam gerar falsos resultados e comprometa o diagnóstico de seus pacientes. Entre todas as vantagens e desvantagens o mais recomendado é o PCR devido a sua precisão para o diagnóstico reconhecendo especificamente o protozoário, seguido pela IFI que é um dos testes mais utilizados.

## REFERÊNCIAS

- BRANDÃO, L. P.; HAGIWARA, Mitika Kuribayashi. Babesiose canina: revisão. *Clínica Veterinária*, São Paulo, v. no/dez. 2002, n. 41, p. 50-59, 2002.
- BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Clínica de Pequenos Animais** (Manual Saunders). São Paulo: Editora Roca. 1793 p, 2003.
- CORRÊA, A. A. R., **Babesiose Canina – Relato de Caso** (Revista científica eletrônica de medicina veterinária). 4 ed. 2005. Disponível em < [http://faef.revista.inf.br/imagens\\_arquivos/arquivos\\_destaque/LDiCWDQMSNF9dZI\\_2013-5-20-10-23-7.pdf](http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/LDiCWDQMSNF9dZI_2013-5-20-10-23-7.pdf) >.
- TORTORA, G.J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia** 10. ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2012, P 666.
- PELCZAR Jr., M.J., Chan, E.C.S. and Krieg, N.R., **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**, vol. 1, 2 ed., São Paulo, MAKRON Books (1996).
- ROCHA . Arnaldo (org.). **Parasitologia**. São Paulo: Rideel,2013.

CAMACHO, A. T. et al. Clínica veterinária de pequenos animais, v. 23. 2003, n 1, p 50-53 – ISSN 1130-7064

DANTAS, Filipe. **Biology ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus***. Disponível em <<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-3-26>>.

SILVA, B.R. et al. **Detecção molecular de *Rangelia vitalii* em cães do Estado do Paraná, Sul do Brasil** (Rev. Bras. Parasitol. Vet.) vol.28 no.2 Jaboticabal Abril/Junho (2019).

SARMA, K. et al. **Molecular investigation of vector-borne parasitic infections in dogs in Northeast India**. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6434811/>>.

CHECA, R. et al. **The role of healthy dog carriers of *Babesia microti*-like piroplasms**. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30909936> >

FOUREI, J.J. et al. **A study on the long-term efficacy of Seresto® collars in preventing *Babesia canis* (Piana & Galli-Valerio, 1895) transmission to dogs by infected *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794) ticks**. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30902104> >

GREENE, C.E. et al. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

FURUTA, P.I. et al. **Comparison between a soluble antigen-based ELISA and IFAT in detecting antibodies against *Babesia canis* in dogs**. Revista Brasileira de patologia veterinária vol. 18 pag 41-45. (2009)

O'DWYER, L.H, et al. ***Babesia spp.* Infection in dogs from rural areas of São Paulo State, Brasil**. Revista Brasileira de Patologia veterinária v. 18, n 2, pag 23-26 - abr-jun (2009).

ARAÚJO, A.C., et al. ***Babesia canis vogeli* infection in dogs and tick in the semiarid region of Pernambuco, Brasil**. Pesquisa veterinária Brasileira v. 35 Maio.2015.

# CAPÍTULO 6

## ESTUDO EPIDEMIOLOGICO DO MORMO NO MUNICÍPIO DE TERESINA, PIAUÍ

Data de submissão: 14/01/2020

Data de aceite: 15/05/2020

### **Yara Maria Feitosa Borges**

Médica veterinária

Teresina – Piauí

### **Andrezza Caroline Aragão da Silva**

Universidade Federal do Piauí

Teresina – Piauí

<http://lattes.cnpq.br/5453333117044135>

### **Tairine Melo Costa**

Universidade Federal do Piauí

Teresina – Piauí

<http://lattes.cnpq.br/9288884734467600>

### **Mônica Arrivabene**

Universidade Federal do Piauí

Teresina – Piauí

<http://lattes.cnpq.br/1314883177319994>

### **Roselma de Carvalho Moura**

Universidade Federal do Piauí

Teresina – Piauí

<http://lattes.cnpq.br/0366804672937106>

### **Carolina Carvalho dos Santos Lira**

Centro Universitário Cesmac

Marechal Deodoro - Alagoas

<http://lattes.cnpq.br/2143989610829707>

### **Luciana Ferreira de Sousa Luz**

Universidade Federal do Piauí

Teresina – Piauí

<http://lattes.cnpq.br/7865945429773921>

### **Muriel Magda Lustosa Pimentel**

Centro Universitário Cesmac

Marechal Deodoro - Alagoas

<http://lattes.cnpq.br/2377308283755406>

### **Camila Arrivabene Neves**

Universidade Federal do Piauí

Bom Jesus - Piauí

<http://lattes.cnpq.br/4244406039687111>

### **Tábatta Arrivabene Neves**

Universidade Federal do Piauí

Teresina - Piauí

<http://lattes.cnpq.br/1174072367002844>

### **Tania Vasconcelos Cavalcante**

Universidade Federal do Piauí

Teresina - Piauí

<http://lattes.cnpq.br/4851300037007596>

### **Isabella de Oliveira Barros**

Universidade Federal da Paraíba

Areia – Paraíba

<http://lattes.cnpq.br/3726124455787186>

### **Tatiana Figueiredo**

Médica veterinária do Haras Fábio José

Lagarto - Sergipe

<http://lattes.cnpq.br/2551449539354506>

### **Luan Luthzemberg Ferreira de Andrade**

Médico Veterinário

Maceió – Alagoas

<http://lattes.cnpq.br/4352786785881727>

### **Laís Alves Mendonça**

Universidade Federal do Piauí

**RESUMO:** O Mormo é causado pela *Burkholderia mallei*, bactéria gram-negativa, imóvel, não esporulada e intracelular facultativa. Os equídeos são os animais mais susceptíveis a *B. mallei*, sendo os cavalos considerados os reservatórios naturais para a infecção. É uma zoonose, ou seja, pode infectar o homem, bem como outras espécies como pequenos ruminantes e carnívoros. De notificação obrigatória, esta enfermidade consta na lista geral da OIE. Este trabalho tem como objetivo avaliar os relatórios da Agência de Defesa Agropecuária do Piauí (ADAPI), referente as barreiras sanitárias à quantidade de equídeos que adentraram no Piauí e que permaneceram, os casos de investigação de exames inconclusivos e também que apresentaram diagnóstico positivo para Mormo. Os dados coletados foram entre o período de Janeiro de 2011 a Dezembro de 2015, observando-se o registro de 5.409 equídeos nas barreiras sanitárias da ADAPI e que tiveram como destino final o Piauí, para variadas finalidades, sendo que animais transitados com a finalidade esporte, totalizaram 4.093 animais, durante o período de estudo. Em relação à realização de eventos com a participação de equídeos, estes totalizaram 171 eventos fiscalizados no período estudado e com base nos exames realizados, a prevalência da doença no rebanho de equídeos do Estado do Piauí nos anos de 2011 a 2015 foi de 0,003%; 0,002%; 0,002%; 0,0005% e 0,009% respectivamente. Até o ano de 2014, o Piauí só apresentou exames com resultados inclusivos e/ou anticomplementares, e somente em 2015, confirmou-se dois casos de animais positivos. A fiscalização e controle de trânsito, a fiscalização de eventos e a investigação epidemiológica formam um tripé essencial para evitar a disseminação do mormo no Piauí. É necessária a formação de um grupo sanitário, para haver investigações epidemiológicas mais laboriosas com realização de sorologia afim de que possa compreender a prevalência real da doença em nosso rebanho.

**PALAVRAS-CHAVE:** Mormo. Zoonose. Equideos

#### EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF THE DEATH IN THE CITY OF TERESINA, PIAUÍ

**ABSTRACT:** Mormo is caused by *Burkholderia mallei*, a non-sporulated, facultative intracellular gram-negative bacterium. Equidae are the most susceptible animals to *B. mallei*, and horses are considered the natural reservoirs for infection. It is a zoonosis, meaning it can infect humans as well as other species such as small ruminants and carnivores. Notifiable, this condition is on the OIE general list. This paper aims to evaluate the reports of the Piauí Agricultural Defense Agency (ADAPI), regarding the

sanitary barriers to the number of equines that entered Piauí and that remained, the cases of investigation of inconclusive tests and also that showed positive diagnosis for Mormo. . The data collected were from January 2011 to December 2015, observing the registration of 5,409 horses in the ADAPI sanitary barriers and whose final destination was Piauí, for various purposes, and animals transported for sport purposes. , totaled 4,093 animals during the study period. Regarding the holding of events with the participation of horses, these totaled 171 events monitored during the study period and based on the examinations performed, the prevalence of the disease in the equine herd of the State of Piauí from 2011 to 2015 was 0.003%; 0.002%; 0.002%; 0.0005% and 0.009% respectively. Until 2014, Piauí only presented tests with inclusive and / or anticomplementary results, and only in 2015, two cases of positive animals were confirmed. Traffic control and control, event surveillance and epidemiological investigation form an essential tripod to prevent the spread of the disease in Piauí. The formation of a sanitary group is necessary for more laborious epidemiological investigations with serology in order to understand the real prevalence of the disease in our herd.

**KEYWORDS:** Mormo. Zoonosis. Equines

## 1 | INTRODUÇÃO

A domesticação dos equídeos foi de grande importância para o desenvolvimento das civilizações humanas sendo utilizado de diversas maneiras, no Brasil, foi de grande valia em várias atividades dentre elas na guerra, carga e sela e na agricultura em geral.

O Piauí recebeu os primeiros cavalos em 1544 advindos do estado do Pernambuco, trazidos pelos jesuítas para a região sul e pelos ciganos na região central, vieram por diversas razões dentre elas a de desbravamento de terras (OLIVEIRA, 2000). Acredita-se que junto com a sua expansão trouxe consigo também a disseminação de vários patógenos que se somaram as que já existiam no ambiente e, conseqüentemente, houve o aumento de doenças e ampliação da gravidade delas, visto que até então, o sistema imunológico destes animais não reconheciam essas novas enfermidades, tais como o Mormo.

O mormo é uma doença infecto-contagiosa que afeta principalmente os equídeos, causado por uma bactéria Gram negativa a *Burkholderia mallei*, que causa lesões no sistema respiratório, podendo ser transmitido a outras espécies dentre elas o homem. Foi isolada primeiramente no ano de 1882 do fígado e baço de um cavalo, e desde a sua descoberta o patógeno foi classificado diversas vezes como: *Loefflerella mallei*, *Pfeiffeilla mallei*, *malleomyces mallei*, *actinobacillus mallei*, *Corynebacterium mallei*, *Mycobacterim mallei*, *Pseudomonas mallei* e *Bacillus malei* (MORAES, 2011; WHITLOCK et. al.2007).

Apresenta duas formas clínica, uma aguda que arremete mais os burros e os

jumentos e a forma crônica ocorrendo com mais facilidade nos cavalos, esta última é de singular importância na cadeia epidemiológica de transmissão e manutenção do agente infeccioso (SOUZA, 2012).

Em regra, na forma aguda o animal apresenta sintomatologia bem exuberante tais como a febre alta e os sinais respiratórios evidenciados (narinas inchadas, dispneia e pneumonia) que fatalmente culminam com a morte do animal dentro de poucos dias. Nos quadros crônicos, tendem a ter uma sintomatologia mais branda, com sinais inespecíficos determinantes para a enfermidade, sendo às vezes discretas ou mesmo inaparente (WITHING et.al., 2006). Quando ocorrem lesões nodulares estas evoluem para a ulceração e que ao cicatrizarem formam cicatrizes na forma de estrela (MOTA, 2000).

A transmissão se dá de forma facilitada quando se tem contato direto entre animais sadios com aqueles portadores assintomáticos, assim como por meio indireto dos fômites, no caso de compartilhamento de bebedouros e comedouros (MOTA et al., 2010). A principal via de infecção é a digestiva, através de alimentos e água contaminados. Outras vias, tais como a respiratória e a cutânea, são menos frequentemente envolvidas (LEOPOLDINO, et. al., 2009; DITTMANN, et. al., 2015). O período de incubação depende da virulência da bactéria do mormo, do tipo, da intensidade da infecção e da resistência do animal afetado e pode variar entre poucos dias ou vários meses (BEER, 1999).

O diagnóstico do mormo é um conjunto de informações coletadas e versa em observações das alterações clínicas, patológicas, dos dados epidemiológicos, da identificação do agente bacteriano através do isolamento ou caracterização por métodos moleculares, de teste sorológico e reação imunoalérgica [maleinização] (MOTA, 2006). Segundo a instrução normativa número 24 de 5 de abril de 2004, o exame preconizado para detecção do mormo é a fixação de complemento (FC), que apresenta alta especificidade, sendo utilizado como mecanismo de triagem para identificação dos animais com doença subclínica ou inaparente (BRASIL, 2004).

A OIE em conjunto com o MAPA, não indica o tratamento, haja vista que o animal não adquire a cura e tão somente tornam-se portadores subclínicos ou assintomáticos, continuando a ser fonte de manutenção e propagação da *B. mallei*. Em países onde a baixa prevalência da doença deve-se adotar medidas de controle e erradicação do mormo (OIE, 2008).

Esta enfermidade consta na lista geral da OIE, sendo de notificação obrigatória, portanto, qualquer sinal clínico característico deve-se dar conhecimento aos órgãos competentes (OIE, 2013). Os animais para transitar devem conter no momento do transporte os exames zoonosológicos com a validade em dias e o GTA, e as barreiras devem ser rigorosas nas fiscalizações dos mesmos (BRASIL, 2011).

Com o intuito de salvaguardar o rebanho de equídeos da enfermidade mormo, dos criadores os prejuízos econômicos criados por ela e ainda da possibilidade de transmissão ao homem, criou-se uma instrução normativa de número 24, publicada dia

05 de abril, que trata das normas para controle e erradicação do mormo em território brasileiro. Nela, contém informações para diagnóstico, medidas de saneamento, monitoração de propriedades, além do controle de tráfego dos equídeos intra e interestadual (MAPA, 2004).

De acordo com a Agência De Defesa Agropecuária Do Estado Do Piauí o rebanho de equídeos é estimado em aproximadamente 173.837 cabeças, atentando assim a necessidade para um monitoramento epidemiológico satisfatório para se evitar transmissão da bactéria *B. mallei* pelo rebanho, haja vista que durante todo o ano há trânsito de equídeos de outros Estados para o Piauí, principalmente daqueles que irão participar de algum evento equestre, tendo assim o contato direto que favorece a disseminação do agente.

Diante disso, este trabalho tem como objetivo realizar a avaliação dos relatórios da Agência de Defesa Agropecuária do Piauí (ADAPI), referente as barreiras sanitárias à quantidade de equídeos que adentraram no Piauí e que aqui permaneceram, os casos de investigação de exames inconclusivos e também que apresentaram diagnóstico positivo para Mormo.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Agência de Defesa Agropecuária do Piauí (ADAPI)

A Agência de Defesa Agropecuária do Piauí foi criada pela Lei Ordinária nº 5.123 em 26 de agosto de 2005, com a competência de planejar, normatizar, coordenar e executar as ações de defesa agropecuária do Estado, compatibilizando-as com as diretrizes da política agropecuária nos âmbitos estadual e federal. Sua sede fica localizada no bairro Morro da Esperança e possui unidades espalhadas por todos os 224 municípios do estado do Piauí. Todos eles são responsáveis pela fiscalização regional de sua jurisdição.

As atividades de fiscalização na área animal são amparadas pela lei 5.628 de 29 de dezembro de 2006 e regulamentada pelo Decreto 12.680 de 18 de julho de 2007, que ressalta as competências da ADAPI na prevenção, combate, controle e erradicação de doenças em consonância no disposto na Legislação Federal pertinente e de acordo com os interesses do Estado.

A sede da Agência é responsável pela criação de planejamentos estratégicos a serem adotados em todo o Estado, assim como fornecer o elo com a instância superior no caso o Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAPA) através da SFA (Superintendência Federal da Agricultura).

### 2.2 Coleta de dados

As informações que serviram de base para o estudo referente ao período de

2011 à 2015 foram colhidas na ADAPI, onde os dados pertinentes a 2011, 2012 e 2013 foram extraídos dos arquivos impressos e os anos de 2014 e 2015 extraídos do Sistema de Integração Agropecuária (SIAPEC).

A coleta dos dados foi realizada nos setores responsáveis, como o Setor de Trânsito, na Coordenação de Epidemiologia e na Coordenação de Eventos. A análise do material teve caráter descritivo.

## 2.3 Metodologia

A metodologia do trabalho foi realizada avaliando os relatórios das barreiras sanitárias à quantidade de equídeos que adentraram no Piauí e que aqui permaneceram, os casos de investigação de exames inconclusivos e também que apresentaram diagnóstico positivo.

A análise das informações do banco de dados foi realizada utilizando-se de estatística descritiva, obtidas com o uso de planilhas do programa MS Excel®, onde os dados foram sequenciados e organizados por ano, por quantidade de animais transitados por mês, por resultados de inconclusivos e/ou positivos para o mormo, foi realizado a estratificação da quantidade de animais que adentraram em eventos por Estados. Foi realizado também o cálculo de prevalência da doença, com o auxílio do programa MS Excel®, bem como a descrição gráfica em mapa dos municípios com a investigação epidemiológica.

As informações obtidas foram plotadas em gráficos, tabelas e/ou figuras, sendo analisados em números reais e por porcentagem.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos resultados demonstra em porcentagem o número de animais que transitaram no período alvo da pesquisa, assim como torna explícito o número dos dados epidemiológicos de exames positivos e inconclusivos e o número de eventos realizados.

### 3.1 Análise do Trânsito de Equídeos

No período de Janeiro de 2011 a Dezembro de 2015, foram registrados 5.409 equídeos nos registros das barreiras sanitárias da ADAPI e que tiveram como destino final o Piauí, com as mais variadas finalidades aceitas pelo manual de emissão de GTA para a espécie equídea, ressaltando para o número expressivo de animais que transitaram com finalidade esporte, totalizando 4.093 animais ou 75 % do total, durante todo o período de estudo.

Os dados também mostram que do total de 5.409 animais que adentraram ao Piauí, somente 79 eram asininos e muares prevalecendo entre estes as finalidades

para reprodução e leilão (somente asininos) e esporte e trabalho, para ambos (Tabela 01).

	2011		2012		2013		2014		2015	
<b>ESPÉCIE</b>		%		%		%		%		%
<b>EQUINOS</b>	1.309	99,01	1.272	98,22	1.391	97,34	832	99,4	526	100
<b>AZININOS</b>	4	0,31	3	0,28	1	0,06	2	0,24	0	0
<b>MUARES</b>	9	0,68	20	1,50	37	2,60	3	0,36	0	0
<b>TOTAL</b>	1.322	100	1.295	100	1.429	100	837	100	526	100

Tabela 1 - Demonstrativo do efetivo de equídeos que foram registrados na barreira sanitária do Estado do Piauí durante o período de 2011 à 2015.

Fonte: ADAPI, 2016.

Para realizar o trânsito de uma região para outra é necessário que o animal apresente três documentos que atestem por documento a sua origem e as condições sanitárias favoráveis documentos esses a GTA e os exames de Anemia Infecciosa Equina e do Mormo, que sem esses dois últimos o primeiro não é confeccionado. Porém esses exames valem 60 dias a partir da coleta do material para análise, mais que durante esse mesmo período o animal pode adquirir a doença e torna-se um potencial transmissor das enfermidades.

Na literatura, não a clareza de quanto tempo é necessário para que o animal possa disseminar a doença, relatando somente que pode ser dias ou meses (MOTA, 2006), outro fator é a possibilidade do agente do mormo formar uma cápsula de polissacarídeo que impede a sua fagocitose por leucócitos e macrófagos impedindo a resposta do indivíduo à infecção tornando-o somente um portador sem apresentar anticorpos no exame, o que nos dá subsídios para acreditar que dentro dos 60 dias o animal possa transmitir a doença.

Pode-se perceber que a quantidade de animais que transitaram para o Piauí não se mostrou regular entre os anos estudados, havendo variações entre os meses e entre os anos, porém observa-se um maior trânsito de equídeos em determinadas épocas (Tabela 2).

	2011		2012		2013		2014		2015	
MESES	QUANT.	%	QUANT.	%	QUANT.	%	QUANT.	%	QUANT.	%
JANEIRO	80	6%	73	6%	75	5%	39	5%	37	7%
FEVEREIRO	36	3%	36	3%	72	5%	28	3%	7	1%
MARÇO	47	4%	43	3%	162	11%	46	5%	45	9%
ABRIL	96	7%	91	7%	92	6%	102	12%	77	15%
MAIO	137	10%	247	19%	97	7%	111	13%	141	27%
JUNHO	220	17%	201	16%	241	17%	178	21%	66	13%
JULHO	146	11%	89	7%	191	13%	78	9%	43	8%
AGOSTO	149	11%	59	5%	55	4%	21	3%	110	21%
SETEMBRO	69	5%	123	9%	63	4%	53	6%	0	0%
OUTUBRO	85	6%	44	3%	58	4%	23	3%	0	0%
NOVEMBRO	183	14%	204	16%	145	10%	19	2%	0	0%
DEZEMBRO	74	6%	85	7%	178	12%	139	17%	0	0%
<b>TRANSITO (total)</b>	<b>1322</b>	<b>100%</b>	<b>1295</b>	<b>100%</b>	<b>1429</b>	<b>100%</b>	<b>837</b>	<b>100%</b>	<b>526</b>	<b>100%</b>

Tabela 2 - Análise do trânsito de equídeos por mês de outras UF's para o Piauí no período de 2011 a 2015.

Fonte: ADAPI, 2016

Observa-se que em todos os anos ocorre um aumento padrão nos meses de maio, junho, julho e novembro, isso revela-se como reflexo do número de eventos que são realizados nesses meses todos os anos (Gráfico 1)

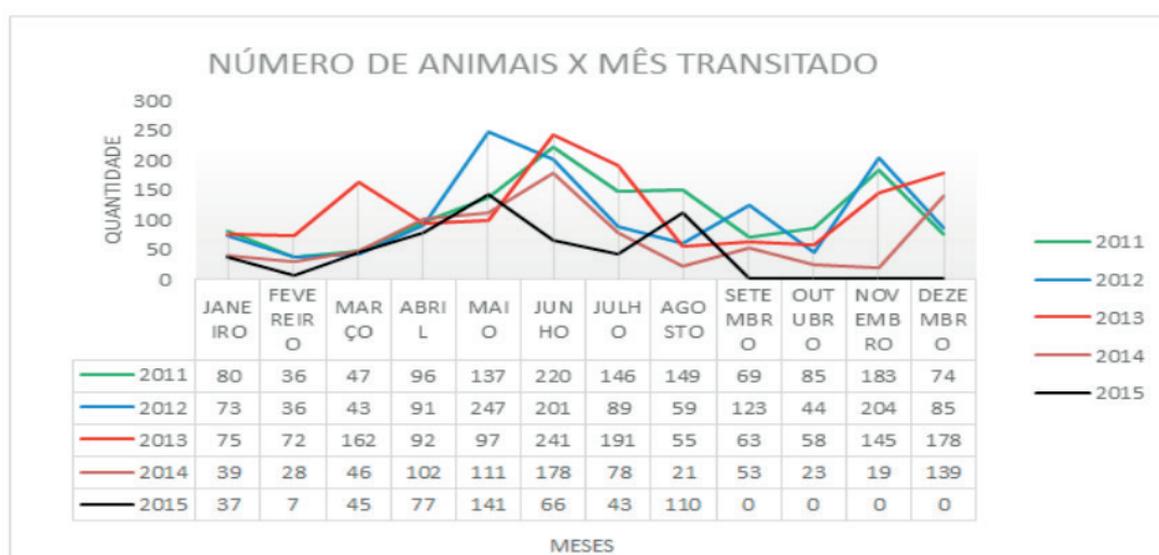


Gráfico 01 – Observação dos picos de transitos de equídeos provenientes de outros UF's para o Piauí no período de 2011 a 2015, com ênfase aos meses de maio, junho, julho e novembro.

Fonte: ADAPI, 2016.

Quando se faz a relação da quantidade de animais que adentraram ao estado em relação ao ano identifica-se que não há grandes alterações no fluxo e que este se mantém em leve flutuação e que no ano de 2014 o baixo número de animais declarados pode ser reflexo dos breves períodos que ocorreram greve no órgão, portanto que não houve fiscalização do trânsito animal observado (Gráfico 2).



Gráfico 02 – Número de equídeos que adentraram ao Piauí no período de 2011 a 2015, que demonstra a flutuação de trânsito de animais e o decaimento no ano de 2014 e 2015 por greve e não observação dos dados respectivamente.

Fonte: ADAPI, 2016.

Para Silveira et.al., (2013), a fiscalização e o controle de trânsito é uma das medidas de fundamental importância para evitar a propagação da doença entre os plantéis de equídeos.

Não foi possível a análise dos dados referente ao trânsito de equídeos nos meses de setembro a dezembro de 2015, pois nessa data houve a transição dos dados manuais para o sistema SIAPEC e que por dispor de um só funcionário no controle e divulgação dos dados, tornou-se indisponível a posse do material. Por isso, observa-se no Gráfico 2, uma acentuada diminuição na quantidade de animais quando se analisa a linha demonstrativa do número de animais em relação aos anos da pesquisa.

Quanto à finalidade dos animais que promovem este fluxo intenso para Piauí, é notório que a finalidade esporte é a mais utilizada, devido ao grande número de eventos equestres realizados todos os anos no Piauí. Segundo Neubauer (2005), o trânsito de equídeos para eventos ou lazer pode favorecer a entrada do mormo em áreas livres da doença. Manso Filho et. al., (2000) observou que a doença ocorria no Brasil nos animais utilizados no trabalho na zona da mata dos estados de Pernambuco e Alagoas e em animais que participavam em vaquejadas e cavalgadas dessas mesmas regiões, corroborando com o relato da epidemiologia de Neubauer et. al., (2005).

Um fato que é também muito importante elencar é a fronteira que o Piauí faz

com outros Estados que apresentam ou já apresentaram números altos de incidência da doença, como o Pernambuco que desde a “ressurgência” da doença sempre apresentou casos de mormo em seu plantel (MOTA, 2000) e o Ceará que em 2012 teve um surto de casos em seu domínio (ADAGRI, 2013), então resguardar nossas fronteiras é fator primordial para evitar a entrada do agente, pois diminui a probabilidade de transmissão.

### 3.2 Avaliação dos Dados dos Eventos

De acordo com os dados colhidos em relação à realização de eventos com a participação de equídeos, estes totalizaram 171 eventos fiscalizados no período estudado de 2011 a 2015.

Nota-se que no ano de 2011 e 2013 só houve um registro de evento nos dados cedidos, ou seja, ou houve perdas dos dados pela própria Agência no setor responsável ou então não houve fiscalizações destes, pois quando observado o banco de dados do setor de trânsito percebe-se que houve entrada de animais durante todo o ano com a finalidade esporte, atentar para o gráfico 3.

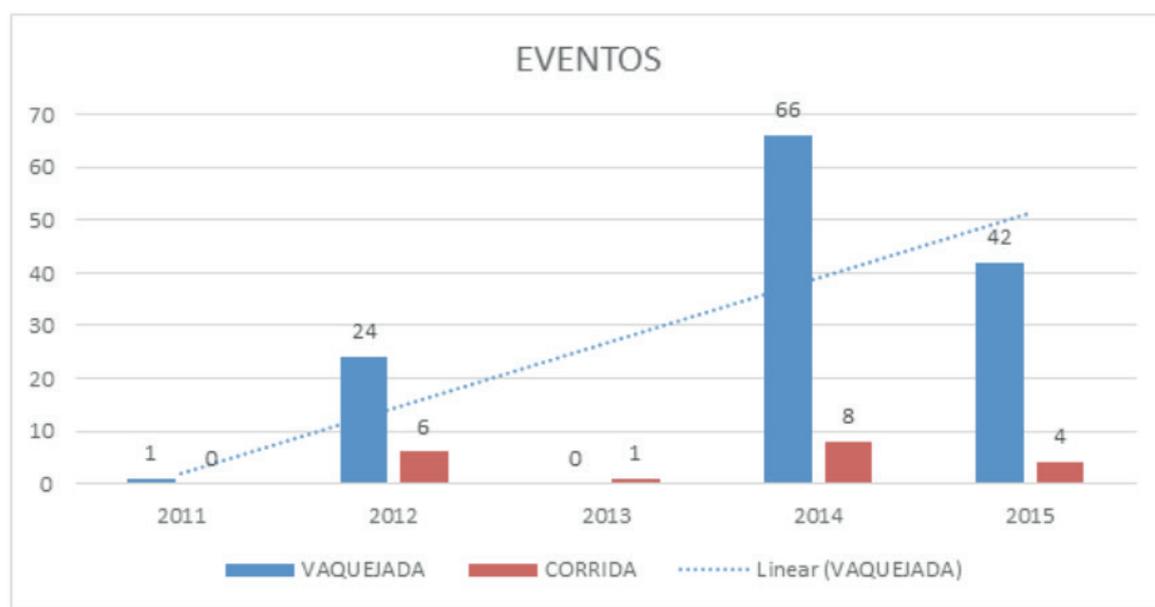


Gráfico 03 – Análise do número de eventos realizados por ano e tipo de eventos equestres do Estado do Piauí no período de 2011 a 2015, observação da prevalência do evento vaquejada em todos os anos do estudo.

Fonte: ADAPI, 2016.

É interessante salientar que as coordenações da Agência de Defesa, são de tempos em tempos trocadas de coordenadores, que estes são designados por nível de confiança do Diretor Geral, havendo assim descontinuidades nos trabalhos e na forma de coordenar, podendo ser o fator decisivo para as perdas de dados, que são importantes para um estudo aprofundado da ocorrência (epidemiologia) e controle de surtos da doença.

Na tabela 3, visualizam-se os tipos de eventos que são realizados com a participação de equídeos e nota-se que o maior número de eventos está relacionado com a vaquejada, evento este que tem período maior de duração entre os eventos equestres realizados, durando de 2 a 3 dias, permitindo um maior contato entre os animais que ali se encontram e criando oportunidades para a transmissão de patógenos causadores de doença.

ANO	OUTROS EVENTOS						
	VAQUEJADA	CORRIDA	EXPOSIÇÃO	TAMBOR	LEILAO	CAVALGADA	PEGA DO BOI
2011	1	0	0	0	0	0	0
2012	24	6	2	1	0	0	0
2013	0	1	0	0	0	0	0
2014	66	8	2	0	2	0	0
2015	42	4	2	2	1	6	1
<b>TOTAL</b>	<b>133</b>	<b>19</b>	<b>6</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>6</b>	<b>1</b>

Tabela 03 – Quantidade de eventos equestres registrados no período de 2011 a 2015 no estado do Piauí, elencados por ano e por tipo de evento.

Fonte: ADAPI, 2015.

Segundo Silveira (2013), a realização de eventos equestres, há uma maior aglomeração de animais proporcionando um aumento nos riscos de transmissão do agente e Mota (2000) ressalta que a transmissão é facilitada pelo uso de bebedouros e cochos coletivos.

Quanto ao número de animais advindos de outras UF's que frequentaram os eventos no período de estudo, ver que os estados do Maranhão, Ceará, Pernambuco e Pará estiveram em todos os anos com presença significativa de animais (Tabela 4).

ANOS	MA	CE	PA	PE
2011	51	58	13	105
2012	190	46	5	63
2013	0	0	0	0
2014	183	200	30	143
2015	437	141	6	49
<b>TOTAL</b>	<b>861</b>	<b>445</b>	<b>54</b>	<b>360</b>

Tabela 04 – Quantidade de equídeos por UF's que mais participaram de eventos no período de 2011 a 2015 no Piauí.

Fonte: ADAPI, 2015.

O estudo demonstra que a maioria dos animais que participam dos eventos equestres piauiense é proveniente do nordeste e norte do país, como: Sergipe, Rio Grande do Norte, Bahia, Paraíba, Alagoas e Tocantins, ocorrendo de forma esporádica o trânsito do Centro-Oeste e Sudeste do País, como: Distrito Federal e São Paulo.



Gráfico 04 – Demonstrativo em porcentagem da concentração de eventos equestres realizados no Estado do Piauí entre os meses no período de estudo de 2011 a 2015.

Fonte: ADAPI, 2015.

No gráfico 4, à visualização dos meses que tem maior concentração de eventos equestres, destaque para os meses de maio, junho e julho com o maior percentual absoluto, indicando que há uma relação com os registros de trânsito analisados em igual período, porém a de se observar que os anos de 2011 e 2013 não constam a quantidade de eventos realizados fidedignos, então, podendo os dados apresentados em eventos serem maiores.

Outro fator a analisar, é a realização de eventos que não são fiscalizados pela Agência, ou seja, que são irregulares e que não oferecem a mínima segurança, já que nestes eventos a circulação de animais testados em comunhão de animais que nunca foram se quer examinados, favorecem a disseminação da bactéria.

### 3.3 Avaliação dos Dados

De acordo com os dados levantados, com base nos exames realizados, a prevalência da doença no rebanho de equídeos do Estado do Piauí nos anos de 2011 a 2015 é de 0,003%; 0,002%; 0,002%; 0,0005% e 0,009% respectivamente.

Até o ano de 2014, no Piauí só apresentava exames com resultados inclusivos

e/ou anticomplementares, aparecendo somente em 2015, dois casos de animais positivos no exame de FC, que posteriormente foi realizado o teste de Maleína e comprovado a positividade.

À análise dos Form-in abertos por ocasião dos resultados inclusivos, anticomplementares e positivos nos cinco anos de estudo, verifica-se que a investigação de movimentação e rastreabilidade animal não foram realizadas a contento, não identificando os ambientes que poderiam ser fontes susceptíveis para a transmissão e disseminação da doença.

Form-in é uma ficha de investigação inicial produzida para anotar informações pelo médico veterinário em sua primeira visita a uma propriedade que tenha sido notificada ou detectada pela vigilância a ocorrência de uma doença ou sua suspeita. É um documento de obrigatório preenchimento em casos de doenças que estejam na lista geral de Epizootias da OIE.

A propriedade que é investigada nos termos acima descritos para a doença mormo são consideradas um foco e que só deixará de ser caso os animais investigados apresentem teste de FC negativo por duas vezes consecutivas e/ou o animal(s) positivo(s) seja(m) destruído(s).

No ano de 2015, duas propriedades apresentaram no teste de FC, resultados positivos, sendo uma em Campo Maior e a outra em Teresina, todas as duas foram consideradas focos e foram realizada a interdição da propriedade para promover o saneamento do foco. Esse ano foi destacado com o maior número de investigações epidemiológicas. Porém o que não se observa em todas as investigações o monitoramento do trânsito destes animais suspeitos, ou seja, não há a rastreabilidade do foco para saber de onde veio, em que situação se encontrava e como o animal apresentou anticorpos detectáveis em exame. Perguntas essas que elucidam a epidemiologia da doença e corroboram para seu controle e erradicação.

Peixoto (2015) descreve com base na investigação epidemiológica realizada pela ADAB – Agência de Defesa Agropecuária da Bahia, o primeiro caso autóctone de mormo, depois que se levantou a movimentação da propriedade e o rastreio do animal, no qual se verificou que o animal havia se contaminado com o agente na Bahia e não por contato com outros animais.

O mormo no Estado do Piauí ainda está se apresentando de forma esporádica pelo território, porém é válido salientar que investigações epidemiológicas mal sucedidas, aliado a desinformação por parte da população envolvida pode mudar esta realidade para pior, como acontece com a Anemia Infeciosa Equina que hoje é endêmica.

Em observação ao mapa do Piauí (Figura 01), verifica-se a distribuição dos focos ao longo do período de estudo e nota-se que os casos estão distribuídos em todo território, com um agrave, percebe-se que o norte do estado é o que concentra mais as investigações epidemiológicas.

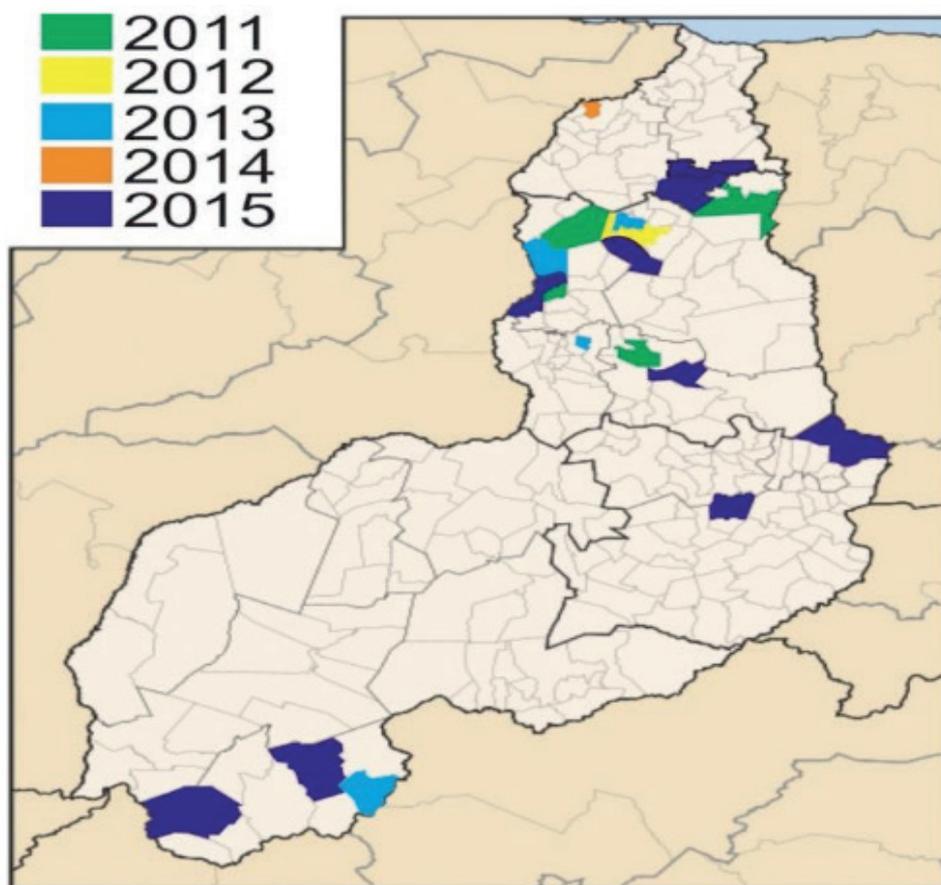


FIGURA 01 – Mapa do Piauí, com os respectivos municípios que foram alvos de investigação, identificados por ano de apresentação no período de 2011 à 2015.

Fonte: ADAPI, 2015

Dois municípios, Campo Maior e Teresina, apresentaram em 2011 casos de exames inconclusivos que foram negativos, posterior ao teste de maleína e no ano de 2015 voltam a apresentar casos, porém com resultados positivos.

Acredita-se que o maior percentual de casos investigados na região norte, seja devido a maior concentração de animais que participam de eventos e como tal são mais testados com maior regularidade.

#### 4 | CONCLUSÃO

A fiscalização e controle de trânsito, a fiscalização de eventos e a investigação epidemiológica formam um tripé essencial para evitar a disseminação do mormo no Piauí. Apesar do aumento no ano de 2015 do número de focos e o aparecimento de 2 casos positivos nos testes de FC e posterior em maleína, o Piauí ainda é considerado com casos esporádicos, porém com riscos que esta se torne endêmica para o mormo.

A falta de fiscalizações ativas e passivas mais enérgicas, como a falta de realização de sorologia por amostra livre, dificulta o dimensionamento da ocorrência verdadeira da doença, haja vista que os equinos podem desenvolver a forma crônica da doença e sendo o fornecedor do agente para o meio, além do rastreamento eficiente do animal

suspeito para identificar a fonte de contaminação.

Percebe-se que o trânsito de animais de outras UF's, como a realização de eventos no território piauiense pode favorecer a disseminação e transmissão do mormo. Para tanto, é importante que os eventos sejam bem fiscalizados e se atentando para a educação sanitária no intuito de se evitar comedouros e bebedouros comuns e a importância de exames regulares dos plantéis de equídeos. Na análise dos dados epidemiológicos mostra nitidamente que houve um aumento de casos de investigação de animais que apresentaram exames inconclusivos e anticomplementares até a evolução do aparecimento de casos positivos.

Pode-se afirmar que o serviço de defesa agropecuária do Estado tem problemas estruturais graves, sendo um deles: o número reduzido do seu corpo técnico, que inviabiliza a realização de todas as atividades que o órgão é responsável, prejudicando toda a cadeia epidemiológica, preventiva e de controle das doenças. Dito isto, entende-se como necessidade também a padronização das atividades e a realização de ações de combate ao mormo. Para tal, é necessária a formação de um grupo sanitário, assim como existe para a febre aftosa, para haver investigações epidemiológicas mais laboriosas com realização de sorologia afim de que possa compreender a prevalência real da doença em nosso rebanho.

## REFERÊNCIAS

- ADAGRI, **Surto de mormo coloca Defesa Sanitária do Ceará em alerta**. 2013. Disponível em: <http://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2013/04/surto-de-mormo-coloca-defesa-sanitaria-do-ceara-em-alerta.html>. Acessado em 30/12/2019.
- BEER, J. **Doenças Infecciosas em Animais Domésticos**. Editora Roca LTDA, São Paulo, 1999. p 142-147, parte 2.
- BRASIL. **Instrução Normativa N° 24, de 5 de abril de 2004, da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 15 de novembro de 2019
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2011. **Equídeos**. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>>. Acesso em: 15 de dezembro de 2019.
- DITTMANN, L. R. et.al. **Aspectos Clínico-Patológicos Do Mormo Em Equinos: Revisão De Literatura**. Alm. Med. Vet. Zoo. 2015.
- LEOPOLDINO, D.C.C; OLIVEIRA, R.G. **Mormo em equinos**. Revista científica eletrônica de Medicina Veterinária, Garça/SP, n. 12, 2009.
- MANSO FILHO, H.C.; et.al. **Glanders in Working Horses (BRASIL) Draught Animals news**. V. 33 p. 9 – 12, 2000.
- MOTA, R.A.; BRITO, M.F.; CASTRO, F.J.C.; MASSA, M. **Mormo em equídeos nos estados de Pernambuco e Alagoas**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 20, n.4, p.155-159, 2000.

MOTA, R.A. **Aspectos etiopatológicos, epidemiológicos e clínicos do mormo**. Veterinária e Zootecnia, v.13, n.2, p.117-124, 2006.

MOTA, R.A.; OLIVEIRA, A.A.F.; JUNIOR, W.P.; SILVA, L.B.G.; BRITO, M.F.; RABELO, S.S.A. **Glanders in donkeys (*Equus asinus*) in the state of Pernambuco, Brasil: a case report**. Brazilian Journal of Microbiology, v.41, p.146-149, 2010

MORAES, D.D.A. **Prevalência de mormo e anemia infecciosa equina em equídeos de tração do distrito federal**. Brasília: Faculdade de agronomia e veterinária, universidade de Brasília, 2011, 85 p. Dissertação de Mestrado.

NEUBAUER, H.; SPRAGUE, L.D.; ZACARIA, R.; TOMASO, H.; AL DAHOUK, S.; WEMERY, R.; WEMERY, U.; SCHOLZ, H.C. **Serodiagnosis of Burkholderia mallei Infections in Horses: State-of-the-art and Perspectives**. The Journal of Veterinary Medicine, v.52, n.5, p.201-205, 2005.

OIE- Organização Mundial de Saúde Animal. **Terrestrial Manual**, chapter 2.5.6- Equine Infectious Anaemia, 2008.

OIE: **Glanders**. 2013, Capítulo 2.5.11: Disponível em: [<http://www.oie.int>].

OLIVEIRA, L. A. **Apostila de Equideocultura. Universidade Federal do Piauí - UFPI**. Centro de Ciências Agrárias - CCA. Departamento de Zootecnia - DZO. CRMV- PI, 170316. Janeiro de 2000.

PEIXOTO, T. C. et.al. **Primeiro Caso Autóctone de Mormo no Estado da Bahia**. Enciclopédia Biosfera – Centro Científico Conhecer. Goiânia v. 11 n. 21 p. 1499, 2015.

SILVEIRA, P. P. da; et.al., **Comparação de prevalência do Mormo entre as Zonas da Mata, Agreste e Sertão de Pernambuco, 2005 à 2011**. Ciencia vet. Trop. Recife-PE , v. 16, n. 1/2/3, p. 45 – 52, Janeiro/Dezembro, 2013.

SOUZA, M. M. A. de. **Diagnóstico do Mormo Através da Técnica de Fixação de Complemento Utilizando-se de Diferentes Antígenos e Métodos de Incubação**. Recife-PE: Universidade Federal Rural de Pernambuco, Dissertação de Mestrado, 2012.

WHITLOCK, G.C.; ESTES, D.M.; TORRE, A.G. **Glanders: off to the races with Burkholderia mallei**. Federation of European Microbiological Societies, p.115-122, 2007.

## ESTUDO RETROSPECTIVO PARA PESQUISA DO VÍRUS ZIKA E ALFAVÍRUS EM AMOSTRAS DE PRIMATAS NÃO HUMANOS, EM 2015, NO BRASIL

Data de Submissão: 05/02/2020

Data de aceite: 15/05/2020

### **Sélyly Socorro dos Praseres Lira**

Universidade do Estado do Pará, Mestrado no programa de pós-graduação em Biologia Parasitária na Amazônia (PGBPA)

Belém-Pará

<http://lattes.cnpq.br/2742204747414189>

### **Emylly Barrozo Caldas**

Universidade do Estado do Pará (UEPA), Mestrado no programa de pós-graduação em Biologia Parasitária na Amazônia (PGBPA)

Belém-Pará

<http://lattes.cnpq.br/5177663145138920>

### **Daniela Sueli Guerreiro Rodrigues**

Instituto Evandro Chagas, Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas, Laboratório de Biologia Molecular

Ananindeua-Pará

<http://lattes.cnpq.br/3005184763794027>

### **Ana Cecília Ribeiro Cruz**

Instituto Evandro Chagas, Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas, Laboratório de Biologia Molecular

Ananindeua-Pará

<http://lattes.cnpq.br/8080838290715777>

**RESUMO:** Realizou-se um estudo retrospectivo para pesquisa de *alfavírus* e VZIK em amostras biológicas de PNH recebidas na Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas (SAARB) do Instituto Evandro Chagas, como demanda espontânea da vigilância da febre amarela no Brasil, em 2015. Todas as amostras foram submetidas à extração de RNA, utilizando o método do Trizol Plus (kit Ambion, Invitrogen), seguindo as instruções do fabricante. Para pesquisa do genoma de *alfavírus*, adotou-se o método de PCR convencional, usando primers gênero-específicos, enquanto o RT-qPCR foi utilizado para pesquisa dos vírus chikungunya e Mayaro e pesquisa do VZIK, apenas sob condição de positividade no PCR convencional para *alfavírus*. Foram analisados 78 PNH, das regiões Norte, Nordeste, Centro-oeste, Sul e Sudeste do Brasil. As amostras foram escolhidas aleatoriamente. A pesquisa para *Alfavírus* e VZIK apresentaram 100% das amostras negativas para esse alvo viral. Este estudo apresenta grande relevância no que diz respeito à circulação de diversos arbovírus simultaneamente, principalmente dos *Flavivirus* e *Alphavirus*, no território brasileiro e pelo fato dos PNH serem um dos principais animais vertebrados participantes dos ciclos enzoóticos desses vírus. Ainda que os resultados tenham sido negativos, não se pode descartar a importância deste estudo retrospectivo de

arbovírus em PNH, como uma oportunidade de acrescentar mais informações sobre a epidemiologia de vírus do gênero *Alphavirus* no território brasileiro. Uma vez que, na literatura existem relatos da detecção de algumas espécies desse gênero em primatas não humanos, alertando ainda mais a necessidade de mais estudos nessa área.

**PALAVRAS-CHAVE:** Arbovirose; Epidemiologia; Primatas; Zoonoses.

## RETROSPECTIVE STUDY FOR RESEARCH OF ZIKA VIRUS AND ALPHAVIRUS IN SAMPLES OF NON-HUMAN PRIMATES, IN 2015, IN BRAZIL

**ABSTRACT:** Was performed a retrospective study for detection of *Alphavirus* and Zika virus in biological samples from non-human primates. The samples were received in 2015, in the Section of arbovirology and hemorrhagic fevers from Evandro Chagas Institute, coming from yellow fever surveillance system in Brazil. All the samples were submitted to RNA purification using the Trizol Plus method (Kit Ambion Invitrogen) following the manufacturer's instructions. To the research of *Alphavirus*, we adopted the RT-PCR method using specific general primers. The detection of Zika virus was performed using the RTqPCR real time. 78 non-human primates were analyzed from regions of the north, northeast, South, Midwest and southeastern of Brazil. All samples presented negative results to the Alphavirus and Zika virus. The present study presented high relevance about the arbovirus circulation in Brazil, especially because the non-human primates are the main vertebrate animals that participate in the enzootic cycles of arboviruses. The negative results do not discard the importance of this retrospective study about arbovirus and non-human primates, because this is an opportunity to introduce more information about the *Alphavirus* and Zika virus epidemiology in Brazilian territory, and collaborate to the many studies recently published, that relate detection of Alphavirus in non-human primates in Brazil, warning the need of studies about this dynamic.

**KEYWORDS:** Arboviruses; Epidemiology; Primates; Zoonoses.

## 1 | INTRODUÇÃO

Os arbovírus são transmitidos por vetores artrópodes hematófagos infectam hospedeiros vertebrados suscetíveis. São considerados um sério agravo de saúde pública, cujo quadro clínico pode variar desde uma doença febril inespecífica à síndrome neurológica (CASSEB; SILVA; VASCONCELOS, 2013).

São vírus que se mantêm na natureza por meio de ciclos enzoóticos, no qual envolve hospedeiros vertebrados, como pequenos mamíferos, aves, primatas e seres humanos, e uma infinidade de vetores artrópodes, com destaque para o mosquito do gênero *Aedes sp* e o *Culex sp*. (FIGUEIREDO, 2007).

A ação do homem nesse ambiente pode modificar as condições naturais e favorecer a dispersão dos vírus, uma vez que tais mudanças podem estabelecer

elementos que facilitem a proliferação dos vetores. Em geral, o homem é um hospedeiro acidental que se infecta ao adentrar áreas de mata para realizar atividades de labuta ou lazer, exceto nos casos das arboviroses que normalmente ocorrem em área urbana, como a Dengue (MENEZES et al., 2017).

No ambiente selvagem, os primatas não humanos (PNH) estão entre os vertebrados que participam do ciclo de manutenção de certos arbovírus, tais como os vírus da Febre Amarela (VFA), vírus Zika (VZIK), vírus Chikungunya (VCHIK) e vírus Mayaro (VMAY), sendo muito utilizados como animais sentinelas em diversos estudos, visto que, a presença de infecção arboviral nesses animais é um indicativo de circulação viral em determinado local (MONATH; VASCONCELOS, 2015). No Brasil, a ocorrência de epizootias em PNH é reconhecida como um indicador essencial pelo Ministério da Saúde na vigilância da febre amarela, onde as mortes desses animais funcionam como sinalizador do possível aparecimento da doença na população humana, possibilitando a adoção de medidas profiláticas e de controle (BRASIL, 2014).

Sabe-se que no território brasileiro há circulação de *Flavivirus*, como o VZIK e de arbovírus do gênero Alphavírus, como VCHIK e VMAY. Diante disso, os PNH são essenciais para o monitoramento da circulação desses vírus, uma vez que, além de indicar a dispersão viral, possibilita, também, verificar a possível existência de um ciclo silvestre desses arbovírus em questão (NUNES et al., 2015).

Em 2016, Favoretto e colaboradores detectaram o VZIK em primatas neotropicais do Nordeste do Brasil, evidenciando a predisposição destes animais à infecção pelo VZIK e a possibilidade deste se estabelecer utilizando os PNH como reservatório no Brasil (FAVORETTO et al., 2016). Em pesquisas realizadas com PNH, observa-se a capacidade do vírus, de se replicar neste hospedeiro (ONLAMOON et al., 2010), porém, sem que se apresentem sinais como na infecção em humanos considerando que em PNH, o VDEN, por exemplo, apresenta baixa viremia e por esta razão não se observam sequelas a longo prazo em PNH pós- infecção (ZOMPI; HARRIS, 2012).

Além disso, os arbovírus apresentam uma alta capacidade de adaptação a diversos hospedeiros, sejam vertebrados ou invertebrados, isso gera um alerta para a possibilidade de PNH serem um potencial reservatório desses vírus. Por isso, os estudos epidemiológicos de vigilância nesses animais apresentam muita importância, considerando sua participação no ciclo de manutenção de zoonoses e sua aplicação como indicador de circulação de determinados arbovírus (FAVORETTO et al., 2016).

Dessa forma, devido à importância epidemiológica, realizou-se uma investigação retrospectiva para pesquisa de Alfavírus e vírus Zika em amostras biológicas de PNH recebidas na Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas (SAARB) do Instituto Evandro Chagas, como demanda espontânea da vigilância da febre amarela no Brasil, no ano de 2015.

## 2 | MATERIAIS E MÉTODOS

### SELEÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram selecionadas amostras de RNA extraídos anteriormente pela Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas (SAARB). Tais amostras, foram extraídas a partir de sangue e/ou vísceras de 78 PNH, provenientes de várias regiões do Brasil, as quais foram recebidas e processadas na Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas (SAARB) do Instituto Evandro Chagas como demanda espontânea da vigilância da febre amarela no Brasil. O RNA total foi extraído das amostras utilizando o método do Trizol Plus (*kit Ambion, Invitrogen*), seguindo as instruções do fabricante.

As amostras biológicas destes PNH foram, em geral, obtidas no contexto de epizootias e enviadas ao SAARB/IEC para a pesquisa de Febre amarela. Após análise laboratorial, verificou-se que apenas duas amostras de PNH apresentaram positividade para o VFA. Segundo informações colhidas nos ofícios de solicitação, os animais cujas amostras foram enviadas para a SAARB, em sua grande maioria, pertenciam às espécies como *Callithrix penicillata*, *Callithrix jacchus* e *Alouatta caraya*, os quais pertencem à gêneros que se apresentam como principais hospedeiros do VFA. Todavia, nem todos os ofícios apresentavam estas informações.

### CRITÉRIO DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram incluídas todas as amostras de PNH recebidas para investigação do vírus da Febre Amarela e que obtiveram resultados negativos para esse alvo. Excluiu-se do estudo, todos os PNH que não apresentaram quantidade de RNA extraído o suficiente, para realização dos testes propostos.

### RT-PCR QUALITATIVO

Para a detecção de genoma de *Alphavirus* foi empregada a técnica de RT-PCR convencional utilizando iniciadores gênero-específicos, com hibridização de regiões conservadas do gene da proteína viral não-estrutural nsP1 desse gênero (quadro 1).

Primer e sondas	Sequência	Referência
Alfavírus M2W F	YAGAGCDTTTTCGC AYSTRGCHW	PFEFFER <i>et al.</i> , 1997
Alfavírus M3W R	ACATRAANKGNGT NGTRTCRAANCCDA YCC	PFEFFER <i>et al.</i> , 1997

Quadro 1: Sequências dos iniciadores empregadas na detecção do genoma de Alphavirus pela técnica de RT-PCR.

Para o controle positivo da reação, utilizou-se RNA do vírus Mayaro e Pixuna, arbovírus pertencentes ao gênero *Alphavirus*, cedido pelo Laboratório de Biologia Molecular da SAARB. Foram realizadas diferentes diluições, a qual foi a amostra pura

do controle positivo, uma vez que apresentou melhor visualização (figura 1).



Figura 1: Eletroforese em gel de agarose a 1,5% dos controles positivos para Alphavírus.

Nota: MAY- vírus mayaro; PIX – vírus Pixúna; PM – peso molecular.

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Para a transcrição reversa do DNA complementar (cDNA), foram utilizados o ácido nucléico extraído (7ul), água ultrapura (2,5ul), iniciador randômico (2,5ul), deoxinucleotídeos trifosfatados (DNTP's) (1ul), Tampão 5x (4ul), DTT (1ul), inibidor de RNase (RNase OUT) (1ul) e transcriptase reversa (RT; Superscript III, Invitrogen). Todas as amostras, então, foram incubadas a 55°C por 60 minutos; a inativação da reação se deu por aquecimento à 70°C por 15 minutos.

Para a amplificação do cDNA, foi realizada para ampliar a região do gene nsP1 dos alphavírus. Utilizou-se cDNA (5ul), tampão de PCR 10x (5 µL), MgCl<sub>2</sub> (1,5 µL), DNTPs (1 µL), água ultrapura (34,5ul), enzima *Platinum® Taq DNA polymerase* (Invitrogen) (1 µL) e iniciador M2W F (1 µL) e M3W R (1 µL).

A reação se deu em termociclador GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems) e submetida a um ciclo de desnaturação 95°C por 30 segundos, hibridização dos iniciadores a 55°C por 30 segundos e extensão a 68°C por 2,5 minutos, seguido de um ciclo de extensão final de 68°C por 5 minutos. Foram inclusos controles positivos e negativos.

Após a amplificação, o produto foi submetido à eletroforese em gel de agarose a 1,5% em tampão Tris-Acetato-EDTA 2X, corado com SybrSafe e peso molecular de 250pb e visualizados em fotodocumentador pelo Software L-PIX- EX (Loccus). As amostras positivas foram encaminhadas para a realização do RT-qPCR para VCHIK e VMAY.

## RT-qPCR QUANTITATIVO

A técnica de RT-Qpcr em tempo real foi realizada para investigação de VZIK, VCHIK e VMAY. Aplicaram-se os protocolos já adotados no laboratório, os quais foram utilizados os iniciadores e sondas apresentados no quadro 2.

Primer e sondas	Primer e sondas	Primer e sondas
Vírus Zika ENV 1086F	AARTACACATACCARAA CAAAGTG GT	LANCIOTTI <i>et al.</i> , 2008
Vírus Zika ENV 1162R	TCCRCTCCCYCTYTGGTC TTG	LANCIOTTI <i>et al.</i> , 2008
Vírus Zika VZIK ENV 1107p [FAM]	AGCCTACCTTGACAAGC AGTCAGACACTCAA	LANCIOTTI <i>et al.</i> , 2008
Vírus Chikungunya NS4 6856F	TCACTCCCTGTTGGACTT GATAGA	LANCIOTTI <i>et al.</i> , 2007
Vírus Chikungunya NS4 6981R	TTGACGAACAGAGTTAG GAACATACC	LANCIOTTI <i>et al.</i> , 2007
Vírus Chikungunya VCHIK NS4 899p [FAM]	CGCTGTGATACAGTGGT TTCGTGTG	LANCIOTTI <i>et al.</i> , 2007
Vírus Mayaro NSP2 MAYVqPCR – 1Foward	CGCGTGCCATGCGGGGA	JUNIOR CELESTINO, 2012
Vírus Mayaro NSP2 MAYqPCR – 1Reverse	CGCCACGGTACGACCAC GCA[BHQ1]	JUNIOR CELESTINO, 2012
Vírus Mayaro MAYqPCR [FAM]	CGCCACGGTACGACCAC GCA[BHQ1]	JUNIOR CELESTINO, 2012

Quadro 2: Sequências dos iniciadores e sondas empregadas na detecção do genoma de VZIK, VCHIK e VMAY pela técnica de RT-qPCR.

O teste foi feito utilizando o kit comercial *RT-qPCR SuperScript™ III Platinum™ One-Step qRT-PCR (Thermo Fisher Scientific)*, seguindo as orientações do fabricante. As reações de RT-PCR foram realizadas no aparelho ABI PRISM 7500 ou 7500 fast (Applied Biosystem) com análise pelo programa 7500 versão 2.3., partindo de 5 µL de RNA total purificado adicionado à uma reação para volume total de 25 µL.

As reações foram definidas para um volume final de 10 µL contendo os seguintes reagentes: Master Mix (12,5 µL), água ultrapura (5,5 µL), iniciador R (1 µL), iniciador F (1 µL), sonda (0,5 µL), enzima Taq Polimerase (Ivitrogen) (0,5 µL) e RNA extraído (5 µL).

As condições de ciclagem utilizadas foram: 50°C por 30 minutos para o processo desnaturação, 95° C por 15 minutos para a RT, seguidos por 45 ciclos de 94° C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto sendo estas as temperaturas de anelamento e amplificação respectivamente. A análise foi realizada no software 7.500 FAST.

## ASPÉCTOS ÉTICOS

Por se tratar de material genético já processado no laboratório de Biologia Molecular da Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas (SAARB), não houve necessidade de submissão ao Comissão de *Ética* no uso de *Animais* (CEUA).

## 3 | RESULTADOS

Foram analisados 78 PNH das regiões Norte, Nordeste, Centro-oeste, Sul e Sudeste do Brasil. Os estados de origem dessas amostras foram Amazonas, Tocantins, Rio Grande do Norte, Mato Grosso, Goiás, Minas Gerais e Rio Grande do Sul (figura 2).

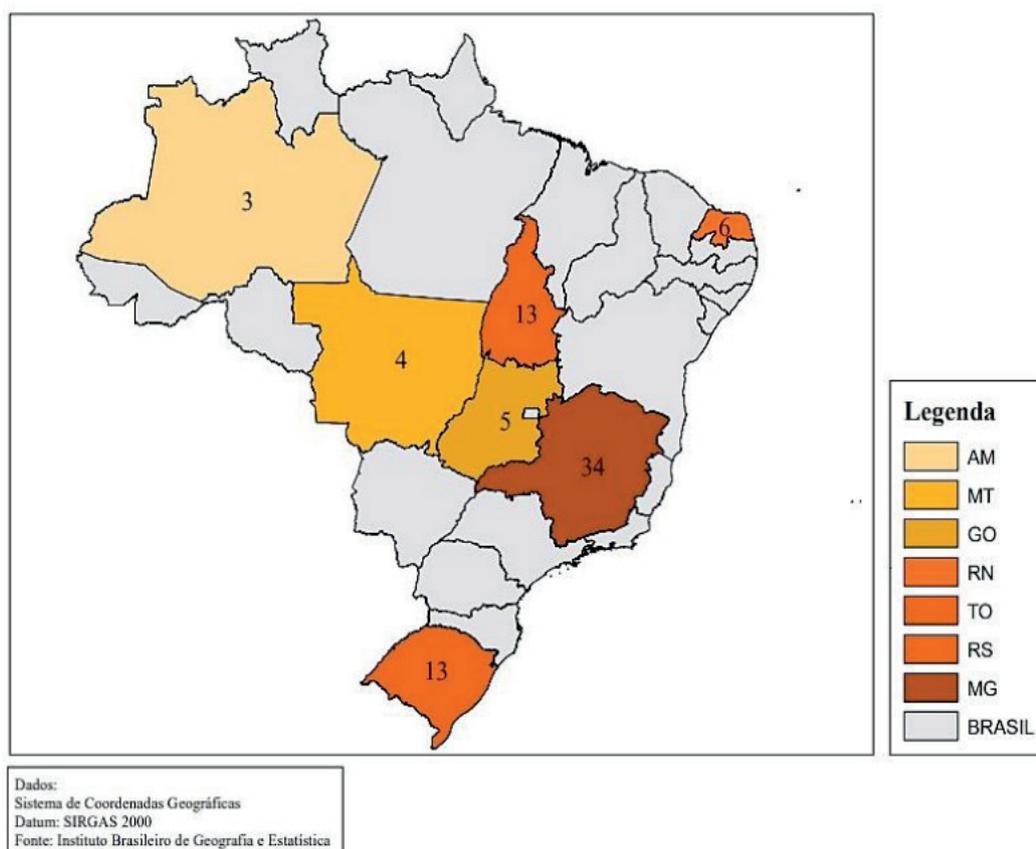


Figura 2: Distribuição geográfica do número de PNH analisados no estudo.

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Essas amostras foram escolhidas de maneira aleatória que apresentavam solicitação para investigação do vírus da Febre Amarela nesses PNH, na Seção de

Arbovirologia e Febres Hemorrágicas (SAARB) do Instituto Evandro Chagas, Belém-PA, no ano de 2016.

Além disso, segundo informações obtidas nos ofícios de solicitantes e fichas de investigação, os animais cujas amostras foram enviadas como demanda espontânea da vigilância de Febre Amarela no Brasil, em sua grande maioria, pertenciam a espécies como *Callithrix penicillata*, *Callithrix jacchus* e *Alouatta caraya* pertencentes a gêneros que se apresentam como principais hospedeiros do VFA. Porém, nem todos os ofícios apresentavam estas informações.

As amostras de RNA extraído a partir de sangue e/ou vísceras dos PNH foram submetidas a técnica de RT-PCR para a investigação de *Alphavirus*. Das amostras analisadas, 100% não houve detecção do genoma para vírus do gênero pesquisado. Dessa maneira, as amostras não foram submetidas para a detecção do genoma do VCHIK e nem do VMAY.

Para a pesquisa do genoma do VZIK, todas as amostras foram submetidas à técnica de RT-qPCR e 100% também apresentaram negatividade para o alvo viral. Logo, todas amostras dos PNH analisadas, obtiveram resultados negativos para a investigação dos vírus em questão (quadro 3).

Região	UF	Quantidade de PNH	Tipo de amostra	RT-PCR Alphavirus	RT-qPCR VZIK
Norte	AM/TO	16	Cérebro, fígado, baço, pool (Pulmão, rim e coração).	Não detectado	Não detectado
Nordeste	RN	6	Cérebro, fígado, baço, pool (Pulmão, rim e coração).	Não detectado	Não detectado
Centro-oeste	GO/MT	9	Cérebro, fígado, baço, pool (Pulmão, rim e coração).	Não detectado	Não detectado
Sudeste	MG	34	Cérebro, fígado, baço, pool (Pulmão, rim e coração).	Não detectado	Não detectado
Sul	RS	13	Cérebro, fígado, baço, pool (Pulmão, rim e coração).	Não detectado	Não detectado
<b>TOTAL</b>			<b>78</b>		

Quadro 3: Quantificação das amostras biológicas de PNH analisadas por RT-qPCR para VZIK e RT-PCR para *Alphavirus*, de acordo com região de procedência.

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

## 4 | DISCUSSÃO

Este estudo apresenta grande relevância no que diz respeito à circulação de diversos arbovírus simultaneamente, principalmente dos *Flavivirus* e *Alphavirus*, no território brasileiro e pelo fato dos PNH serem um dos principais animais vertebrados participantes dos ciclos enzoóticos desses vírus. É válido considerar que determinados arbovírus apresentam baixa viremia em PNH, motivo este que esses animais pouco ou até mesmo não apresentam sinais da infecção (ZOMPI; HARRIS, 2012). Por isso, a importância de pesquisas dessa natureza para a investigação de arbovírus em animais sentinelas.

Historicamente, a circulação de arbovírus em PNH pode ser evidenciada pela sua participação no ciclo de manutenção silvestre de grande parte destes vírus (MONATH, 2001). A presença do VZIK em PNH, foi constatada desde o seu primeiro isolamento na África, no qual foi feito em macaco *Rhesus* (DICK; KITCHEN; HADDOW, 1952). No que se refere ao território brasileiro, em abril de 2015, o VZIK foi detectado em PNH por meio de análise laboratorial que se deu pela aplicação de método de RTqPCR em tempo real, além de sequenciamento genético (FAVORETTO et al., 2016).

Alguns *Alphavirus*, também possuem uma relação próxima com os PNH, tanto por serem constantemente utilizados como modelos experimentais em estudos relacionados a estes vírus (HAESE et al., 2014), quanto por já terem sido encontradas evidências sorológicas de *Alphavirus* em amostras de PNH no Brasil (MOREIRA-SOTO et al., 2018).

Em estudos de análise filogenética e de relógio molecular, sugeriu-se que a introdução do VZIK pode ter ocorrido entre maio e dezembro de 2013 (FARIA et al., 2016). Em contrapartida, o trabalho de Favoretto e colaboradores revelou evidência da circulação do VZIK em PNH em abril de 2015, dois anos após sua introdução no Brasil, e dentro de um contexto de epidemia no país (FAVORETTO et al., 2016), preconizando a possibilidade destes animais estarem atuando como um novo reservatório.

Assim, fez-se de grande interesse a pesquisa retrospectiva deste arbovírus nesses animais como uma possibilidade de acrescentar informações que auxiliem na elucidação da dinâmica de dispersão do VZIK no Brasil.

O contexto de epidemia de VZIK no país, seguiu-se logo após um surto de Chikungunya, que se iniciou em 2014 com o primeiro caso autóctone, no estado do Amapá. A partir daí, naquele mesmo ano, foram detectados 41 casos importados de infecção por VCHIK e 27 casos autóctones (NUNES et al., 2015). A dispersão do VCHIK deu-se principalmente em regiões turísticas do Brasil, onde tornou-se um grande desafio para a saúde pública, considerando a co-circulação de VZIK e VDEN, que dificultava o processo de diagnóstico. O VCHIK é um arbovírus pertencente ao gênero *Alphavirus*, e assim como este, no Brasil, existem vários outros vírus deste mesmo gênero, causadores de epidemia em humanos e animais, sendo assim de grande importância para a saúde pública, como é o caso do Vírus do Mayaro, que ocorre

frequentemente na região central do Brasil, e deve ser considerado em diagnósticos diferenciais de VZIK, VDEN e VCHIK, em áreas onde há co-circulação de arbovírus (BRUNINI et al., 2017).

Os resultados negativos para o VZIK por RT-qPCR e para os Alphavirus no teste de RT-PCR nas amostras de PNH analisadas, não são suficientes para garantir que não houve circulação destes arbovírus nos estados do Amazonas, Tocantins, Rio grande do Norte, Rio grande do Sul, Minas gerais e Goiás no período das coletas das amostras de PNH, uma vez que a coleta foi realizada em um curto período. Ademais, segundo dados contidos nos ofícios, algumas amostras foram coletadas a partir de animais que morreram no contexto de epizootias, os quais foram encontrados mortos em estado que poderia comprometer a conservação do material a ser analisado.

De acordo com nota informativa da secretaria de vigilância em saúde para procedimentos a serem adotados para a vigilância da Febre do vírus Zika e de outros arbovírus no Brasil, o tempo ideal de coleta após o óbito é de oito à doze horas no máximo (BRASIL, 2016a), sendo que estas amostras devem ser armazenadas à -70°C até o processamento (BRASIL, 2016b).

Além disso, o material trabalhado foi recebido em 2015 para que fosse feita pesquisa de VFA. Embora tenha sido adequadamente armazenado (-70°C) nas dependências do IEC desde o seu recebimento, o material recebido passou, em um primeiro momento, por descongelamentos a fim de se fornecer informações laboratoriais para a vigilância epidemiológica de VFA, sendo descongelados novamente um ano depois para a realização desta pesquisa, o que poderia implicar na queda de viremia presente nessas amostras tornando o material genético viral indetectável.

Métodos moleculares como o RT-PCR convencional e o RTqPCR em tempo real, apresentam boa sensibilidade e especificidade, contudo a efetividade destes ensaios depende do condicionamento adequado das amostras trabalhadas. No caso de amostras de tecido, sendo desta natureza a maior parte das amostras utilizadas neste estudo, é preferencial que as amostras sejam processadas imediatamente após serem obtidas para que não haja perda da concentração e qualidade do RNA (MICKE et al., 2006). Apesar do viés do congelamento, a qualidade das amostras para o processamento por RT-qPCR foi garantida por meio da adoção do controle interno endógeno, por meio do qual foi possível inferir a partir da sua detecção, que as amostras biológicas estavam aptas para análise, porém, existe a possibilidade de queda de viremia.

Diferentemente de nosso estudo, Favoretto et al. (2016) podem ter detectado a presença do VZIK em PNH, considerando o acompanhamento realizado durante todo o processo, desde a coleta do sangue, que foi o material utilizado, até o processamento pelo RT-qPCR, podendo assim, ter ocorrido maior preservação do material genético dos vírus contidos naquelas amostras.

Também é importante analisar que determinados arbovírus apresentam baixa viremia em PNH, motivo pelo qual se observam pouco ou nenhum sinal de infecção

nestes animais (ZOMPI; HARRIS, 2012), bem como estudos experimentais de inoculação do VZIK em PNH demonstraram a ausência de sintomas pós-inoculação (WALDORF et al., 2016). Este fator somado aos fatores citados anteriormente, podem dificultar a detecção viral. Portanto, pela possibilidade de inadequação das amostras devido à coleta tardia, seriam necessários estudos de imunohistoquímica para complementar a investigação pela pesquisa de antígenos do VZIK e *Alphavirus* no tecido fixado em formol.

Os resultados negativos, obtidos neste estudo não excluem a importância de que estudos de vigilância contínua em PNH continuem sendo realizados visto que já foi comprovada circulação de VZIK em PNH no Brasil, especialmente na região nordeste, onde foram realizados os estudos de Favoretto e colaboradores, que detectaram o genoma do VZIK em amostras de sangue de PNH em 2016, bem como já foram encontradas evidências sorológicas de circulação tanto do VZIK quanto de *Alphavirus* em PNH desta mesma região, em 2017 (MOREIRA-SOTO et al., 2018) sinalizando assim a importância da vigilância nesses animais (GALVÃO-BUENO et al., 2016).

Considerando a participação dos PNH nos ciclos de manutenção silvestre de *Alphavirus* cuja circulação é confirmada no país, como o VCHIK e o VMAY, o surto de VCHIK ocorrido em 2014, e a evidência sorológica destes vírus em PNH detectada por Moreira-Soto e colaboradores em 2017, o presente estudo reafirma a necessidade de realização de estudos de vigilância para detecção destes vírus em PNH, fundamentando a importância destes, como animais sentinelas.

O estudo realizado por Favoretto et al. (2016), trabalhou com amostras coletadas em período próximo à coleta do material trabalhado no presente estudo, sugerindo que poderia ser detectado a presença do VZIK nestas amostras. Portanto, este achado, sugere que o VZIK pode estar desenvolvendo um processo adaptativo que possibilite sua manutenção em um ciclo silvestre. O estudo de Moreira-Soto et al. (2018), no entanto, não conseguiu detectar o genoma viral, porém, tratando-se de amostra de soro, foi possível realizar sorologia e encontrar evidências de que houve contato dos PNH analisados, com o VZIK e com *Alphavirus*. Ressaltamos a importância da vigilância para a melhor compreensão do ciclo de manutenção destes arbovírus no Brasil, para que medidas profiláticas sejam tomadas no momento e locais certos a fim de ser reduzir o número de casos de doenças causadas por estes e, conseqüentemente, as sequelas causadas na população brasileira.

## 5 | CONCLUSÃO

Embora, tenhamos observado resultados negativos para o VZIK na amostragem analisada por RT-qPCR, não se pode eliminar a possibilidade de circulação de VZIK e *Alphavirus* entre os PNH do Brasil, uma vez que, já foi comprovada a infecção por VZIK em PNH silvestres do nordeste do país no início do ano de 2016, o que sugere

a necessidade de se efetuar a vigilância mais frequente e direcionada para o VZIK entre estes animais. Além disso, por se tratar de uma região endêmica, estudos dessa natureza são fundamentais para o monitoramento da dispersão e da adaptação desses arbovírus a diferentes hospedeiros na natureza.

## REFERÊNCIAS

CASSEB, L.M.N.; SILVA, S.P.; VASCONCELOS, P.F.C. **Arbovírus: Importante Zoonose na Amazônia Brasileira**. Vet e zootec., v. 20, n. 3, p. 9-17, set. 2013.

BRUNINI, S. et al. **High Frequency of Mayaro Virus IgM among Febrile Patients, Central Brazil**. Emerg Infect Dis., v. 23, n. 6, p. 1025-6, jun. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Monitoramento dos casos de dengue, febre de Chikungunya até a Semana Epidemiológica (SE) 47 de 2014**. Bol Epidemiol., v. 45, n. 31, p. 1-7, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Protocolo de Investigação de Óbitos por Arbovírus Urbanos no Brasil – Dengue, Chikungunya E Zika**. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2016a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Procedimentos a serem adotados para a vigilância da Febre do vírus Zika no Brasil**. Nota informativa [Internet]. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2016b, 1-7p.

DICK, G.W.; KITCHEN, S.F.; HADDOW, A.J. **Isolations and serological specificity**. Trans R Soc Trop Med Hyg., v. 46, n. 5, p. 509-520, sept. 1952.

FARIA, N. et al. **Zika vírus in the Americas: Early epidemiological and genetic findings**. Science, v. 15, n. 6283, p. 345-349, apr. 2016.

FAVORETTO, S. et al. **First detection of Zika virus in neotropical primates in Brazil: a possible new reservoir**. Biorxiv., v. 20, abr. 2016.

FIGUEIREDO, L.T.M. **Emergent arboviruses in Brazil**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 40n. 2, p. 224-229, 2007.

GALVÃO-BUENO, M. et al. **Animals in the zika virus life cycle: what to expect from megadiverse latin American countries**. PLoS Negl Trop Dis., v. 10, n. 12, e0005073, dec. 2016.

HAESE, N.N. et al. **Animal models of chikungunya vírus infection and disease**. J Infect Dis. 82-487, dec. 2016.

MENEZES, S.A.; COSTA, Y.A.; COSTA, H.P.; GILDO, M.G.P.; SAMPAIO, M.G.V. **Arboviroses: o impacto da febre Zika na sociedade**. Rev Expr Católic Saúde, v. 1, n. 1, jun. 2017.

MICKE, P. et al. **Biobanking of fresh frozen tissue: RNA is stable in nonfixed surgical specimens**. Lab Invest., v. 86, n. 2, p. 202-211, feb. 2006.

MONATH, T. P. **Yellow fever: an update**. Lancet, Infectious Diseases. v.1, p. 11– 20. 2001.

MONATH, T.P.; VASCONCELOS, P.F. **Yellow fever**. J Clin Virol., v. 64, p. 160-173, mar. 2015.

MOREIRA-SOTO, A. et al. **Limited Evidence for Infection of Urban and Peri-urban Nonhuman Primates with Zika and Chikungunya Viruses in Brazil.** mSphere., v. 3, n. 1, p. 517-523, jan. 2018.

NUNES, M.R.T. et al. **Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil.** BMC Medicine, v. 13, n. 102, abr. 2015.

ONLAMOON, N. et al. **Dengue virus induced hemorrhage in a nonhuman primate model.** Blood., v. 115, n. 9, p. 1923-1832, mar. 2010.

WALDORF, K.M. et al. **Fetal brain lesions after subcutaneous inoculation of Zika virus in a pregnant nonhuman primate.** Nat Med., v. 22, n. 11, p. 1256-1259, nov. 2016.

ZOMPI, S.; HARRIS, E. **Animal models of dengue virus infection.** Viruses, v. 4, n. 1, p. 62-82, jan. 2012.

## LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

Data de submissão: 03/04/2020

Data de aceite: 15/05/2020

### Andrei Kelliton Fabretti

Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Clínicas Veterinárias e Departamento de Histologia.

Universidade Pitágoras Unopar.

Londrina – PR.

<http://lattes.cnpq.br/3098079792051381>

<http://orcid.org/0000-0002-6487-823X>

### Raquel Carolina Simões Siqueira

Universidade Estadual de Londrina

Londrina – PR.

<http://lattes.cnpq.br/0409358677464609>

<http://orcid.org/0000-0001-8938-8117>

### Rafael Oliveira Chaves

Universidade Caxias do Sul.

Caxias do Sul – RS.

<http://lattes.cnpq.br/6278461581856232>

<http://orcid.org/0000-0002-5054-5450>

### Patrícia Mendes Pereira

Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Clínicas Veterinárias.

Londrina – PR.

<http://orcid.org/0000-0001-6754-9151>

**RESUMO:** A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma antropozoonose globalizada, sendo o Brasil um dos países mais afetados. A doença

é causada pelo protozoário *Leishmania chagasi* e é transmitida por insetos flebotomíneos a vários mamíferos, inclusive o homem, sendo o cão o principal reservatório doméstico do parasito. Dois cães foram atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina com histórico, sinais clínicos e resultados laboratoriais compatíveis com LVC, entre estes se destacaram: poliartrite, onicogribose, hepatoesplenomegalia, linfadenomegalia, emagrecimento, alterações cutâneas, febre, anemia, trombocitopenia, leucopenia, hiperproteinemia e hipoalbuminemia. Ambos eram de procedência externa ao Paraná e foram diagnosticados subseqüentemente com LVC. Após notificação à vigilância sanitária, foram eutanasiados.

**PALAVRAS-CHAVE:** doença sistêmica, antropozoonose, Calazar canino.

### CANINE VISCERAL LEISHMANIOSIS

**ABSTRACT:** Canine visceral leishmaniasis (CVL) is a globalized anthroponosis, with Brazil being one of the most affected countries. The disease is caused by the protozoan *Leishmania chagasi* and is transmitted by phlebotomine insects to several mammals, including man, with the dog being the main domestic reservoir of the parasite. Two dogs were treated at the Veterinary Hospital of the

State University of Londrina with a history, clinical signs and laboratory results compatible with CVL, among them were: polyarthritis, onychogriphosis, hepatosplenomegaly, lymphadenomegaly, weight loss, skin changes, fever, anemia, thrombocytopenia, leukopenia, hyperproteinemia and hypoalbuminemia. Both were from outside Paraná and were subsequently diagnosed with CVL. After notification to the health surveillance, they were euthanized.

**KEYWORDS:** systemic disease, anthroponosis, canine Calazar.

## 1 | INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral canina (LVC) ou Calazar canino é uma antropozoonose que atualmente está incluída entre as seis mais importantes endemias do mundo, sendo o Brasil um dos três países mais acometidos, que concentra 90% dos casos da América Latina (FEITOSA et al., 2000; SILVIA e SANTOS, 2011).

No Brasil, a leishmaniose visceral (LV) constitui um grave problema de saúde pública devido a sua ampla distribuição geográfica, ao elevado número de casos e a gravidade de suas formas clínicas, sendo que a doença está em franca expansão, não se limitando mais a ambientes rurais e silvestres e se expandindo para áreas urbanas (FEITOSA et al., 2000; FIGUEIREDO et al., 2012; MARCONDES e ROSSI, 2013; SHOKRI et al., 2017).

A partir dos anos noventa, os estados do Pará e Tocantins (região norte), Pernambuco (nordeste), Mato Grosso do Sul (região centro-oeste), Minas Gerais e São Paulo (região sudeste) passaram a se destacar nas estatísticas da LV no Brasil. Há também relatos da doença no Sul (FIGUEIREDO et al., 2012; SILVIA e SANTOS, 2011; MARCONDES e ROSSI, 2013; BRITO et al., 2016).

A doença é causada pelo protozoário *Leishmania chagasi* e é transmitida por insetos flebotomíneos (*Lutzomyia longipalpis*) a vários mamíferos, inclusive o homem, sendo o cão o principal reservatório doméstico do parasito e o principal responsável pelo ciclo de manutenção da doença. A evolução é lenta, com início insidioso, sendo os sinais clínicos mais observados: febre, emagrecimento, alopecia, lignificação, crostas, úlceras, onicogribose, hiperpigmentação linfonodomegalia, esplenomegalia e alterações oculares (FEITOSA et al., 2000; DA SILVA et al., 2017).

O diagnóstico da doença pode ser feito por exame direto de aspirados de órgãos linfoides, tais como linfonodos ou medula óssea, por exames sorológicos, imunológicos ou de biologia molecular, como a reação em cadeia da polimerase (PCR) (CASTELLANOS-GONZALEZ et al., 2015; PEIXOTO et al., 2015; FRAGA et al. 2016; TRAVI et al., 2018).

O objetivo deste artigo é relatar dois casos de leishmaniose visceral em cães da cidade de Londrina – Paraná.

## 2 | RELATO DE CASOS

### *Caso 1*

Um cão, fêmea, pinscher, de dois anos de idade, foi atendida no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina – UEL, (PR), com histórico e sinais de: êmese, tetraparesia, hipotricose, glaucoma, congestão conjuntival e opacidade corneana bilateral, onicogribose, hepatoesplenomegalia, linfadenomegalia e poliartrite. A evolução foi progressiva em três meses.

O animal era precedente do estado de Mato Grosso, estando em Londrina há três anos. Havia sido tratada sem resposta com antifúngicos, para a dermatopatia.

Foram realizados exames hemograma, bioquímica sérica, urinálise, exame radiográfico de membros, citologia de aspirado de linfonodos e sorologia para LVC. Foram constatados anemia, trombocitopenia, proteinúria, hiperproteinemia com hipoalbuminemia; sugestiva de hiperglobulinemia (Tabela 1).

No exame radiográfico, constatou-se fratura em consolidação em rádio direito; nas articulações foram notadas diminuição da radiopacidade, distensão da cápsula articular e doença degenerativa erosiva.

Na citologia do aspirado de linfonodo, identificou-se grande quantidade de leishmania em macrófagos e na sorologia, pelo método imunofluorescência-IgG, observou-se titulação 1:160. O diagnóstico foi LVC.

### *Caso 2*

Uma teckel, de sete anos de idade foi atendida apresentando três nodulações (cerca de 0,5 cm) e três tumores cutâneos e subcutâneos firmes (cerca 5 cm de diâmetro) não ulcerados e indolores, focos de alopecia, seborreia seca, onicogribose, emagrecimento, febre, linfadenomegalia submandibular e poplítea, espirros, secreções oculares serosas. O animal era oriundo da cidade de Araçatuba – SP.

Foram realizados hemograma, bioquímica sérica, urinálise, citologia de aspirado de linfonodos e ensaio imunoabsorvente ligado a enzima (ELISA) para LCV. Foram constatados anemia normocítica normocrômica, leucopenia intensa, trombocitopenia intensa (raras) e hiperproteinemia (Tabela 1). Na citologia do aspirado de linfonodo identificou-se leishmania em macrófagos. O exame de ELISA teve resultado positivo, confirmando o diagnóstico de LVC.

<b>Parâmetros Laboratoriais</b>	<b>Caso 1</b>	<b>Caso 2</b>
Volume globular (%)	25	28
Plaquetas (número/ $\mu$ L)	180.000	Raras
Leucócitos (número/ $\mu$ L)	12.300	1.300
Proteína total (g/dL)	9,5	9,7
Albumina (g/dL)	1,5	-

Tabela 1. Resultados hematológicos (hemograma e bioquímico sérico) de dois pacientes caninos com leishmaniose visceral.

Fonte: O próprio autor.

Após a confirmação do diagnóstico, em ambos os casos, a vigilância sanitária foi notificada e os animais eutanasiados.

### 3 | DISCUSSÃO

Febre, onicogribose, linfadenomegalia, hepatoesplenomegalia, alterações oculares e cutâneas, emagrecimento, anemia, trombocitopenia, proteinúria, hiperproteinemia com hiperglobulinemia e hipoalbuminemia, são achados frequentes na LCV e foram identificados nos casos relatados, embora sejam inespecíficos (FEITOSA et al., 2000; DA SILVA et al., 2017).

A doença resulta em hiperativação da resposta imune humoral que hipertrofia os órgãos linfoides (notado nos casos 1 e 2), mas não é protetora, já que o parasito é intracelular, além disso e a diminuição da resposta imune celular predispõe o paciente a infecções (RODRIGUES et al., 2013).

O depósito de imunocomplexos ocorre em todos os tecidos e provoca inflamação, resultando em gastrite ou hepatite, que poderiam ter ocasionado os episódios de vômito do caso 1; dermatites, provocando hipotricose ou alopecia e seborreia (casos 1 e 2); alterações oculares (casos 1 e 2), como ceratite e glaucoma; síndrome nefrótica, resultando em hipoalbuminemia (caso 1); vasculite, desencadeando hemólise imunomediada, possível responsável pela anemia e trombocitopenia por consumo plaquetário (prováveis nos casos 1 e 2) (FEITOSA et al., 2000; RODRIGUES et al., 2013; DA SILVA et al., 2017).

A impotência funcional dos membros da paciente 1 poderia ser resultado da poliartrite (consequência de sinovite imunomediada) e osteólise (por extensão da inflamação sinovial) ou por neurite, vasculite e hemorragias no sistema nervoso (BLAVIER et al., 2001).

A onicogribose (notada em ambos os casos) é secundária ao hiperestímulo sobre a matriz ungueal pela ação parasitária (FEITOSA et al., 2000). As nodulações e tumores da paciente 2 seriam formadas pela multiplicação das formas amastigotas, gerando granulomas (BLAVIER et al., 2001).

Os diagnósticos dos casos foram realizados de acordo com o preconizado por diversos autores, a saber, exame direto de amostra de aspirado de linfonodo e exame sorológico (caso 1) e exame direto de amostra de aspirado de linfonodo e ELISA (caso 2) (CASTELLANOS-GONZALEZ et al., 2015; PEIXOTO et al., 2015; FRAGA et al. 2016; TRAVI et al., 2018).

## 4 | CONCLUSÕES

Além do histórico e evidências do exame físico, o clínico deve estar atento sobre a procedência do animal. Esses dados somados a origem dos pacientes de regiões endêmicas para LVC direcionaram para a pesquisa em exames complementares, permitindo o correto diagnóstico. É válido ressaltar que trata-se de uma zoonose de comunicação obrigatória.

## REFERÊNCIAS

- BLAVIER, A.; KEROACK, S.; DENEROLLE; GOY-THOLLOT, I; CHABANNE, L.; CADORÉ, J. L. Atypical Forms of Canine Leishmaniosis. In.: **The Veterinary Journal**, France, v. 35, n. 162, p.108-120, 2001.
- BRITO, F. G.; LANGONI, H.; DA SILVA, R. C.; DE FARIAS ROTONDANO, T. E.; DE MELO, M. A.; DA PAZ, G. S. Canine visceral leishmaniasis in the Northeast Region of Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 22, n. 1, p. 15, 2016.
- CASTELLANOS-GONZALEZ, A.; SALDARRIAGA, O. A.; TARTAGLINO, L.; GACEK, R.; TEMPLE, E.; SPARKS, H.; MELBY, P. C.; TRAVI, B. L. A novel molecular test to diagnose canine visceral leishmaniasis at the point of care. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, v. 93, n. 5, p. 970-975, 2015.
- DA SILVA, K. R.; MENDONÇA, V. R. R. D.; SILVA, K. M.; NASCIMENTO, L. F. M. D.; MENDES-SOUSA, A. F.; PINHO, F. A. D., BARRAL-NETTO, M.; BARRAL, A. M. P.; CRUZ, M. S. P. Scoring clinical signs can help diagnose canine visceral leishmaniasis in a highly endemic area in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 1, p. 53-63, 2017.
- FEITOSA, M. M.; IKEDA, F. A.; LUVIZOTTO, M. C. R.; PERRI, S. H. V. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba – São Paulo (Brasil). **Clínica Veterinária**, São Paulo, v. 5, n. 28, p. 36-44, 2000.
- FIGUEIREDO, F. B; LIMA JUNIOR, F. E. F.; TOMIO, J. E. Leishmaniose Visceral Canina: Dois casos autóctones no município de Florianópolis, estado de Santa Catarina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 40, n. 1, p. 1026-1028, 2012.
- FRAGA, D. B. M.; PACHECO, L. V., BORJA, L. S., TUY, P. G. D. S. E., BASTOS, L. A., DA SILVA SOLCÀ, M.; AMORIM, D. A. F.; VERAS, P. S. T. The rapid test based on *Leishmania infantum* chimeric rK28 protein improves the diagnosis of canine visceral leishmaniasis by reducing the detection of false-positive dogs. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 1, 2016.
- MARCONDES, M.; ROSSI, C. N. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 50, n. 5, p. 341-352, 2013.
- PEIXOTO, H. M.; DE OLIVEIRA, M. R. F.; ROMERO, G. A. Sierra. Serological diagnosis of canine visceral leishmaniasis in Brazil: systematic review and meta-analysis. **Tropical Medicine & International Health**, v. 20, n. 3, p. 334-352, 2015.
- RODRIGUES, R. D.; SOUZA, R. R.; GOMES, L. R; SILVA JÚNIOR, L. M.; SILVA, A. L. D. A.; MEDEIROS, A. A. Leishmaniose visceral canina – diagnóstico parasitológico: relato de caso. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v.19, n. 1, p. 1-6, jan./jun. 2013.
- SHOKRI, A.; FAKHAR, M.; TESHNIZI, S. H. Canine visceral leishmaniasis in Iran: A systematic review and meta-analysis. **Acta tropica**, v. 165, p. 76-89, 2017.

SILVA, T. P. D.; SANTOS, J. P. Leishmaniose visceral canina em Bom Jesus, Piauí, Brasil: um Relato de caso autóctone. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.7, n. 13; p. 709-716, 2011.

TRAVI, B. L.; CORDEIRO-DA-SILVA, A.; DANTAS-TORRES, F.; MIRO, G. Canine visceral leishmaniasis: diagnosis and management of the reservoir living among us. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 12, n. 1, 2018.

## HABRONEMOSE CUTÂNEA EM UM EQUINO DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR: RELATO DE CASO

Data de submissão: 13/03/2020

Data de aceite: 15/05/2020

**Hiury Alberto Moraes da Costa Cruz**  
Centro Universitário Cesmac, Faculdade de  
Medicina Veterinária  
Maceió – Alagoas  
<http://lattes.cnpq.br/3824816513331035>

**Bianca Suruagy dos Santos**  
Centro Universitário Cesmac, Faculdade de  
Medicina Veterinária  
Maceió – Alagoas  
<http://lattes.cnpq.br/4279421395855857>

**Larissa de Souza Cavalcante**  
Centro Universitário Cesmac, Faculdade de  
Medicina Veterinária  
Maceió – Alagoas  
<http://lattes.cnpq.br/5899580089563937>

**Erivan Luiz Pereira de Andrade**  
Centro Universitário Cesmac, Faculdade de  
Medicina Veterinária  
Maceió – Alagoas  
<http://lattes.cnpq.br/7762128786638278>

**Gilsan Aparecida de Oliveira**  
Centro Universitário Cesmac, Faculdade de  
Medicina Veterinária  
Maceió – Alagoas  
<http://lattes.cnpq.br/8979509592333260>

**Muriel Magda Lustosa Pimentel**  
Centro Universitário Cesmac, Faculdade de

Medicina Veterinária

Maceió – Alagoas

<http://lattes.cnpq.br/2377308283755406>

**Valesca Barreto Luz**  
Centro Universitário Cesmac, Faculdade de  
Medicina Veterinária  
Maceió – Alagoas  
<http://lattes.cnpq.br/4488802815016137>

**Isabelle Vanderlei Martins Bastos**  
Centro Universitário Cesmac, Faculdade de  
Medicina Veterinária  
Maceió – Alagoas  
<http://lattes.cnpq.br/8275140942469423>

**Raíssa Karolliny Salgueiro Cruz**  
Centro Universitário Cesmac, Faculdade de  
Medicina Veterinária  
Maceió – Alagoas  
<http://lattes.cnpq.br/7282487880446301>

**RESUMO:** Dentre as principais helmintoses que acometem os equinos, destaca-se a habronemose, também conhecida como “ferida de verão” ou “esponja”, é uma doença causada por larvas dos nematoides adultos *Habronema spp.* e *Drashia megastoma*, que apresentam ciclo evolutivo indireto, usando como vetor a mosca doméstica (*Musca domestica*) e a mosca dos estábulos (*Stomoxys calcitrans*). Normalmente, estas larvas são ingeridas pelos equídeos, ou depositadas próximo aos olhos ou em feridas na pele, causando a habronemose

cutânea que caracteriza-se por uma intensa proliferação de tecido granulomatoso que não cicatriza. Foi atendido em uma fazenda no município de Satuba-AL, um equino, macho, 9 anos, da raça Mangalarga machador, 419 kg, com uma neoformação cutânea, de aproximadamente 7 cm, firme, de superfície ulcerada e aspecto granulomatoso, aparentemente aderido ao tecido subcutâneo na região dorso palmar (quartela) no membro anterior direito. Os achados histopatológicos foram compatíveis com tecido de granulação associado a larvas de nematoide (sugestivo de *Habronema* spp.) e a lesão sugestiva de habronemose. A habronemose equina é responsável por grandes prejuízos financeiros no cenário da equideocultura. O diagnóstico da habronemose cutânea pode ser realizado a partir do histórico do animal e dos achados clínicos encontrados pelo médico veterinário, assim como pelo encontro e identificação de larvas em raspado de pele ou biópsia. Conclui-se que para um animal não ser acometido por essa afecção deve-se observar as feridas e trata-las de forma correta e o mais rápido possível, evitando a contaminação por moscas além de ser indispensável fazer o uso de um programa sanitário para dar um destino correto as fezes produzidas diminuindo a incidência dos vetores, além de fazer uso de vermífugos para combater o parasita no estômago dos animais, evitando uma infestação na propriedade.

**PALAVRAS-CHAVE:** Habronema, Habronemose cutânea, Equino.

## CUTANEOUS HABRONEMOSIS IN A MANGALARGA MARCHADOR BREED: CASE REPORT

**ABSTRACT:** Among the main endoparasites that affect horses, habronemosis, also known as “summer wound” or “sponge”, is a disease caused by larvae of adult nematodes *Habronema* spp. and *Drashia megastoma*, which have a cycle indirect evolutionary, using as vector the domestic fly (*Musca domestica*) and the stables fly (*Stomoxys calcitrans*). Usually, these larvae are ingested by equidae, or deposited near the eyes or in skin wounds, causing cutaneous habronemosis, which is characterized by an intense proliferation of granulomatous tissue that does not heal. A 9-year-old male mangalarga machador equine was treated at a farm in the municipality of Satuba-AL, with a cutaneous neoformation of approximately 7 cm, firm, with an ulcerated surface and a granulomatous aspect apparently adhered to the tissue in the lower palmar region (barracks) in the right anterior limb. Histopathological findings were compatible with granulation tissue associated with nematode larvae (suggestive of *Habronema* spp.) and habronemosis-suggestive lesion. Equine habronemosis is responsible for large financial losses in the equideoculture scenario. The diagnosis of cutaneous habronemosis can be made from the history of the animal and the clinical findings found by the veterinarian, as well as by the encounter and identification of larvae in skin scraping or biopsy. It is concluded that for an animal not to be affected by this condition one must observe the wounds and treat them correctly and as quickly as possible, avoiding contamination by flies and it is indispensable to make the use of a health program to give a destination feces produced by reducing the incidence of vectors, in addition to using vermifuge to combat the parasite in the stomach of animals, avoiding

an infestation on the property.

**KEYWORDS:** Habronema, Cutaneous Habronemosis, Equine.

## INTRODUÇÃO

Os equinos são responsáveis por hospedar dezenas de espécies diferentes de helmintos, destacando-se aqueles que tem acesso as pastagens. Porém, a relação entre parasita e hospedeiro ocorre de forma relativamente equilibrada, e a severidade dos sinais clínicos varia de acordo com a quantidade de parasitos e situações como stress e mal nutrição (FERREIRA, 2016).

Dentre as principais helmintoses que acometem os equinos, destaca-se a habronemose, que apresenta uma distribuição global e afeta diversos países da Eurásia, África, Austrália e das Américas (COLLOBERT- LANGIER, 2000). Também conhecida como “ferida de verão” ou “esponja”, é uma doença causada por larvas dos nematoides adultos *Habronema spp.* e *Drashia megastoma*, que apresentam ciclo evolutivo indireto, usando como vetor a mosca doméstica (*Musca domestica*) e a mosca dos estábulos (*Stomoxys calcitrans*) (BERTONE, 2000). Normalmente, estas larvas são ingeridas pelos equídeos, ou depositadas próximo aos olhos ou em feridas na pele, causando a habronemose cutânea que caracteriza-se por uma intensa proliferação de tecido granulomatoso que não cicatriza (MURO et al., 2008).

As larvas adultas são encontradas normalmente no estômago do animal em uma camada de muco aderida na mucosa, podendo ou não invadir as glândulas gástricas (SANTOS; ALESSI, 2016). Essas larvas depositam ovos e larvas imaturas que são excretadas juntamente com as fezes do animal. No ambiente, estas larvas são ingeridas por larvas do hospedeiro intermediário, ocorrendo o desenvolvimento de ambas concomitantemente. O hospedeiro intermediário adulto pode depositar a larva infectante ao redor da boca do equino, que deglute o parasita (McGAVIN, 2009; DURO, 2010).

No estômago do animal, a larva infectante amadurece e novamente chega ao estágio adulto. Na forma cutânea da doença, as larvas são depositadas em feridas superficiais da pele, onde são incapazes de completar o ciclo evolutivo, no entanto, supõe-se que as larvas mortas desencadeiam um processo de hipersensibilidade no organismo do animal (BERTONE, 2000). Os animais apresentam lesão nodular única ou múltipla na pele, acompanhada quase sempre de tecido de granulação e são geralmente localizadas nos membros, canto medial do olho, prepúcio, comissura labial, processo uretral do pênis e região ventral do tronco. A lesão começa como pequenas pápulas com centro erodido. O desenvolvimento é rápido e as lesões podem atingir 30 cm de diâmetro em poucos meses (SANTOS; ALESSI, 2016).

No início ocorre prurido intenso e isso pode levar ao autotraumatismo, em seguida temos um granuloma castanho avermelhado não cicatrizante e mais tarde a lesão

pode se tornar fibrosa e inativa (MURO et al., 2008). Essas lesões não cicatrizam devido a presença das larvas que não completam seu desenvolvimento, mantendo o processo inflamatório ativo (BERTONE, 2000). O diagnóstico da habronemose cutânea se baseia principalmente na observação e identificação da larva no raspado de pele ou na biópsia da lesão (SILVA, 2017).

Existem vários procedimentos clínicos e cirúrgicos que podem ser adotados para o tratamento da habronemose, com base nisso, este relato tem por objetivo apresentar um caso de habronemose cutânea, em um equino da raça Mangalarga Marchador, atendido no município de Satuba-AL.

## RELATO DE CASO

Foi atendido em uma fazenda no município de Satuba-AL, um equino, macho, pelagem castanha, 9 anos, da raça Mangalarga machador, 419 kg. Foram realizados os exames físicos e diagnósticos como o histopatológico e hemograma. Ao exame clínico geral e no hemograma o animal apresentava-se saudável, sem alterações dignas de nota e no exame específico foi observado uma neoplasia cutânea, de aproximadamente 7 cm, firme, de superfície ulcerada e aspecto granulomatoso, aparentemente aderido ao tecido subcutâneo na região dorso palmar (quartela) no membro anterior direito (Figura 1).



Figura 1: Neoplasia cutânea, na região dorso palmar (quartela) no membro anterior direito.

Fonte: Arquivo pessoal.

O animal estava sendo medicado pelo tratador há aproximadamente 2 meses com 10 mL de Ivomec® (Ivermectina 1%, via oral), 8 mL de Detomax® (Doramectin 1%, por via intramuscular), limpeza da ferida com água e sabão e spray repelente.

Nos achados microscópicos foram encontrados Os cortes histológicos demonstram lesão não encapsulada, não delimitada e formada proliferação de tecido conjuntivo frouxo, fibroblastos e neovascularização que se organiza em direção

perpendicular à superfície da lesão (tecido de granulação). Há acentuada quantidade de eosinófilos e células gigantes e multinucleadas infiltrando difusamente o tecido onde, por vezes, é possível observar cortes transversais e longitudinais de larvas de nematoides em fase avançada de necrose. Os achados histopatológicos foram compatíveis com tecido de granulação associado a larvas de nematoide (sugestivo de *Habronema spp.*) e a lesão sugestiva de habronemose.

Após a confirmação, realizou-se a limpeza diária da ferida, com água e clorexidina degermante a 2%, em seguida foi utilizado o sulfato de cobre associado a pomada alantol® (alantoína e óxido de zinco) e isolamento da ferida com bandagem. Administrou-se também, por via oral, um vermífugo a base de ivermectina, praziquantel e ranitidina (Handicap Equinos®), uma vez por semana, no total de 5 aplicações. Utilizou-se ainda, acetato de isoflupredona (SILCORT, vansil, 0,05 mg/kg), via intramuscular, a cada 3 dias, no total de 4 aplicações.

## DISCUSSÃO

A habronemose equina é responsável por grandes prejuízos financeiros no cenário da equideocultura, condição que é agravada em países de clima tropical, devido a menor rendimento nas atividades de esporte e tração, alteração morfológica e perfil estético dos animais acometidos (MOTTA, 2020). O diagnóstico da habronemose cutânea pode ser realizado a partir do histórico do animal e dos achados clínicos encontrados pelo médico veterinário, assim como pelo encontro e identificação de larvas em raspado de pele ou biópsia.

Para o tratamento e profilaxia da afecção primeiramente é necessário minimizar o quadro inflamatório instalado na ferida, eliminar o *Habronema* adulto do estômago e reduzir a população de moscas hospedeiras. O tratamento tem como finalidade reduzir o tamanho das lesões, diminuir a inflamação e evitar reinfestação. O uso de corticoides tem sido utilizado em diversos protocolos com sucesso para o tratamento da inflamação local, como foi observado no presente relato. Considerando que a enfermidade é sazonal, e usualmente se inicia com o aumento da população de moscas, o controle dos parasitas é de extrema importância. Além da prática regular de vermifugação, é importante adotar hábitos que diminuam a prevalência de parasitas na propriedade. O tratamento cirúrgico é indicado em dois casos, primeiro em feridas que não cicatrizam e, segundo em nódulos calcificados que causem transtornos estéticos (MURO, 2008), porém neste relato não foi necessário, visto que o animal se recuperou após a realização do tratamento clínico (figura 2).



Figura 2: Resultado após o tratamento.

Fonte: Arquivo pessoal.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio desse relato, podemos concluir que para um animal não ser acometido por essa afecção deve-se observar as feridas e trata-las de forma correta e o mais rápido possível, evitando a contaminação por moscas além de ser indispensável fazer o uso de um programa sanitário para dar um destino correto as fezes produzidas diminuindo a incidência dos vetores, além de fazer uso de vermífugos para combater o parasita no estômago dos animais, evitando uma infestação na propriedade. Independente do protocolo de tratamento a ser seguido, apresenta-se de suma importância um bom manejo dos animais para que não ocorra atraso na cicatrização da ferida, resistência aos medicamentos propostos pelo médico veterinário, caso o mesmo seja usado de maneira incorreta e até mesmo uma recidiva da afecção podendo levar o animal para cirurgia.

## REFERÊNCIAS

BERTONE, J. J. Prevalence of gastric ulcers in elite, heavy use western performance horses. **Proceedings of the 46th Annual AAEP Convention**, v. 46, 2000.

COLLOBERT- LAUGIER, C. et al. Prevalence of stomach nematodes (*Habronema* spp., *Draschia megastoma* and *Trichostrongylus axei*) in horses examined post mortem in Normandy. **Revista de Medicina Veterinária**, v. 151, n. 2, p. 151 – 156, 2000.

DURO, L.S.L.S. **Parasitismo gastrintestinal em animais da Quinta Pedagógica dos Olivais. Especial referência aos mamíferos ungulados**. 2010. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.

FERREIRA, M. S. **Parasitas gastrintestinais em equinos com aptidão de trabalho e desporto no distrito de Santarém, Portugal**. 2016. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa.

McGAVIN, M. D. **Bases da patologia em veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

MOTTA, R. G. **Habronemose equina, ferida de verão ou “esponja”**, 2020. Disponível em: < <https://noxon.com.br/habronemose-equina-ferida-de-verao-ou-esponja/>>. Acesso em: 9 mar. 2020.

MURO, L. F. F. et al. Habronemose cutânea. **Revista eletrônica de medicina veterinária**, n. 11, 2008.

SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2016.

SILVA, O.T. et al. Habronemose cutânea equina - relato de caso. **Revista científica de Medicina Veterinária**. n. 29, 2017.

## TOPOGRAFIA VERTEBROMEDULAR DE CATETO (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758)

Data de aceite: 15/05/2020

### Marta Adami

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
(UFMS), Instituto de Biociências  
Campo Grande – MS

### Rafael da Silva Carmo Neto

Universidade Federal da Bahia (UFBA), Escola de  
Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, Ba

### Ana Elisa Fernandes de Souza Almeida

Universidade Federal da Bahia (UFBA), Escola de  
Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, Ba

### Marcia Maria Magalhães Dantas de Faria

Universidade Federal da Bahia (UFBA), Escola de  
Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, Ba

### Ricardo Diniz Guerra e Silva

Universidade Federal da Bahia (UFBA), Escola de  
Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, Ba

### Maria das Graças Farias Pinto

Universidade Federal da Bahia (UFBA), Escola de  
Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, Ba

**RESUMO:** O Gênero *Tayassu* abriga duas espécies, o cateto (*Pecari tajacu*) e o queixada (*Tayassu pecari*). Obtivemos cinco cadáveres de cateto para dissecação e descrição in situ das características da medula espinal e relações com a coluna vertebral. As vértebras e os nervos espinais cervicais, torácicos, lombares, sacrais e caudais foram identificados e quantificados. O cateto apresentou 33 pares de nervos

espinais: 8, 14, 5, 3, +3 cervicais, torácicos, lombares, sacrais e caudais respectivamente, correspondendo às 7, 14, 5, 3 e +3 vértebras cervicais, torácicas, lombares, sacrais e caudais. A medula espinal estendeu-se da transição atlantoccipital até a quinta vértebra lombar. Os segmentos medulares cervicais e torácicos restringiram-se às regiões cervical e torácica da coluna vertebral respectivamente, enquanto os segmentos espinais lombares, sacrais e caudais deslocaram-se cranialmente e localizaram-se na região lombar da coluna vertebral. Recomendamos o espaço interarqueadolombossacral como local de escolha para a realização de anestésias meníngeas em cateto. A autorização para a execução da pesquisa foi obtida pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO-/ Instituto Chico Mendes de Conservação em Biodiversidade – ICMBio-/ Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis –IBAMA- pesquisa número 45032 e pelo Comitê de Ética no Uso de Animais- CEUA-/Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia -EMEVZ- Universidade Federal da Bahia –UFBA-.

**PALAVRAS-CHAVE:** anatomia; medula espinal; sistema nervoso; vértebra

## TOPOGRAPHY ANATOMY OF SPINAL CORD IN COLLARED PECCARY (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758)

**ABSTRACT:** The Genus *Tayassu* has two species: collared peccary (*Pecari tajacu*) and white-lipped peccary (*Tayassu pecari*). Five collared peccary specimens were obtained for dissection, description of *in situ* spinal cord and relationships with the vertebrae. Analyses included identification and quantification of cervical, thoracic, lumbar and sacral spinal nerves and vertebrae. The collared peccary presented 33 pairs of spinal nerves: 8, 14, 5, 3, and +3 cervical, thoracic, lumbar, sacral and caudal pairs, respectively, corresponding to 7, 14, 5, 3 and +3 cervical, thoracic, lumbar, sacral and caudal vertebrae. The spinal cord extended from the atlanto-occipital junction to the fifth lumbar vertebra. The cervical and thoracic cord segments were restricted to the cervical and thoracic vertebrae, while the lumbar, sacral and caudal spinal segments were displaced cranially and lay in the lumbar vertebrae. We recommend the lumbosacral space as the site of choice for administering caudal epidural anaesthesia in peccary. Project was approved by System of Authorization and Information in Biodiversity (SISBIO) number 450342, and released by the Committee on Ethics in the Use of Animals (CEUA), School of Veterinary Medicine and Zootechny (EMEVZ), Federal University of Bahia (UFBA).

**KEYWORDS:** anatomy; nervous system; spinal cord; vertebra

### INTRODUÇÃO

O gênero *Tayassu* abriga duas espécies, o cateto (*Pecari tajacu*) e o queixada (*Tayassu pecari*). Dos suídeos neotropicais pertencentes à Família dos Tayassuídeos, o cateto é o que tem a maior distribuição no continente americano, aparecendo nos Estados Unidos, México, América Central, Colômbia, Equador, Peru, Venezuela, Paraguai, Bolívia, Brasil e Argentina. No Brasil, o cateto é encontrado em todos os principais biomas: Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal, Caatinga e Amazônia (OLIVER, 1993; SOWLS, 1997).

O cateto é a menor das espécies da Família Tayassuidae, pesando entre 20 a 30 Kg e sua principal característica está no colar de pelos brancos ao redor do pescoço, e nos pelos que revestem o corpo que são mesclados de cinza e preto. Atualmente é um animal de interesse econômico, já que sua criação é uma atividade rentável, a espécie apresenta boa adaptação aos cativeiros, a carne é apreciada para o consumo humano, além do aproveitamento do couro, muito bem cotado no mercado internacional (SANTOS et al., 2009).

Em animais silvestres há estudos registrados sobre a topografia vertebromedular em veado-catingueiro, *Mazama gouazoubira* (LIMA et al., 2010), sagui-de-tufo-branco, *Callithrix jacchus* (SILVA et al., 2013), jabuti-de-pata-vermelha, *Geochelone carbonaria* (CARVALHO et al., 2011), irara, *Eira barbara* (ADAMI et al., 2015) e quati, *Nasua nasua* (GREGORES, 2006).

Nos cinco exemplares dissecados, foram descritas as características da medula espinal *in situ* e relações com a coluna vertebral; identificação e quantificação dos nervos espinais cervicais, torácicos, lombares e sacrais. A origem medular dos nervos espinais com a respectiva emergência pelos forames intervertebrais foi descrita nas regiões cervical, torácica, lombar e sacral da coluna vertebral, além da determinação do término da medula espinal.

A clínica e a cirurgia de animais silvestres exigem o acesso a informações sobre a biologia de animais silvestres, pois cada espécie apresenta especificidades morfológicas. Dados sobre a topografia vertebromedular de cateto servirão como subsídios para auxiliar profissionais da área e também como base para pesquisas posteriores em outras espécies de animais domésticos e silvestres.

## MATERIAL E MÉTODOS

A autorização para a execução da pesquisa foi obtida pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO-/ Instituto Chico Mendes de Conservação em Biodiversidade – ICMBio-/ Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis –IBAMA- pesquisa número 450342-1 e pelo Comitê de Ética no Uso de Animais- CEUA-/Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia -EMEVZ- Universidade Federal da Bahia –UFBA-. Seis animais foram adquiridos no Criadouro Fazenda Gongolo, localizado no município de Irecê, Ba. Para a eutanásia, procedeu-se à sedação e imobilização dos animais aplicando-se via intramuscular xilazina 2mg/Kg IM. Obtida a prostração, injeção intravenosa de pentobarbital sódico a 3% na dose de 40mg/Kg foi aplicado em cada animal. Os cadáveres foram formolizados via artéria carótida comum com solução tamponada de formaldeído a 10%. Os cadáveres foram transportados até a UFBA, EMEVZ, Setor de Anatomia Veterinária, onde a pesquisa foi desenvolvida.

Na primeira etapa da dissecação foi retirada a musculatura epaxial das regiões cervical, torácica, lombar e sacral da coluna vertebral para a exposição, identificação e contagem das vértebras. Em sequência, foram retirados os arcos vertebrais do antímero esquerdo das respectivas regiões para a visualização da medula espinal e a origem dos nervos espinais e posterior comparação com a emergência de seus pares no antímero direito.

## RESULTADOS

O cateto apresentou 33 pares de nervos espinais: 8, 14, 5, 3, +3 cervicais, torácicos, lombares, sacrais e caudais respectivamente, correspondendo às 7, 14, 5, 3 e +3 vértebras cervicais, torácicas, lombares, sacrais e caudais. Os segmentos medulares cervical e torácico localizaram-se respectivamente nas regiões cervical e

torácica da coluna vertebral e os segmentos lombares, sacrais e caudais na região lombar da coluna vertebral (Tabela 5).

	E1	E2	E3	E4	E5
SC	VC1 a VC6/ VC7	VC1 a VC6/ VC7	VC1 a VC6	VC1 a VC6/ VC7	VC1 a VC7
ST	VC7 a VT14	VC7 a VT14	VC7/VT1 T14/VL1	VC7 a VT14/ VL1	VC7/VT1 a VT4/VL1
SL	VL1 a VL4	VL1 a VL3/ VL4	VL1 a VL3/VL4	VL1 a VL4	VT14/VL1 a VL3/VL4
SS	VL4 a VL5	VL4	VL4	VL4 a VL5	VL4

Tabela 5-Topografia dos segmentos medulares da medula espinhal de cateto.

SC: segmento cervical; ST: segmento torácico; SL: segmento lombar; SS: segmento sacral; VC: vertebra cervical; VT: vertebra torácica; VL: vertebra lombar.

A medula espinhal estendeu-se da transição atlantoccipital até a quinta vértebra lombar. Na região cervical observamos deslocamento cranial a partir do sexto nervo espinhal cervical em 80% dos espécimes (E1, E2, E3, E4), com origem no nível da quinta vértebra cervical, entretanto, o exemplar E5, correspondente aos 20% restantes, foi o único a apresentar deslocamento cranial a partir do sétimo nervo cervical, com origem na sexta vértebra cervical. A continuidade do deslocamento cranial estendeu-se até o oitavo nervo espinhal cervical (Fig. 1, Tabela 1)

Origem	E1	E2	E3	E4	E5
NC6	VC5	VC5	VC5	VC5	VC5/VC6
NC7	VC5	VC6	VC5	VC5/ VC6	VC6
NC8	VC6/ VC7	VC6/ VC7	VC6	VC6/ VC7	VC7

Tabela 1- Topografia vertebromedular da região cervical de cateto.

E: exemplar; NC: nervo cervical; VC: vértebra cervical.

Na região torácica os nervos espinais torácicos apresentaram origem na vértebra antecedente, dando continuidade ao deslocamento cranial iniciado no segmento cervical, porém notamos que o deslocamento diminuiu e os nervos espinais passaram a se originar na vértebra respectiva a partir do décimo nervo espinhal torácico em 40% dos espécimes e, a partir do décimo primeiro nervo, 100% dos espécimes apresentaram origem no nível da vértebra respectiva, mantendo-se a equivalência com a respectiva vértebra até o décimo quarto nervo espinhal torácico (Tabela 2).

Origem	E1	E2	E3	E4	E5
NT10	VT9/VT10	VT10	VT10	VT9/VT10	VT9/VT10
NT11	VT11	VT11	VT11	VT11	VT11
NT12	VT12	VT12	VT12	VT12	VT12
NT13	VT13	VT13	VT13	VT13	VT13
NT14	VT14	VT14	VT14/VL1	VT14/VL1	VT14/VL1

Tabela 2- Topografia vertebromedular da região torácica de cateto.

NT: nervo torácico; VT: vértebra torácica; VL: vértebra lombar.

Para a região lombar, observamos deslocamento cranial de nervos espinais lombares em todos os exemplares analisados. Em 40% dos espécimes (E1 e E4) o deslocamento cranial ocorreu a partir do quinto nervo espinal lombar. Nos exemplares E2 e E3 o deslocamento cranial iniciou-se a partir do terceiro nervo espinal. O exemplar E5 apresentou deslocamento cranial em todos os nervos lombares (Tabela 3). O espaço interarqueado lombossacral apresentou-se amplo e com expressiva quantidade de tecido conjuntivo (Fig. 1).

	E1	E2	E3	E4	E5
NL1	VL1	VL1	VL1	VL1	VT14/VL1
NL2	VL2	VL2	VL2	VL2	VL1/VL2
NL3	VL3	VL2/VL3	VL2/VL3	VL3	VL2/VL3
NL4	VL4	VL3	VL3/VL4	VL4	VL3
NL5	VL4	VL3/VL4	VL3/VL4	VL4	VL3/VL4

Tabela 3- Topografia vertebromedular da região lombar de cateto

NL: nervo lombar.

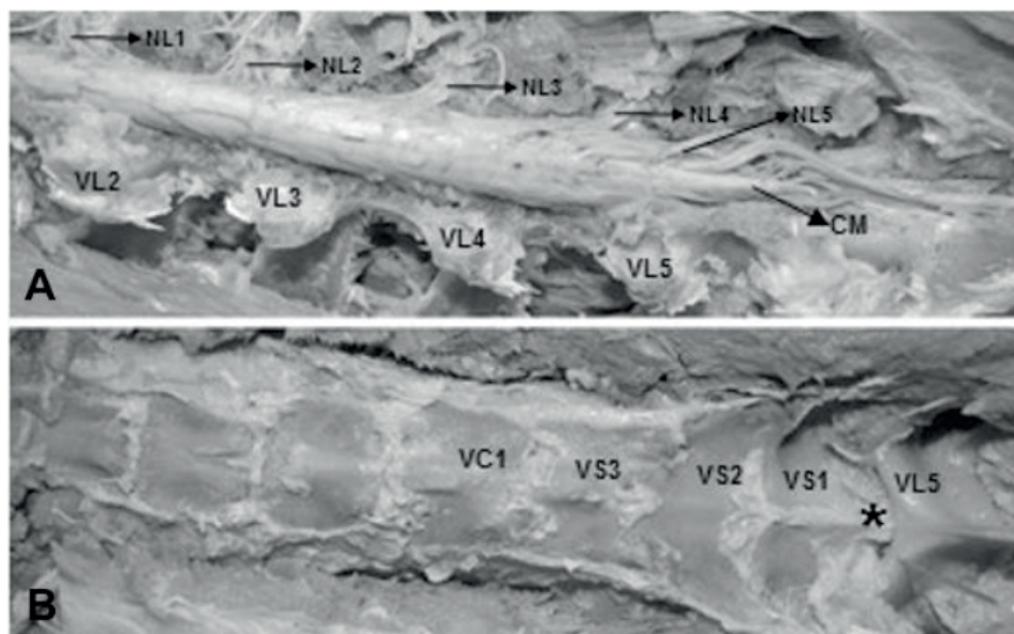


Figura 1-Topografia vértebro medular da região lombossacral de cateto. **A**-VL2, VL3, VL4, VL5: segunda, terceira, quarta e quinta vértebras lombares; NL1, NL2, NL3, NL4, NL5: primeiro, segundo terceiro, quarto e quinto nervos espinais lombares; CM: cone medular. **B**-VS1, VS2, VS3: primeira, segunda e terceira vértebras sacrais: ★: espaço interarqueado lombossacral.

Os três nervos espinais sacrais originaram-se entre a quarta e quinta vértebras lombares em todos os exemplares estudados (Tabela 4).

	E1	E2	E3	E4	E5
NS1	VL4	VL4	VL4	VL4	VL4
NS2	VL4/VL5	VL4	VL4	VL4/VL5	VL4
NS3	VL5	VL4	VL4	VL5	VL4

Tabela 4- Topografia vertebromedular da região sacral de cateto

NS: nervo sacral.

## DISCUSSÃO

Em cateto os cinco nervos espinais lombares, os três sacrais e mais de três caudais localizaram-se na região lombar da coluna vertebral, topografia vertebromedular também registrada em irara (ADAMI et al., 2015); cão (FLETCHER; KITCHELL, 1966), coelho (SILVA et al., 2013).

Em 100% dos exemplares de cateto, a origem do quinto nervo espinal lombar ocorreu no nível da quarta vértebra lombar e os nervos espinais sacrais e caudais situaram-se entre a quarta e quinta vértebras lombares. Em veado catingueiro, os segmentos medulares lombares, sacrais e caudais estenderam-se caudalmente, o segmento lombar localizou-se entre a primeira e quinta vértebras lombares e o segmento sacrocaudal entre a quinta vértebra lombar até a terceira ou quarta vértebra sacral (LIMA et al., 2010). Em impala, apesar da medula espinal terminar na segunda vértebra sacral, houve deslocamento cranial de todos os segmentos medulares a partir do quarto nervo espinal lombar (RAO et al., 1993). Em humanos o deslocamento cranial da região medular lombar iniciou na região torácica, com o primeiro segmento medular lombar no nível da décima primeira vértebra torácica (CANBAY et al., 2014).

A porção da medula espinal contendo os nervos espinhais lombares, sacrais e caudais com situação mais caudal também foi descrita em búfalos, com a porção sacral da medula espinal entre a quinta vértebra lombar e segunda vértebra sacral (SHARMA; RAO, 1971). Em felinos também foi observado deslocamento caudal de segmentos medulares na junção toracolombar e término da medula na junção sacrocaudal (THOMAS; COMBS, 1962).

O conhecimento do nível do término da medula espinal é imprescindível para a realização das anestésias meníngeas. Em catetos indicamos o espaço interarqueado lombossacral de acordo com o término da medula espinal, observada no nível da quinta vértebra lombar. Essa constatação também é relatada em suíno (DYCE et al., 2010), sagui-de-tufo-branco (SILVA et al., 2013), irara (BRANCO et al., 2013), ariranha (MACHADO et al., 2009) e cão (FLETCHER; KITCHELL, 1966).

Em cateto a localização dos oito segmentos medulares cervicais restringiu-se à região cervical da coluna vertebral, topografia também descrita em búfalo (SHARMA; RAO, 1971) e ovino (RAO, 1990). Em veado catingueiro (LIMA et al., 2010) o oitavo segmento medular cervical relacionou-se com a primeira vértebra torácica e em jabuti-de-patas-vermelhas a topografia foi entre a sétima vértebra cervical e a primeira vértebra torácica (CARVALHO et al., 2011).

Embora tenha ocorrido deslocamento cranial dos nove primeiros nervos espinais torácicos, os segmentos medulares torácicos caudais localizaram-se no nível das respectivas vértebras torácicas, topografia também descrita em búfalos (SHARMA; RAO, 1971) e cão (FLETCHER; KITCHELL, 1966). Em impala, apesar de segmentos torácicos iniciais localizarem-se nos limites das respectivas vértebras, houve deslocamento caudal do sexto ao décimo terceiro segmentos torácicos (RAO et al., 1993). Em veado catingueiro o segmento medular torácico localizou-se na região toracolombar da coluna vertebral (LIMA et al., 2010).

Em cateto houve deslocamento cranial de segmentos medulares cervicais, torácicos, lombares, sacrais e caudais, no entanto os segmentos cervicais e torácicos restringiram-se às regiões cervical e torácica da coluna vertebral respectivamente. O deslocamento cranial registrado nos segmentos medulares lombar, sacral e caudal determinaram mudanças na localização dos referidos segmentos em relação às respectivas regiões da coluna vertebral. Recomendamos o espaço interarqueado lombossacral como sítio de eleição para as anestésias meníngeas em cateto.

## REFERÊNCIAS

Adami, M.; Rekowsky, B. S. S.; Silva, R. D. G.; Faria, M. M. M. D.; Pinto, M. G. F.; Almeida, A. E. F. S. **Topografia vertebromedular de irara (*Eira barbara* Linnaeus, 1758)**. Pesq. Vet. Bras., v. 35, p. 871-874, 2015.

Branco, E.; Lins e Lins F. L. M.; Pereira, L. C.; Lima, A. R. **Topografia do cone medular da irara (*Eira barbara*) e sua relevância em anestésias epidurais**. Pesq. Vet. Bras., v. 33, p. 813-816, 2013.

Canbay, S.; Gurer, B.; Bozkurt, M.; Comert, A.; Izci, Y.; Baskaya, M. K. **Anatomical Relationship and Positions of the Lumbar and Sacral Segments of the Spinal Cord According to the Vertebral Bodies and the Spinal Roots**. Clinical Anatomy, v. 27, p. 227-233, 2014.

Carvalho, R. C.; Sousa, A. L.; Oliveira, S. C. R.; Pinto, A. C. B. C. F.; Fontenelle, J. H.; Cortopassi, S. R. G. **Morphology and topographic anatomy of the spinal cord of the red-footed tortoise (*Geochelone carbonaria* Spix, 1824)**. Pesq. Vet. Bras., v. 31, p. 47-52, 2011.

Dyce, K. M.; Sack, W. O.; Wensing C. J. G. **Tratado de Anatomia Veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 813 p.

Fletcher T. F.; Kitchell R. L. **Anatomical Studies on the Spinal Cord Segments of the Dog**. Am. J. Vet. Res., v. 27, p. 1759-1767, 1966.

Gregores, G. B. **Topografia vertebromedular e anestesia espinhal em quati (*Nasua nasua*)**. 2006. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

- Lima, F.C.; Santos, A.L.Q.; Lima, B.C.; Vieira, L. G.; Hirano, L. Q. L. **Topography anatomy of the spinal cord and vertebromedullary relationships in *Mazama gouazoubira* Fisher, 1814 (*Artiodactyla: Cervidae*)**. Acta Scientiarum Biological Sciences, v. 32, p. 189-194, 2010.
- Machado, G. V. ; Rosas, F. C. W.; Lazzarini, S. M. **Topografia do cone medular na ariranha (*Pteronura brasiliensis* Zimmermann, 1870)**. *Ciência Animal Brasileira*, v. 10, p. 301-305, 2009.
- Oliver, W. L. R. **Pigs, Peccaries, and Hippos**. IUCN SSC Pigs and Peccaries Specialist Group and Hippos Specialist Group. IUCN – The World Conservation Union, Gland, Switzerland, 1993.
- Rao, G. S.; Kalt, D. J.; Koch, M.; Majok, A. A. **Anatomical studies on the spinal cord segments of the Impala (*Aepyceros malampus*)**. Anat. Histol. Embryol. v. 22, p. 273-278, 1993.
- Rao, G. S. **Anatomical studies on the ovine spinal cord**. Anat. Anz., v.171, 261-264, 1990.
- Santos, D. O.; Mendes, A.; Nogueira, S. S. C.; Nogueira Filho, S. L. G. **Criação comercial de caititus (*Pecari tajacu*): uma alternativa para o agronegócio**. Rev. Bras. Saúde Prod. An., v. 10, p. 1-10, 2009.
- Sharma, D. N.; Rao, G. S. **Topography of spinal cord segments in buffalo (*Bubalus bubalis*)**. Indian J. Anim. Sci., v. 41, p. 161-165, 1971.
- Silva, L. L. S.; Barroso, C. E.; Junior, V. P.; Bombonato, P. P. **Topografia vértebro-medular em sagui-de-tufo-branco (*Callithrix jacchus* Linnaeus, 1758)**. Ciênc. Anim. Bras., v. 14, p. 462-467, 2013.
- Sowls, L. K. **Javelinas and other peccaries: their biology, management and use**. 2 ed. Texas: Texas A & M University, 1997. 325 p.
- Thomas, C. E.; Combs, C. M. **Spinal cord segments: a gross structure in adult cat**. American Journal of Anatomy, v. 110, p. 37-47, 1962.

## SERTOLIOMA BENIGNO EM CÃO SEM PADRÃO RACIAL DEFINIDO E NÃO CRIPTORQUIDA: RELATO DE CASO

Data de submissão: 11/03/2020

Data de aceite: 15/05/2020

Centro Universitário Cesmac, Laboratório de Biotecnologia e Reprodução Animal do Cesmac, Marechal Deodoro - AL

### **Dawys Elisio de Oliveira Peroba**

Insemina PET, Maceió - AL

### **Eliane Macedo Bernieri**

Centro Universitário Cesmac, Laboratório de Biotecnologia e Reprodução Animal do Cesmac, Marechal Deodoro - AL

### **Karen Noronha Sarmiento**

Centro Universitário Cesmac, Laboratório de Biotecnologia e Reprodução Animal do Cesmac, Marechal Deodoro - AL

### **Ana Gabriela Almeida Luna Vieira**

Centro Universitário Cesmac, Laboratório de Biotecnologia e Reprodução Animal do Cesmac, Marechal Deodoro - AL

### **Mariah Tenório de Carvalho Souza**

Centro Universitário Cesmac, Laboratório de biotecnologia e reprodução animal do Cesmac, Marechal Deodoro - AL

### **Gilsan Aparecida de Oliveira**

Centro Universitário Cesmac, Laboratório de Parasitologia do Cesmac, Marechal Deodoro - AL

### **Rodrigo Antônio Torres Matos**

Centro Universitário Cesmac, Laboratório de Microbiologia Veterinária do Cesmac, Marechal Deodoro - AL

### **Raíssa Karolliny Salgueiro Cruz**

Centro Universitário Cesmac, Clínica de Grandes Animais do Cesmac, Marechal Deodoro - AL

### **Valesca Barreto Luz**

**RESUMO:** Os tumores testiculares estão em segundo lugar nas neoplasias mais frequentes observadas em canídeos machos geriátricos. Diversas variáveis podem influenciar a etiopatogenia, incluindo idade, raça, exposição a agentes ambientais carcinogênicos, além da condição criptorquídica em alguns cães. Os sertoliomas geralmente provocam distúrbios hormonais que culminam em dermatopatias, síndrome de feminilização e ginecomastia em decorrência do hiperestrogenismo. Como objetivo será relatado um caso raro de sertolioma em cão de 11 anos sem padrão racial definido e não criptorquídico atendido na InseminaPet Clínica Veterinária, Maceió-AL. No exame físico verificou-se que ambos os testículos estavam na bolsa escrotal e que havia grande aumento do testículo esquerdo acompanhado de dermatite escrotal com lesão ulcerativa. Após exames complementares foi recomendado orquiectomia bilateral com ablação da bolsa escrotal e encaminhamento dos órgãos para biópsia. O exame histológico do testículo esquerdo evidenciou túbulos seminíferos acentuadamente dilatados pela presença de células neoplásicas alongadas levando ao diagnóstico de sertolioma. O animal

possua os dois testículos alojados na bolsa escrotal e não pertencia a uma raça definida, sendo a senilidade considerada o fator desencadeante da neoplasia.

**PALAVRAS-CHAVE:** Reprodução, Canino, Neoplasia, Testículos.

## BENIGN SERTOLIOMA IN DOG WITHOUT RACIAL STANDARD DEFINED AND NOT CRYPTORCHID: CASE REPORT

**ABSTRACT:** Testicular tumors are second in the most frequent neoplasms observed in geriatric male canids. Several variables may influence etiopathogenesis, including age, breed, exposure to carcinogenic environmental agents, and the cryptorchid condition in some dogs. Sertoliomas usually cause hormonal disorders that culminate in dermatopathies, feminization syndrome, and gynecomastia due to hyperestrogenism. As a goal, a rare case of sertolioma in an 11-year-old dog with no defined racial pattern and non-cryptorchidic pattern attended at the InseminaPet Veterinary Clinic, Maceió-AL, will be reported. On physical examination it was found that both testicles were in the scrotum and that there was a large increase in the left testicle accompanied by scrotal dermatitis with ulcerative lesion. After complementary examinations, bilateral orchiectomy was recommended with ablation of the scrotum and referral of organs for biopsy. After complementary examinations, bilateral orchiectomy was recommended with ablation of the scrotum and referral of the organs for biopsy. Histological examination of the left testicle showed seminiferous tubules markedly dilated by the presence of elongated neoplastic cells leading to the diagnosis of sertolioma. The animal had both testicles lodged in the scrotum and did not belong to a defined breed, and senility was considered the triggering factor of the neoplasm.

**KEYWORDS:** Reproduction, Canine, Neoplasia, Testis.

## 1 | INTRODUÇÃO

Os tumores em testículos são mais frequentes nos cães do que em qualquer outro mamífero doméstico, sendo a segunda neoplasia mais incidente em cães e correspondem a quase 90% dos tumores no trato reprodutivo masculino (JUBB; KENNEDY; PALMER, 2016). Essas neoplasias podem se desenvolver em animais jovens, a partir dos 3 anos de idade, mas normalmente acometem animais mais velhos com idade média de 10 anos (NASCIMENTO; SANTOS, 2003; MEUTEN, 2016).

A etiopatogenia destas neoplasias ainda é considerada desconhecida e complexa, pois diversas variáveis a podem influenciar, incluindo idade, raça, exposição a agentes ambientais carcinogênicos, além da condição criptorquídica em alguns cães (CIAPUTA et al., 2012). Algumas raças como Schnauzer Miniatura, Poodle, Lulu da Pomerânia, Husky Siberiano, Yorkshire Terrier, Chihuahua e Boxer apresentam predisposição no desenvolvimento de tumores testiculares (ARGYLE; BREARLEY; TUREK 2008; FONSECA, 2009).

Os tumores testiculares estão em segundo lugar nas neoplasias mais frequentemente observadas nos canídeos machos geriátricos, cujo tratamento de eleição é a orquiectomia bilateral tendo em alguns casos a necessidade de realizar a ablação total da bolsa escrotal, apresentando comumente bons resultados para os pacientes (FONSECA, 2009; FERNANDES, 2017).

De acordo com a origem celular, as neoplasias podem ser classificadas em tumores de células germinativas (seminomas), tumores gonodais estromais (sertoliomas e tumores das células intersticiais ou de Leydig) e mistos, sendo estes menos comum (APPARÍCIO; VICENTE, 2015).

As células de Sertoli fornecem suporte mecânico para as células germinativas e participam da sua nutrição e diferenciação, também são responsáveis pela produção da proteína ABP (androgen binding protein) que por sua vez são responsáveis pela manutenção da concentração elevada de testosterona no túbulo seminífero, condição muito importante para a manutenção da espermatogênese (JUNQUEIRO; CARNEIRO, 2004). A neoplasia que deriva destas células é denominada sertolioma e geralmente provoca distúrbios hormonais que culminam em dermatopatias, síndrome de feminilização e ginecomastia em decorrência do hiperestrogenismo (ARGENTA et al., 2016; LOPES et al., 2019).

Os sertoliomas, seminomas e leydigocitomas costumam apresentar um comportamento benigno (FARIA et al., 2018). A taxa de malignidade pode variar de 10 a 20% nas neoplasias das células de Sertoli, 5 a 10% nos seminomas e rareando nas neoplasias das células intersticiais (ALBERS et al., 2009).

A incidência dos seminomas, sertoliomas e dos tumores da células de Leydig é igual, no entanto os cães criptorquídicos têm uma propensão 14 vezes maior que cães normais de apresentar qualquer um desses tumores. Os tumores mais comuns em criptorquídicas são os sertoliomas e seminomas, numa proporção de 60% e 40%, respectivamente. Os cães que apresentam os testículos na bolsa escrotal podem vir desenvolver tumores das células de Leydig numa proporção de 40% (APPARÍCIO; VICENTE, 2015).

Nos cães criptorquídicos a prevalência de desenvolvimento de sertolioma nos testículos esquerdo ou direito está na proporção de 1:1, enquanto nos animais não criptorquídicos o desenvolvimento neoplásico do sertolioma se dar numa proporção 4:1 no testículo esquerdo (FONSECA, 2009).

Diante do exposto será relatado um caso raro de sertolioma em cão de 11 anos de idade sem padrão racial definido e não criptorquídico atendido na InseminaPet Clínica Veterinária, Maceió-AL.

## 2 | METODOLOGIA

Um canino, sem padrão racial definido, 11 anos, pesando 18,10kg foi atendido no

pronto atendimento da InseminaPet Clínica Veterinária, Maceió, Alagoas. Segundo a tutora o cão não era sociável com crianças, e em suas investidas no âmbito domiciliar se chocava contra a parede. Em um desses eventos começou a apresentar um incomodo na região da bolsa escrotal ao andar e começou a lamber muito essa região, além de apresentar um aumento de volume na mesma, quadro que já se estendia por aproximadamente 3 meses.

No exame físico, durante a palpação, foi verificado que ambos os testículos estavam na bolsa escrotal e que havia grande aumento do testículo esquerdo (Figura 1) acompanhado de dermatite escrotal com lesão ulcerativa, temperatura de 39,3°, tempo de preenchimento capilar (TPC) de 2 segundos, mucosas oculares hipercoradas, frequência cardíaca de 130 bpm, frequência respiratória de 20 mrm.



Figura 1. Bolsa escrotal com aumento de volume.

Como exames complementares foram solicitados hemograma e bioquímico, ultrassom torácico, abdominal e pélvico. Posterior à avaliação dos exames, o paciente foi encaminhado para realização de cirurgia de orquiectomia bilateral com ablação total da bolsa escrotal. Após o procedimento, o paciente foi mantido em observação seguido de alta médica.

Depois da ressecção cirúrgica de ambos os testículos, as estruturas testiculares foram encaminhadas para realização de biópsia. As amostras foram processadas rotineiramente e os cortes histológicos corados pela hematoxilina-eosina (HE).

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos exames de hemograma e bioquímico os valores se encontravam dentro dos parâmetros para a idade e raça. Na avaliação ultrassonográfica foi visualizado ambos

os testículos na bolsa escrotal. O testículo direito com parênquima testicular direito mantido e linha mediastinal preservada, medindo cerca de 2,67 cm x 1,17 cm. Em contrapartida, o testículo esquerdo demonstrava menor diferenciação de parênquima e media cerca de 5,30 cm x 2,5 cm. A região de epidídimo direito e esquerdo apresentava importante aumento de volume, com textura heterogênea, áreas cavitárias e tecido de ecogenicidade mista. Scisleski, Souza e Witz (2019) descrevem estas mesmas características no exame ultrassonográfico de um tumor testicular.

Também foi visualizado que o paciente não apresentava linfomegalia. Segundo Scisleski, Souza e Witz (2019), esta situação contribui na indicação da orquiectomia bilateral como método cirúrgico. Sendo capaz de extrair completamente o tumor e obter resultados satisfatórios no alívio sintomático e na melhoria da qualidade de vida do paciente.

As características macroscópicas dos testículos extraídos demonstraram um aumento considerável de volume do testículo esquerdo e uma hipoplasia do órgão contra lateral. O órgão esquerdo exibia um parênquima firme, com estruturas lobulares, muito vascularizado (Figura 2). Ciaputa et al. (2012) cita que a elevação da temperatura testicular, em casos de criptorquidas, promove a degeneração do epitélio germinativo, favorecendo a permanência apenas das células de Sertoli, hipótese a ser levada em conta devido a vascularização exibida em torno do órgão.



Figura 2. Testículo direito com aumento de volume em relação ao esquerdo, exibindo nodulações e vascularização superficial.

A biópsia do testículo esquerdo evidenciou túbulos seminíferos acentuadamente dilatados pela presença de células neoplásicas alongadas (Figura 3, A), dispostas lado a lado (paliçada) e apoiadas sobre membrana basal de túbulos seminíferos (Figura 3, B), ocluindo todo o lúmen tubular com citoplasma claro e algumas com discretas

vacuolizações, núcleo basofílico, discretamente alongado com nucléolo único, moderadas anisocitose e anisocariose, fibrose intersticial acentuada e pequenas áreas de necrose multifocal. Tal descrição corrobora com o diagnóstico de tumor de células de Sertoli (sertolioma) (MEUTEN, 2016; JUBB; KENNEDY; PALMER, 2016).

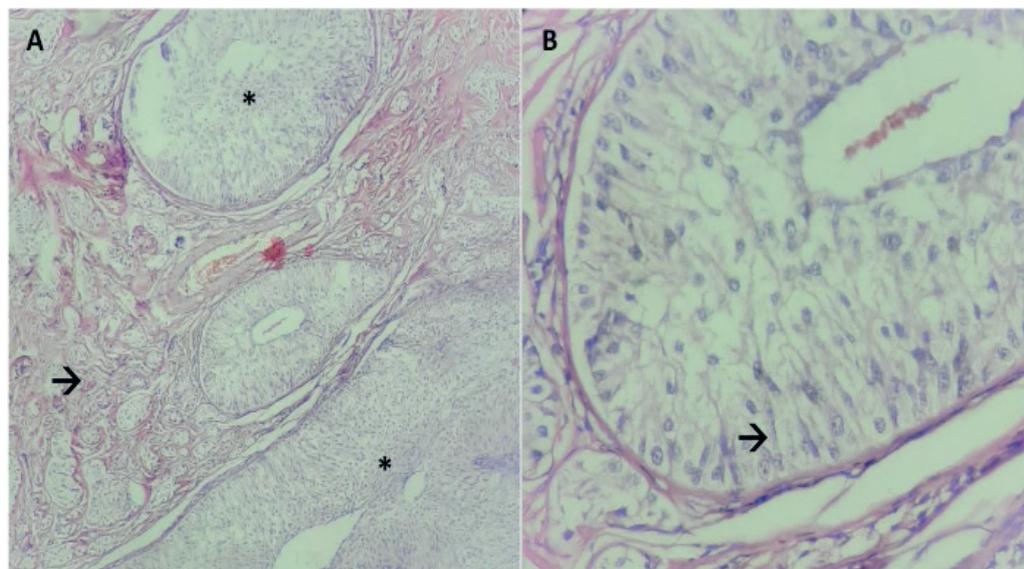


Figura 3. Microfotografia histológica do testículo esquerdo. A) Tubulos seminíferos dilatados e ocluídos (asterísco), e fibrose intersticial (seta). B) Células neoplásicas alongadas em paliçadas apoiadas na membrana basal (seta).

O animal relatado neste estudo possuía os dois testículos alojados na bolsa escrotal e não pertencia a uma raça definida, sendo a senilidade considerada o fator desencadeante da neoplasia que apresentou-se, semelhante ao caso relatado por FERNANDES, 2017, no qual constatou sertolioma em cão criptorquida, porém o tumor apresentava características de malignidade.

Fernandes, 2017 também cita ausência de sinais clínicos relacionados ao processo neoplásico, bem semelhante ao caso aqui relatado. Em contrapartida, outros estudos evidenciaram que 25 a 50% dos casos de sertolioma apresentam um sinal clínico bem marcante: a síndrome de feminização por hiperestrogenismo (ARGENTA et al., 2016; HADDAD NETA et al., 2019).

#### 4 | CONCLUSÃO

Este relato sugere a senilidade do animal como fator principal para o desenvolvimento do sertolioma, uma vez que outras características predisponentes citadas na literatura, como criptorquidismo e padrão racial definido, não faziam parte da condição do animal.

## REFERÊNCIAS

- ALBERS, P. et al. **Orientações sobre tumor do testículo**, p. 74, 2009.
- APPARICIO, M.; VICENTE, W.R.R. **Reprodução e obstetrícia em cães e gatos**. São Paulo: Medvet, cap.14, p. 159-162, 2015.
- ARGENTA, F. F. et al. Neoplasmas testiculares em cães no Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 44, p. 1413, 2016.
- ARGYLE, D.; BREARLEY, M.J.; TUREK, M.M. **Decision Making in Small Animal Oncology**. Iowa: Wiley Blackwell, Cap. 3. p. 45-50, 2008.
- CIAPUTA, R. et al. Seminoma, sertolioma and leydigocitoma in dogs: clinical and morphological correlations. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v. 56, p. 361-367, 2012.
- FERNANDES, L. M. **Sertolioma maligno em cão não criptorquida: relato de caso**. 2017, 38 f. Universidade Federal da Paraíba - Centro de Ciências Agrárias, 2017.
- FARIA, B. M. Sertolioma em um canino associado à criptorquidia: relato de caso. **Pubvet** 2018. <http://www.pubvet.com.br/uploads/90867c894dcc7ff9a722dea4eaa35f54.pdf>
- FONSECA, C. V. C. V. **Prevalência e tipos de alterações testiculares em canídeos**. 2009, 87 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária). Universidade Técnica de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária, 2009.
- HADDAD NETA, J. et al. Sertolioma in a Canadian Husky: relationship between tumor, hormones, neurons and skin. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.47, p. 416, 2019.
- JUBB K.V.F.; KENNEDY P.C.; PALMER N.C. **Pathology of domestic animals**, 6. ed., v. 2, London: Academic Press, p. 523, 2016.
- JUNQUEIRA, L.C; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10. ed., Rio Janeiro: Guanabara Koogan S.A., p. 423-424, 2004.
- LOPES, C.E.B. et al. Sertolioma difuso em cão criptorquídico. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, v. 35, n. 1, p. 021-025, 2019.
- MEUTEN, D.J. **Tumors in domestic animals**. 5. ed., Wiley: Blackwell, 2016.
- NASCIMENTO, E. F.; SANTOS, R. L. **Patologia da reprodução dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., cap. 8, p. 94-99, 2003.
- SCISLESKI, M. S. O.; SOUZA, A.L.; WITZ, M.I. Seminoma e sertolioma em cão criptorquida: relato de caso. **Veterinária em Foco**, v.16, n. 2, 2019.
- SORRIBAS, C. E. **Atlas de reprodução canina**. São Caetano do Sul: Interbooks, cap:12, p. 200-209, 2006.

## **SOBRE OS ORGANIZADORES**

**Alécio Matos Pereira:** Possui graduação em Medicina Veterinária (2004), mestrado (2008) e doutorado (2014) em Ciência Animal (área de concentração em Reprodução Animal) pela Universidade Federal do Piauí. Atualmente é Professor da Universidade Federal do Maranhão, Campus IV, da disciplina de Anatomia e Fisiologia, nos cursos de Zootecnia, Agronomia e Biologia. Tem experiência na área de Medicina Veterinária e Zootecnia, com ênfase em endocrinologia e piscicultura. E-mail para contato: [aleciomatos@gmail.com](mailto:aleciomatos@gmail.com) Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2057530058619654>

**Lauro César Soares Feitosa:** Graduado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Piauí, Mestrado em Ciência Animal na área de Sanidade e Reprodução Animal e Doutorado em Ciência Animal pela Universidade Federal do Piauí. Atualmente é Professor Efetivo do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Piauí, no Ministro Petrônio Portela ministrando as disciplinas de Semiologia Veterinária e Zoonoses, atuando principalmente nos seguintes temas: reprodução, clínica de equinos, sistema renina angiotensina, angiotensina-(1-7) e saúde pública. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4165601274037187>

**Sara Silva Reis:** Possui graduação em Zootecnia pela Universidade Federal do Maranhão (2019). Mestranda em Ciência Animal pelo Programa de Pós graduação PPGCA pela Universidade Federal do Maranhão - Campus IV. Tem experiência na área de Zootecnia, com ênfase em Zootecnia. E-mail para contato: [sara.reis652@gmail.com](mailto:sara.reis652@gmail.com) Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9200770549379851>

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Anatomia 95, 97, 101, 110  
Anemia hemolítica 47, 49  
Antropozoonose 82, 83  
Arboviroses 70, 71, 80  
Azadiractina 35, 37, 38, 42, 44

### B

*Babesia canis* 47, 49, 50, 51, 52  
Bem-estar animal 13, 18  
Bioinseticida 35, 43  
Bioprodutos 20, 21, 25, 29, 30, 32  
Bovinos 10, 19, 20

### C

Calazar 82, 83  
Canino 82, 83, 104, 105, 109  
Controle alternativo 35, 37

### D

Doença sistêmica 82

### E

Epidemiologia 58, 61, 62, 65, 70  
Equídeos 13, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 67, 68, 88, 90

### G

Gado de leite 1, 3

### H

Hidrólise 19, 20, 21, 22, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32  
Homeopatia 1, 2, 3, 4, 5, 9, 10, 11

### I

Insetos 35, 37, 38, 42, 43, 45, 82, 83

## M

Mastite bovina 1, 3, 10, 11

Medula espinal 95, 97, 98, 100

Modulação imune 1

Mormo 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 61, 62, 65, 66, 67, 68

## N

Neoplasia 104, 105, 108

## P

Peptídeos 19, 20, 21, 27, 32

Primatas 69, 70, 71

## R

Reprodução 37, 59, 103, 104, 109, 110

*Rhipicephalus sanguineus* 47

## S

Sertolioma 103, 104, 105, 108, 109

Sistema nervoso 85, 95

## T

Testículos 103, 104, 105, 106, 107, 108

## V

Vértebra 95, 98, 99, 100, 101

Vísceras 19, 20, 21, 22, 25, 26, 27, 28, 29, 31, 32, 34, 72, 76

## Z

Zoonoses 44, 70, 71, 110

 **Atena**  
Editora

**2 0 2 0**