

A Pesquisa nos Diferentes Campos da Medicina Veterinária 3

Alécio Matos Pereira
Sara Silva Reis
Wesklen Marcelo Rocha Pereira
(Organizadores)



A Pesquisa nos Diferentes Campos da Medicina Veterinária 3

Alécio Matos Pereira
Sara Silva Reis
Wesklen Marcelo Rocha Pereira
(Organizadores)



Editora Chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Assistentes Editoriais

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto Gráfico e Diagramação

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremona

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

Imagens da Capa

Shutterstock

Edição de Arte

Luiza Alves Batista

Revisão

Os Autores

2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena

Editora pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. 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.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

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
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
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. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
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 – Pontifícia Universidade Católica de Campinas
Profª Drª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
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
Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria
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. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
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
Profª Drª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves -Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
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
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
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 Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
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
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
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. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande

Profª Drª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá

Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba

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

Profª Drª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Linguística, Letras e Artes

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins

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

Profª Drª Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará

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

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

Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

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

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

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

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. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba

Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí

Prof. Me. Alexsandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional

Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão

Profª Ma. Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa

Profª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico

Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia

Profª Ma. Anelisa Mota Gregoleti – Universidade Estadual de Maringá

Profª Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais

Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco

Profª Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar

Profª 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

Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas

Prof. Me. Clécio Danilo Dias da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará

Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília

Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa

Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Me. Givanildo de Oliveira Santos – Secretaria da Educação de Goiás
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
Profª Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza
Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe
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 Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia
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. Liliãni Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Profª Drª Lúvia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. 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. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará

Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco

Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal

Prof. Me. Robson Lucas Soares da Silva – Universidade Federal da Paraíba

Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profª Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão

Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo

Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana

Profª Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí

Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo

Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Bibliotecária: Janaina Ramos
Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Vanessa Mottin de Oliveira Batista
Edição de Arte: Luiza Alves Batista
Revisão: Os Autores
Organizadores: Alécio Matos Pereira
Sara Silva Reis
Wesklen Marcelo Rocha Pereira

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

P474 A pesquisa nos diferentes campos da medicina veterinária 3
/ Organizadores Alécio Matos Pereira, Sara Silva Reis,
Wesklen Marcelo Rocha Pereira. – Ponta Grossa - PR:
Atena, 2020.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5706-654-6

DOI 10.22533/at.ed.546200712

1. Medicina veterinária. 2. Pesquisa. I. Pereira, Alécio
Matos (Organizador). II. Silva Reis, Sara (Organizadora). III.
Pereira, Wesklen Marcelo Rocha (Organizador). IV. Título.

CDD 636.089

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos.

APRESENTAÇÃO

O livro abrange temas relevantes relacionados a saúde animal, parasitologia, comportamento animal e produção de forragens. E estão divididos em volume II e volume III somando 52 capítulos. Nestes foram descritos relato de caso, experimentos e revisões. Que contém informações importantes para o entendimento do leitor, proporcionando uma visão clara e completa de todo conteúdo a ser abordado. No volume II e III, estão descritos assuntos como o comportamento, cognição e aprendizagem em cães, avaliação de carrapaticidas químicos, produção de forragem, coccidiose aviária, diagnóstico de tumores de pele em animais domésticos entre outros.

Os estudantes dos cursos das agrárias têm a sua disposição uma literatura científica ampla e aprofundada sobre os assuntos de maior vigência na atualidade. É um livro que aborda as mais diversas áreas da Medicina Veterinária e da produção animal, tornando os seus capítulos indispensáveis para uma atualização dos profissionais da área.

Nas últimas décadas houve grande aumento no número de grupos de pesquisa e publicações sobre comportamento, cognição e bem-estar de cães. Trazendo o foco nos novos conhecimentos gerados, nas dificuldades de compreensão desse conhecimento e as iniciativas que parecem poder suplantar as dificuldades.

Com tudo, a diversidade de assuntos abordados nos volumes II e III apresentam capítulos com pesquisas, relatos, objetivos e resultados, desenvolvidos por diversos pesquisadores, professores, profissionais e estudantes. Como uma maneira de expandir a pesquisa científica como uma fonte importante para auxiliar na atualização de todos que buscam uma fonte segura e atualizadas sobre a ciência animal.

Alécio Matos Pereira

Sara Silva Reis

Wesklen Marcelo Rocha Pereira

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

ADAPTABILIDADE DE CAPRINOS ANGLO-NUBIANA E BOER ÀS CONDIÇÕES CLIMÁTICAS DO MUNICÍPIO DE CHAPADINHA-MA

Sara Silva Reis
Alécio Matos Pereira
Wesklen Marcelo Pereira Rocha
Ayszanalía Silva de Aguiar
Julyana Barbosa Carvalho Silva
Isaias Viana da Silva
Maria das Dores Alves de Oliveira
Nágila Maria de Carvalho Almeida
André Alves de Sousa
Arlan Araujo Rodrigues

DOI 10.22533/at.ed.5462007121

CAPÍTULO 2..... 10

INCIDÊNCIA DE ERLIQUIOSE CANINA E COINFECCÕES POR *Anaplasma spp.* E *Leishmania spp.* NO MUNICÍPIO DE FLORIANO-PI, BRASIL

Pedro Ferreira de Sousa Junior
Raffael Oliveira Eufrasio
Cosme Nogueira da Silva
Pietra Roanny Costa Mota Sousa
Lauanne Rodrigues Barros
Thales Rodrigues Costa
Luís Eduardo Leite Leão Martins
Raylson Pereira de Oliveira
José Pires de Carvalho Neto
Glenda Lídice de Oliveira Cortez Marinho
David Germano Gonçalves Schwarz
Márcia Paula Oliveira Farias

DOI 10.22533/at.ed.5462007122

CAPÍTULO 3..... 19

INFUSÃO CONTÍNUA DE NOREPINEFRINA NO CONTROLE DE HIPOTENSÃO TRANS E PÓS-OPERATÓRIO DE FELINO: RELATO DE CASO

Isabela Nicoletti Fávero
Camila Feltrin Giglio
Rochelle Gorczak

DOI 10.22533/at.ed.5462007123

CAPÍTULO 4..... 31

INGESTÃO DE MÚLTIPLAS PEDRAS BRITA POR UM CÃO – RELATO DE CASO

Raylanne Letícia Pessoa Sousa
Ryshely Sonaly de Moura Borges
Moisés Dantas Tertulino
Araceli Alves Dutra

Darla Whaianny Fernandes de Lima
Camila Carneiro Araújo
Eraldo Barbosa Calado

DOI 10.22533/at.ed.5462007124

CAPÍTULO 5..... 38

MIELOMA MÚLTIPLO EM CÃO – RELATO DE CASO

Luana Lopes Patente
Michele Legnaro Canteiro
Milene Letícia Bastos de Souza
Elizabeth Bohland

DOI 10.22533/at.ed.5462007125

CAPÍTULO 6..... 42

NEURITE POR DOENÇA DE MAREK EM GALINHAS CAIPIRAS

Vitor de Moraes Pina de Carvalho
Alessandra Estrela-Lima
Natasha Dórea da Silva Azevedo
Flávia Roberta Pereira Abbude-Carvalho
Elainne Maria Beanes da Silva Santos
Gabriel Saraiva Diniz Gonçalves
Danielle Nascimento Silva
Lia Muniz Barretto Fernandes
Thanielle Novaes Fontes
Eduardo Luiz Moreira Trindade
Isabella Neves Finamori França Polonio
Marilaine Carlos de Sousa

DOI 10.22533/at.ed.5462007126

CAPÍTULO 7..... 50

OCORRÊNCIA DE *MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBSP. *PARATUBERCULOSIS* VIÁVEL DO TIPO *CATTLE* SUBTIPO *BISON* EM QUEIJO COALHO DE BÚFALA PROVENIENTE DE ALAGOAS, BRASIL

Pedro Paulo Feitosa de Albuquerque
Marilene de Farias Brito
Erika Fernanda Torres Samico- Fernandes
José Wilton Pinheiro Junior
Rinaldo Aparecido Mota

DOI 10.22533/at.ed.5462007127

CAPÍTULO 8..... 60

PROCESSOS DE VITRIFICAÇÃO DE OÓCITOS E EMBRIÕES: O QUE VOCÊ PRECISA SABER

Mariana Mendonça Maia Cavalcante
Marcio Calixto Matias
Agnelo Douglas do Nascimento Junior
Sandra Simone de Barros Lima
Simone Firmino dos Santos

Gilsan Aparecida de Oliveira
Raíssa Karolliny Salgueiro Cruz
Zelma Holanda do Nascimento
Camila Calado de Vasconcelos
Valesca Barreto Luz

DOI 10.22533/at.ed.5462007128

CAPÍTULO 9..... 70

**OVINOCULTURA: PRINCIPAIS HELMINTOS GASTRINTESTINAIS
ENCONTRADOS NA CAMPANHA GAÚCHA**

Brenda Luciana Alves da Silva
Mikaele Simas Santos
Gustavo Freitas Lopes
Gladis Ferreira Corrêa
Lourdes Caruccio Hirschmann
Marcele Ribeiro Corrêa
Anelise Afonso Martins

DOI 10.22533/at.ed.5462007129

CAPÍTULO 10..... 77

**OZONIOTERAPIA NO TRATAMENTO DE INSUFICIÊNCIA RENAL GRAU III E
ASSOCIAÇÕES INTEGRATIVAS- Relato de Caso**

Daniela Franco Lopes
Fernanda Suenson Martarella
Guilherme Augusto Oliveira Barbosa
Matheus Corsini Pilla
Ana Cláudia Benedictis Andreta

DOI 10.22533/at.ed.54620071210

CAPÍTULO 11..... 84

PASSADO, PRESENTE E FUTURO NA PESQUISA DE COCCIDIOSE AVIÁRIA

Fabiano Fabri
Marco Antonio de Andrade Belo

DOI 10.22533/at.ed.54620071211

CAPÍTULO 12..... 97

**PODODERMATITE SÉPTICA COM ROTAÇÃO DE FALANGE DISTAL EM EQUINO
– RELATO DE CASO**

Daniela Scantamburlo Denadai
Fernando Vissani Fernandes
Daniela Bernadete Rozza
Paulo Sergio Patto dos Santos
Juliana Regina Peiró
Flávia de Almeida Lucas

DOI 10.22533/at.ed.54620071212

CAPÍTULO 13..... 102

PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO PELO

VÍRUS DA ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA EM CAPRINOS NO ESTADO DO MARANHÃO

Ynady Ferreira Costa
Laudeci Pires Melo
Tânia Maria Duarte Silva
Nancyleni Pinto Chaves Bezerra
Daniel Praseres Chaves
Adriana Prazeres Paixão
Cristian Alex Aquino Lima
Carla Janaina Rebouças Marques do Rosário
Ferdinan Almeida Melo

DOI 10.22533/at.ed.54620071213

CAPÍTULO 14.....110

PRINCIPAIS AGENTES MICROBIANOS DA PIOMETRA CANINA

Camila Falasca
Amanda Stephanie da Silva Buchud
Rômulo Francis Stangari Lot

DOI 10.22533/at.ed.54620071214

CAPÍTULO 15.....116

PROBLEMAS RESPIRATÓRIOS ASSOCIADOS À EFICÁCIA DO ÁCIDO PERACÉTICO DIAGNOSTICADOS EM CÃES E GATOS

Ester Antonia Bianchet
Fernanda Canello Bandiera
Daniele Cristine Beuron

DOI 10.22533/at.ed.54620071215

CAPÍTULO 16..... 126

PSEUDO-HERMAFRODITA MASCULINO NA ESPÉCIE SUÍNA (*SUS SCROFA DOMESTICUS*)

Carla Fredrichsen Moya
Willian Daniel Pavan
Milena Pontarolo Machado
Polyana Caroline Pissinato Esquerdo Amaro Pedroso
Jayme Augusto Peres

DOI 10.22533/at.ed.54620071216

CAPÍTULO 17..... 132

RABDOMIOSSARCOMA EMBRIONÁRIO EM VESÍCULA URINÁRIA DE CÃO COM OITO MESES DE IDADE – RELATO DE CASO

Marcos Piazzolo
Olicies da Cunha

DOI 10.22533/at.ed.54620071217

CAPÍTULO 18..... 137

RELATO DE EXPERIÊNCIA DE TIMPANISMO GASOSO EM NOVILHA DA

UNIDADE DIDÁTICA DE BOVINOCULTURA DE LEITE DA UNICENTRO

Bruna Rafaela Buss

Bruna Los

Gabriel Vinicius Bet Flores

Mariane Roepke

Helcya Mime Ishiy Hulse

DOI 10.22533/at.ed.54620071218

CAPÍTULO 19..... 145

SCHWANNOMA MALIGNO CANINO EM MEMBRO PÉLVICO – RELATO DE CASO

Gabriela Carvalho Monteiro

Juliano Jácomo Mendes Silotti

Juliana Gomes Braga

Marcus Vinicius Lima David

Cinthia Oliveira de Araújo Barreto

Marília Carneiro de Araújo Machado

DOI 10.22533/at.ed.54620071219

CAPÍTULO 20..... 152

SINDROME NEUROLÓGICA DA ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA

Dâmaris Oliveira Bezerra do Nascimento

Marco Antonio de Andrade Belo

DOI 10.22533/at.ed.54620071220

CAPÍTULO 21..... 161

TRATAMENTO DE FERIDA ABERTA EM EQUINO UTILIZANDO INFUSÃO DE *Stryphnodendron adstringens* ASSOCIADA A AÇÚCAR CRISTAL – RELATO DE CASO

Patrícia Natalícia Mendes de Almeida

Henrique Fernandes Giovanoni

Rodrigo Fernandes Giovanoni

DOI 10.22533/at.ed.54620071221

CAPÍTULO 22..... 173

TRATAMENTO DE MASTITE CLÍNICA E SUBCLÍNICA EM VACAS LEITEIRAS COM GÁS OZÔNIO INTRA-MAMÁRIO

Caio Vinicius Martins

Natan de Jesus Laudino

Ana Caroline Jorge Menezes

Thalita Masoti Blankenheim

DOI 10.22533/at.ed.54620071222

CAPÍTULO 23..... 183

TREATMENT OF CANINE OSTEOSARCOMA USING AUTOLOGOUS ACTIVE IMMUNOTHERAPY WITH OR WITHOUT SURGERY

Patrick Frayssinet

Didier Mathon

Michel Simonet
Jean Louis Trouillet
Valérie Mathon
Nicole Rouquet

DOI 10.22533/at.ed.54620071223

CAPÍTULO 24..... 198

URINÁLISE DE *BRADYPUS VARIEGATUS* EM CATIVEIRO

Marina Sette Camara Benarrós

Vitória Farias Luz

Tatiana Andrade Figueiredo

Ana Silvia Sardinha Ribeiro

DOI 10.22533/at.ed.54620071224

CAPÍTULO 25..... 209

USE OF ENVIRONMENTAL AND GENETIC DESCRIPTORS TO INTEGRATE HERDS OF SHEEP

Jorge Osorio Avalos

Pliego Esquila Marcelino

González Ronquillo Manuel

Robles Jiménez Lizbeth Esmeralda

Castelán Ortega Octavio Alonso

DOI 10.22533/at.ed.54620071225

CAPÍTULO 26..... 229

USO DA CITOPATOLOGIA PARA O DIAGNÓSTICO DE TUMORES DE PELE EM ANIMAIS DOMÉSTICOS

João Rogério Centenaro

Larissa Grunitzky

Natasha Rocha da Silva

Paulo Henrique Braz

DOI 10.22533/at.ed.54620071226

SOBRE OS ORGANIZADORES 240

ÍNDICE REMISSÍVO..... 241

CAPÍTULO 1

ADAPTABILIDADE DE CAPRINOS ANGLO-NUBIANA E BOER ÀS CONDIÇÕES CLIMÁTICAS DO MUNICÍPIO DE CHAPADINHA-MA

Data de aceite: 01/12/2020

Sara Silva Reis

Universidade Federal do Maranhão
UFMA/ CCAA
Chapadinha – MA
<http://lattes.cnpq.br/9200770549379851>

Alécio Matos Pereira

Universidade Federal do Maranhão
UFMA/ CCAA
Chapadinha – MA
<http://lattes.cnpq.br/2057530058619654>

Wesklen Marcelo Pereira Rocha

Universidade Federal do Maranhão
UFMA/ CCAA
Chapadinha – MA
<http://lattes.cnpq.br/8497094072446956>

Ayszanalía Silva de Aguiar

Universidade Federal do Maranhão
UFMA/ CCAA
Chapadinha – MA
<http://lattes.cnpq.br/9518782998904894>

Julyana Barbosa Carvalho Silva

Universidade Federal do Maranhão
UFMA/ CCAA
Chapadinha – MA

Isaias Viana da Silva

Universidade Federal do Maranhão
UFMA/ CCAA
Chapadinha – MA
<http://lattes.cnpq.br/4213073867146846>

Maria das Dores Alves de Oliveira

Universidade Federal do Maranhão
UFMA/ CCAA
Chapadinha – MA

Nágila Maria de Carvalho Almeida

Universidade Federal do Maranhão
UFMA/ CCAA
Chapadinha – MA
<http://lattes.cnpq.br/5375194625139804>

André Alves de Sousa

Universidade Federal do Maranhão
UFMA/ CCAA
Chapadinha – MA
<http://lattes.cnpq.br/2836077544281708>

Arlan Araujo Rodrigues

Universidade Federal do Maranhão
UFMA/ CCAA
Chapadinha – MA
<http://lattes.cnpq.br/4665408321866036>

RESUMO: Em animais de produção como os pequenos ruminantes, as mudanças climáticas exercem um grande impacto na vida produtiva e para se produzir com eficiência em ambientes com elevadas temperaturas os animais recorrem aos mecanismos de termorregulação. O experimento teve como objetivo avaliar a influência das variáveis ambientais sobre as características fisiológicas de caprinos da raça Anglo-Nubiana e Boer no município de Chapadinha – MA em dois períodos do ano. Foram utilizadas 14 animais fêmeas, sete da raça Anglo-Nubiana e sete Boer, com idade média de 18 meses e peso médio de 45kg, todas puras e vazias. Foram avaliados os dados fisiológicos: temperatura retal (TR), frequência respiratória (FR) e frequência cardíaca (FC) mensuradas nos turnos da manhã às 7 horas e à tarde 13 horas, no período seco de Abril/Maio e no período seco Agosto/Setembro

de 2018. De acordo com a análise de variância houve efeito significativo ($P < 0,05$) para todas as variáveis ambientais TGN, TBS, TBU, ITU e UR%. Todas as variáveis ambientais diferiram estatisticamente ($P < 0,05$) entre turnos. As médias da TGN no período chuvoso foram de 30,7 e 36°C e no período seco obteve 30,3 e 38,6°C. Houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre turnos, onde as maiores médias foram obtidas no turno da tarde nos dois períodos. Houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre turnos nos dois períodos para a TBS. Para a TBU, houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre turnos, sendo as maiores médias observadas no turno da tarde nos dois períodos. Houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre turnos nos dois períodos para a ITU. A UR, foi influenciada por todos os fatores, diferindo ($P < 0,05$) entre turnos manhã e tarde e entre os períodos chuvoso e seco. Considerando a FR, pôde-se observar que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre raças nos turnos. O valor da FC entre raças não diferiu ($P > 0,05$), demonstrando que a FC se apresenta dentro dos limites fisiológicos aceitáveis para a espécie. Nas raças Anglo-Nubiana e Boer houve efeito significativo ($P < 0,05$) entre raças no turno da manhã nos dois períodos. Porém, não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre raças nos turnos da tarde e nos períodos seco e chuvoso. As raças Anglo - Nubiana e Boer mantiveram os valores de temperatura corpórea adequados de acordo com o recomendado para a espécie, sendo adaptadas fisiologicamente às condições climáticas da cidade de Chapadinha – MA.

PALAVRAS-CHAVE: Adaptação, Bem-estar, Caprinocultura, Termorregulação.

ADAPTABILITY OF ANGLO-NUBIAN AND BOER GOATS TO THE CLIMATE CONDITIONS OF THE MUNICIPALITY OF CHAPADINHA-MA

ABSTRACT: In production animals such as small ruminants, climatic changes have a great impact on productive lives and to produce efficiently in high temperature environments, animals' resort to thermoregulation mechanisms. The objective of this experiment was to evaluate the influence of environmental variables on the physiological characteristics of Anglo - Nubian and Boer goats in the municipality of Chapadinha - MA in two periods of the year. Fourteen female animals were used, seven Anglo-Nubian and seven Boer, with an average age of 18 months and average weight of 45 kg, all of them pure and empty. The physiological data were evaluated: rectal temperature (RR), respiratory rate (RF) and heart rate (HR) measured in the morning shifts at 7 o'clock and 13 o'clock in the dry season in April / May and in the dry period August / September 2018. According to the analysis of variance there was a significant effect ($P < 0.05$) for all environmental variables TGN, TBS, TBU, ITU and UR%. All environmental variables differed statistically ($P < 0.05$) between shifts. The TGN averages in the rainy season were 30.7 and 36 ° C and in the dry period it obtained 30.3 and 38.6 ° C. there was a significant difference ($P < 0.05$) between shifts, where the highest averages were obtained in the afternoon shift in both periods. There was a significant difference ($P < 0.05$) between shifts in both periods for TBS. For TBU, there was a significant difference ($P < 0.05$) between shifts, with the highest averages observed in the afternoon shift in both periods. There was a significant difference ($P < 0.05$) between shifts in the two periods for UTI. RH was influenced by all factors,

differing ($P < 0.05$) between morning and afternoon shifts and between rainy and dry periods. Considering the RF, it was observed that there was no significant difference ($P > 0.05$) between breeds in the shifts. The HR value between breeds did not differ ($P > 0.05$), demonstrating that HR is within acceptable physiological limits for the species. In the Anglo-Nubian and Boer breeds, there was a significant effect ($P < 0.05$) between breeds in the morning shift in both periods. However, there was no significant difference ($P > 0.05$) between breeds in the afternoon and dry and rainy periods. The Anglo - Nubiana and Boer races maintained the appropriate body temperature values as recommended for the species, being physiologically adapted to the climatic conditions of the city of Chapadinha - MA.

KEYWORDS: Adaptation, Well-being, Goat farming, Thermoregulation.

1 | INTRODUÇÃO

A caprinocultura tem desempenhado um papel de grande importância, como a geração de renda, empregos diretos e indiretos e o crescimento econômico regional, principalmente na região Nordeste do Brasil, onde agrega o maior efetivo de pequenos ruminantes do país (FONSECA et al. 2016).

Os sistemas de criação de pequenos ruminantes, divide-se em dois segmentos distintos: a criação tradicional, considerado de grande importância social e o sistema tecnificado, que abrange a economia regional, sendo mais moderno e produtivo, mostrando-se como uma vertente do agronegócio para a produção de carne, leite e pele (GOUVEIA, 2003). Entretanto, na região Nordeste, ainda predomina o sistema extensivo de criação de caprinos, devido uma grande parte desses animais apresentarem a rusticidade em condições climáticas adversas, podendo leva-los a condições de temperatura e umidade inadequadas em determinados períodos do ano (ROCHA et al. 2009).

Os ruminantes são classificados como homeotérmicos que são animais capazes de manter a temperatura corporal constante na zona de conforto ou termoneutralidade, com necessidade mínima para o acionamento dos mecanismos de termorregulação (SOUZA et al. 2005). Os animais quando são submetidos às variações climáticas fora da faixa de conforto térmico podem apresentar perda de peso, retardo no crescimento, problemas hormonais e respiratórios, falta de apetite, entre outros problemas. Neste contexto, o efeito do clima sobre o desempenho dos animais de produção tem despertado, nos últimos anos, a atenção de pesquisadores, sobre a importância da interação animal-ambiente como um fator relevante aos processos produtivos (SOUZA JÚNIOR et al. 2004).

A interação entre animal e o ambiente ocorre através dos processos físicos de trocas térmicas como condução, convecção, radiação (não evaporativos) e evaporação, os três primeiros estão associados às trocas térmicas secas, sendo sua perda de calor denominada calor sensível, em função da diferença de temperatura

entre o corpo do animal e ambiente (NAAS, 1998).

De acordo com Martello et al. (2004), pode-se determinar os índices de conforto térmico por meio dos fatores climáticos que auxiliam com indicativos para a caracterizar o bem-estar e conforto. O bem-estar animal, pode ser definido como um conjunto de características intrínsecas dos animais. Pois, depende da capacidade do indivíduo em se adaptar ao ambiente ao qual está inserido e ao estresse que essa adaptação pode causar, podendo assim, sofrer variações nas medidas do bem-estar (BROOM, 1991).

2 | MATERIAL E METÓDOS

O experimento foi realizado na zona rural, no povoado Mangabeira, localizado a 11 km do município de Chapadinha, na Região do Baixo Parnaíba, denominado pela chapada baixa com vegetação de campos e cerrado. A condição climática da região apresenta o clima do com temperatura média anual de 26,0°C, mínima 20 °C e máxima 32°C e precipitação média anual de 1670mm ao ano. Durante o experimento foram utilizados 14 caprinos, todas fêmeas, 7 da raça Anglo - Nubiana e 7 da raça Boer, com idade aproximada de seis meses a um ano e meio de idade. Onde serão realizadas dezesseis coletas nos dois períodos climáticos: 8 no período chuvoso (Abril/Maio) e 8 no período seco (Agosto/Setembro) em 2018. Os parâmetros fisiológicos: frequência respiratória (FR), frequência cardíaca (FC) e temperatura retal (TR), e as variáveis ambientais: temperatura ambiente (TA), umidade relativa do ar (UR) e temperatura de globo negro (TGN), foram aferidos, com os animais à sombra dentro do aprisco, no horário 7h no turno da manhã e às 13h no turno da tarde. Durante o período experimental, os animais estarão soltos a pasto logo após as coletas, tendo como base alimentar a vegetação naturalizada, mineral e água à vontade. A frequência respiratória foi obtida por meio da observação, a uma distância mínima de dois metros, dos movimentos na região do flanco direito, contando-se o número de movimentos durante 20 segundos, sendo o valor obtido multiplicado por três, obtendo-se assim, a FR movimentos por minuto (movimento/min) A frequência cardíaca foi mensurada através de um estetoscópio, coletando por número de movimentos durante 20 segundos, sendo o valor obtido multiplicado por três, obtendo-se a FC (batimento/minuto). A temperatura retal, foi feita com um termômetro clínico digital introduzido diretamente no reto do animal a uma profundidade de 5 cm, até soar o sinal sonoro de estabilização da temperatura, sendo o resultado da leitura expresso em graus (°C). As variáveis ambientais, como a temperatura de globo negro (TGN) foram obtidas a partir de uma esfera oca, de cobre, negro instalado à sombra, a uma altura de 50 cm do solo. Em seu centro há um termômetro de mercúrio. O Índice de temperatura de globo negro e umidade

(ITGU) englobam em um único valor os efeitos da temperatura e da velocidade do ar, da umidade relativa. A temperatura e umidade (ITU) serão coletadas englobando os efeitos das temperaturas de bulbo seco e de bulbo úmido. Posteriormente as variáveis fisiológicas e ambientais foram submetidas à análise de variância e a médias comparadas pelo teste Turkey a 5% de probabilidade utilizando o programa SAS, delineamento 4x4 (Statistical Analysis System, 1999).

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

Variáveis Ambientais (VA)

Na tabela 1 estão descritas as médias das variáveis ambientais como a temperatura do globo negro (TGN), temperatura do bulbo seco (TBS), temperatura de bulbo úmido (TBU), índice de temperatura e umidade (ITU) e umidade relativa do ar (UR), para os turnos manhã e tarde em diferentes épocas do ano observados durante período experimental.

Variáveis Ambientais	Período Chuvoso		Período Seco	
	Turno Manhã	Turno Tarde	Turno Manhã	Turno Tarde
TGN (°C)	30.7b	36.0a	30.3b	38.6a
TBS (°C)	29.6b	34.5a	31.7b	36.3a
TBU (°C)	28.6b	29.7a	26.3b	29.6a
ITU	82.7b	87.7a	80.9b	85.3a
UR (%)	83.6aA	67.8bA	53.1aB	45.0bB

Letras diferentes, minúsculas dentro de período e maiúscula entre períodos, diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Quando não há letras não existe diferença estatisticamente

Tabela 1 - Média das variáveis ambientais, temperatura do globo negro (TGN), bulbo seco (TBS), temperatura de bulbo úmido (TBU), índice de temperatura e umidade (ITU) e umidade relativa do ar (UR), durante os turnos manhã e tarde nos períodos seco e chuvoso

De acordo com a análise de variância houve efeito significativo ($P < 0,05$) para todas as variáveis ambientais TGN, TBS, TBU, ITU e UR%. Todas as variáveis ambientais diferiram estatisticamente ($P < 0,05$) entre turnos.

As médias da TGN no período chuvoso foram de 30,7 e 36°C e no período seco obteve 30,3 e 38,6°C. houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre turnos, onde as maiores médias foram obtidas no turno da tarde nos dois períodos. Os valores no turno da tarde, de acordo com Silva Junior et al. (2014) estão situados na faixa de situação crítica que é acima de 35°C para os caprinos.

Houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre turnos nos dois períodos para a TBS e TBU. Os valores obtidos no período chuvoso para a TBS encontram-se dentro da faixa ideal para caprinos e no período seco, no turno da tarde, acima da temperatura máxima de conforto térmico, de acordo com a classificação de Mota (2001) que considera regular de 27°C a 34°C e acima de 35°C é considerada estado crítico.

Houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre turnos nos dois períodos para a ITU. Considerando os valores encontrados, verifica-se que tanto nos turnos, quanto no período chuvoso e seco, os caprinos da raça Anglo-Nubiana e Boer deste experimento estiveram sujeitos a ITU superior a 80, ou seja, encontram-se dentro das condições de perigo, que está entre 79 a 83, exceto para o valor de 85,3 no período seco no turno da tarde e no período chuvoso 87,7 no mesmo turno, encontra-se acima da situação de emergência. Assim, ITU mais elevada no turno da tarde pode ter desencadeado em alguns momentos situações de estresse térmico, principalmente em horários de picos de radiação. Para animais domésticos, o valor do ITU inferior ou igual a 70 indica a condição normal do ambiente, sendo considerado não estressante, entre 71 a 78 é considerado crítico, entre 79 e 83, indica perigo e acima de 83 situação de emergência (HAHN, 1985).

A UR, foi influenciada por todos os fatores, diferindo ($P < 0,05$) entre turnos manhã e tarde e entre os períodos chuvoso e seco. Foram observados que no período chuvoso a UR apresentou medias maiores no turno da manhã quando comparado com o turno da tarde. No período seco as médias da UR não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. A UR apresentou comportamento inverso, obtendo maiores médias no período chuvoso e menores no período seco nos dois turnos avaliados, resultados também observados por Barros Junior et al. (2017) avaliando os parâmetros fisiológicos de caprinos da raça Anglo-Nubiana em Teresina, Piauí.

Parâmetros Fisiológicos:

Frequência Respiratória (FR)

	Periodo Chuvoso		Periodo Seco		Média Geral
	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde	
Anglo – Nubiana	37.5	40.5	21.4	33.8	34.4
Boer	39.1	41.1	22.0	35.1	33.3

Letras diferentes, maiúsculas dentro de raças e minúsculas entre raças, diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Quando não há letras não existe diferença estatisticamente

Tabela 2 – Comparação das médias da frequência respiratória, em movimentos por minuto, das raças Anglo – Nubiana e Boer, nos períodos chuvoso e seco nos turnos manhã e tarde

Considerando a FR, pôde-se observar que não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre raças nos turnos. Os valores demonstram que a respiração não foi utilizada como mecanismo de perda de calor. De acordo com Gomes et al. (2008) as perdas de calor podem ocorrer através do aumento da frequência respiratória, que auxilia na homeotermia.

Utilizando a classificação de estresse para ruminantes descrita por Silanikove (2000) que classifica valores da FR de 40 – 60 (baixo), 60 – 80 (médio), 80 – 120 (alto), os níveis de estresse para ruminantes e acima de 120 mov/min estresse (severo). Durante os dois períodos estudados entre os turnos, para as duas raças, os valores médios da (FR) estiveram baixo.

Frequência Cardíaca (FC)

Na tabela 3 estão apresentadas as médias da frequência cardíaca dos animais da raça Anglo-Nubiana e Boer nos períodos seco e chuvoso nos turnos manhã e tarde.

	Período Chuvoso		Período Seco		Média Geral
	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde	
Anglo – Nubiana	67.3	67.2	61.5	64.6	65.1
Boer	64.5	68.3	62.8	65.6	65.3

Letras diferentes, maiúsculas dentro de raças e minúsculas entre raças, diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Quando não há letras não existe diferença estatisticamente

Tabela 3 – Comparação das médias da Frequência cardíaca (FC) da raça Anglo Nubiana e Boer no período chuvoso e seco, nos turnos manhã e tarde

Nesse experimento conforme a tabela 3, o valor da FC entre raças não diferiu ($P>0,05$), demonstrando que a FC se apresenta dentro dos limites fisiológicos aceitáveis para a espécie. Em caprinos a frequência cardíaca (FC) pode variar entre 60 a 80 batimentos por minuto de acordo com (SALLES, 2010).

No entanto, a frequência cardíaca (FC) dentre as variáveis fisiológicas é a que menos se utiliza como indicador de desconforto térmico, devido as grandes variações do ambiente externo como a temperatura e umidade relativa (SILVA, 2000).

Temperatura Retal (TR)

Na tabela 4, estão apresentados os resultados obtidos da temperatura retal das raças Anglo-Nubiana e Boer no período chuvoso e seco, nos turnos manhã e tarde.

	Período Chuvoso		Período Seco		
	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde	Média Geral
Anglo - Nubiana	36.8b	38.1	37.1b	38.8	37.7
Boer	37.4a	38.2	37.7a	38.7	38.0

Letras diferentes, maiúsculas dentro de raças e minúsculas entre raças, diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Quando não há letras não existe diferença estatisticamente

Tabela 4 - Comparação das médias da temperatura retal (TR) das raças Anglo - Nubiana e Boer, nos períodos chuvoso e seco nos turnos manhã e tarde

Nas raças Anglo-Nubiana e Boer houve efeito significativo ($P < 0,05$) entre raças no turno da manhã nos dois períodos. Porém, não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre raças nos turnos da tarde e nos períodos seco e chuvoso. A temperatura retal no período seco e chuvoso de ambas as raças se mantiveram dentro dos valores fisiológicos que segundo Bacarri Jr et al. (1996) para caprinos adultos situa-se entre 38,5 a 40°C. Porém, apesar dos índices TGN e ITU indicarem o período seco como potencialmente estressante, os valores encontrados na (tabela 4) evidenciam que os valores médios das duas raças se encontraram dentro da faixa de conforto térmico para a espécie.

4 | CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos das variáveis ambientais e dos parâmetros fisiológicos, os caprinos da raça Anglo - Nubiana e Boer estão adaptadas fisiologicamente às condições climáticas da cidade de Chapadinha - MA.

REFERÊNCIAS

BACCARI JÚNIOR, F.; GONÇALVES, H.C.; MUNIZ, L.M.R. et al., Milk production, serum concentrations of thyroxine and some physiological responses of Saanen-Native goats during thermal stress. *Revista Veterinária Zootécnica.*; n. 8, p. 9-14, 1996.

BARROS JUNIOR, C. P. Avaliação de parâmetros fisiológicos de caprinos da raça anglo-nubiana em Teresina Piauí. **Dissertação (Mestrado Ciência Animal)**, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2017.

FONSECA, W.J.L.; AZÊVEDO, D.M.M.R.; CAMPELO, J.E.G.; FONSECA, W.L.; LUZ, C.S.M.; OLIVEIRA, M.R.A.; BORGES, L.S.; SOUSA JÚNIOR, S.C. Effect of heat stress on milk production of goats from Alpine and Saanen breeds in Brazil. **Archivos de Zootecnia**, v.65, p.615-621, 2016.

GOMES, C. A. V. et al. Efeito do ambiente térmico e níveis de suplementação nos parâmetros fisiológicos de caprinos Moxotó. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v.12, n.2, p.213-219, 2008.

GOUVEIA, A. M. G. Aspectos sanitários da caprino-ovinocultura no Brasil. **Simpósio Internacional de caprinos e ovinos de corte**, 2, 2003.

HAHN, G.L. 1985. Management and housing of animals in hot environment. In: Yousef, M.K. (Ed.) Stress of physiology in livestock. CRC. Boca Raton. 2: 151-165.

MARTELLO, L. S.; SAVASTANO JÚNIOR, H.; PINHEIRO, M.G da. et al. Avaliação do microclima de instalações para gado de leite com diferentes recursos de climatização. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.24, n.2, p. 263-273, 2004.

MOTA, F. S. **Climatologia zootécnica**. Pelotas: UFPel, 104 p, 2001.

NAAS, I. A. Tipologia de instalações em clima quente. In: Simpósio Brasileiro de Ambiência na Produção de Leite, 1., 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FALC, 1998.

ROCHA, R. R. C; COSTA, A. P. R; AZEVEDO, D. M. M. R; NASCIMENTO, H. T. S; CARDOSO, F. S; MURATORI, M. C. S; LOPES, J. B. Adaptabilidade climática de caprinos Saanen e Azul no Meio-Norte do Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 61:1165-1172, 2009.

SALLES M. G. F. Parâmetros fisiológicos e reprodutivos de Machos caprinos Saanen criados em com a raça Dorper às condições do semiárido nordestino. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v.30, n.5, p.995-1001, 2010.

SAS. **SAS Software**. Version 9.1. Cary, North Carolina: SAS Institute Inc., 1999.

SILANIKOVE, N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. **Livestock Production Science**. v.67, n.1, p.1-18, 2000.

SILVA JUNIOR, A.M.; SILVA, T.P.D.; PEREIRA, A.M.; VIEIRA, G.E.N.; SAMPAIO, K.H.; MARQUES, C.A.T.; COSTA, A.P.R. Effect of shift and race on physiological parameters of feedlot woolless sheep in the southern state of Piauí. *Acta Tecnológica*, v.9, p.21-25, 2014.

SILVA, R.G. **Introdução à Bioclimatologia Animal**. São Paulo: Nobel. 286 p, 2000.

SOUSA JÚNIOR, S. C; MORAIS, D. E. F; VASCONCELOS, A. M et al. Respostas termorreguladoras de caprinos, ovinos e bovinos na região semi-árida. In: Congresso Nordestino De Produção Animal. 3, 2004, Campina Grande. **Anais**. Campina Grande: SNPA, 2004. CD-ROM.

SOUZA, E. D.; SOUZA, B. B.; SOUZA, W. H.; CÉSAR, M. F.; SANTOS, J. R. S.; TAVARES, G. P. Determinação dos parâmetros fisiológicos e gradiente térmico de diferentes grupos genéticos de caprinos no semi-árido. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, p.1-10, 2005.

CAPÍTULO 2

INCIDÊNCIA DE ERLIQUIOSE CANINA E COINFEÇÕES POR *Anaplasma spp.* E *Leishmania spp.* NO MUNICÍPIO DE FLORIANO-PI, BRASIL

Data de aceite: 01/12/2020

Pedro Ferreira de Sousa Junior

Universidade Federal do Piauí - UFPI/CPCE
Bom Jesus – Piauí
<http://lattes.cnpq.br/7005266082814988>

Raffael Oliveira Eufrazio

Universidade Federal do Piauí – UFPI/CPCE
Floriano – Piauí
<http://lattes.cnpq.br/4120567139657990>

Cosme Nogueira da Silva

Universidade Federal da Bahia
Campus Salvador/BA
Salvador – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/9731988643441571>

Pietra Roanny Costa Mota Sousa

Universidade Federal do Piauí – UFPI/CCA
Teresina – Piauí
<http://lattes.cnpq.br/7974608965286146>

Lauanne Rodrigues Barros

Universidade Federal do Piauí – UFPI/CPCE
Bom Jesus – Piauí
<http://lattes.cnpq.br/8185212895031274>

Thales Rodrigues Costa

Universidade Federal do Piauí – UFPI/CPCE
Floriano – Piauí
<http://lattes.cnpq.br/6050298834221204>

Luís Eduardo Leite Leão Martins

Universidade Federal do Piauí – UFPI/CPCE
Floriano - Piauí
<http://lattes.cnpq.br/9147291658953234>

Raylson Pereira de Oliveira

Universidade Federal Rural de Pernambuco
UFRPE
Recife – Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/5281795198382707>

José Pires de Carvalho Neto

Universidade Federal do Piauí
Bom Jesus - Piauí
<http://lattes.cnpq.br/5109068536438426>

Glenda Lídice de Oliveira Cortez Marinho

Universidade Federal do Piauí – UFPI/CPCE
Bom Jesus – Piauí
<http://lattes.cnpq.br/8194065848731329>

David Germano Gonçalves Schwarz

Universidade Federal do Piauí – UFPI/CPCE
Bom Jesus – Piauí
<http://lattes.cnpq.br/7355939637494318>

Márcia Paula Oliveira Farias

Universidade Federal do Piauí – UFPI/CPCE
Bom Jesus – Piauí
<http://lattes.cnpq.br/0660974565233073>

RESUMO: A erliquiose canina é uma enfermidade infectocontagiosa considerada uma das principais hemoparasitoses que acometem os cães em diferentes continentes. Estima-se que 20-30% dos cães atendidos nos hospitais e clínicas veterinárias do Brasil sejam acometidos por essa enfermidade sem demonstração de sinais clínicos. Assim, o presente estudo teve como objetivo determinar a incidência da erliquiose canina no município de Floriano, Piauí, Brasil. Foram coletados dados de 266 cães de

ambos os sexos, com diferentes idades e raças que foram submetidas aos exames sorológicos de *Ehrlichia canis* e detecção de coinfeções para *Leishmania* spp. e *Anaplasma* spp. no período de maio de 2018 a setembro de 2020. O teste diagnóstico utilizado foi SNAP 4Dx PLUS, que possibilitou observar que 51,50% (137/266) foram positivos para *Ehrlichia canis*, sendo que as fêmeas possuíram maior número de casos que os machos, representando 52,55% (72/137) e 47,45% (65/137) eram machos. Além disso, 25,54% (35/137) dos animais infectados possuíam infecções concomitantes por *Anaplasma* spp. ou *Leishmania* ssp. A presença de carrapatos, coinfeções e o uso de carrapaticidas foram considerados fatores de risco associados com a erliquiose canina. A trombocitopenia e a anemia foram consideradas fatores de prognóstico para os cães com erliquiose canina. A época do ano que mais apresentou casos foi de novembro a fevereiro e com menores índices de julho a outubro. Dessa forma, fica evidente que a prevalência no município de Floriano é consideravelmente alta, sendo necessário estudos desse aspecto para o direcionamento do médico veterinário para a suspeita de erliquiose canina.

PALAVRAS-CHAVE: Sorologia; *Ehrlichia canis*; carrapatos; fatores de risco.

INCIDENCE OF CANINE EHRLICHIOSIS AND CO-INFECTIONS BY *Anaplasma* spp. AND *Leishmania* spp. IN THE MUNICIPALITY OF FLORIANO-PI, BRAZIL

ABSTRACT: Canine ehrlichiosis is an infectious and contagious disease considered one of the main hemoparasitic diseases that affect dogs on different continents. It is estimated that 20-30% of dogs treated in hospitals and veterinary clinics in Brazil are affected by canine ehrlichiosis without demonstration of clinical signs. Thus, this study aimed to determine the incidence of canine ehrlichiosis in the city of Floriano, Piauí, Brazil. Data were collected from 266 dogs of both sexes, different ages and breeds that were subject to the serology of *Ehrlichia canis* and detection of coinfections in *Leishmania* spp. and *Anaplasma* spp. from May 2018 to September 2020. The diagnostic test was used SNAP 4DX PLUS, which allowed to observe that 51.50% (137/266) were positive for *Ehrlichia canis*, wherein the female possessed larger number of cases than males, representing 52.55% (72/137) and 47.45% (65/137) were males. Furthermore, 25.54% (35/137) of infected animals possessed by *Anaplasma* spp. concomitant infections or *Leishmania* ssp. The presence of ticks, coinfections and the use of acaricide were considered risk factors associated with canine ehrlichiosis. Thrombocytopenia and anemia were considered prognostic factors for dogs with canine ehrlichiosis. The time of year that showed cases was from November to February and lower rates from July to October. Thus, it is clear that the prevalence in Floriano municipality is considerably high, requiring studies of this aspect for the direction of the veterinarian for suspected canine ehrlichiosis.

KEYWORDS: Serology; *Ehrlichia canis*; ticks; risk factors.

INTRODUÇÃO

A erliquiose canina é uma enfermidade infectocontagiosa causada pela bactéria *Ehrlichia canis*, da família Anaplasmataceae, que infectam monócitos e macrófagos, sendo considerada uma das principais hemoparasitoses que acometem os cães em diferentes continentes (PAULINO et al., 2018; NICHOLSON et al., 2010). No Brasil, essa enfermidade vem crescendo e representa uma das principais casuísticas na clínica de pequenos animais, devido ao vetor *Rhipicephalus sanguineus* apresentar extensiva distribuição nacional (DANTAS-TORRES et al., 2010; FONSECA et al., 2017).

Os cães acometidos por essa infecção multissistêmica caracterizam-se por diferentes alterações clínicas não específicas, como: fraqueza, febre, linfadenomagalia, epistaxe, petéquias e trombocitopenia, podendo ser manifestada nas fases aguda, subclínica e crônica (DUBIE et al., 2014). Apesar da ausência de sinais patognomônicos, muitos veterinários utilizam as alterações hematológicas como ferramenta de diagnóstico e prognóstico para cães com erliquiose, sendo mais acurado o uso de técnicas sorológicas e moleculares para a confirmação do diagnóstico (MARTIN et al., 2019; LARA et al., 2020).

Embora a primeira descrição da erliquiose canina no Brasil seja datada de 1973, foram realizados poucos estudos desde então que descrevam a epidemiologia dos diferentes estados brasileiros (COSTA et al., 1973; DANTAS-TORRES et al., 2020; ZUCHI et al., 2020; SILVA et al., 2010, SAITO et al., 2010). Estima-se que 20-30% dos cães atendidos nos hospitais e clínicas veterinárias do Brasil sejam acometidos pela erliquiose canina sem demonstração de sinais clínicos (De MORAES et al., 2004). No entanto, determinar a prevalência ou a incidência das regiões brasileiras permitem que os veterinários elenquem a erliquiose canina como suspeita clínica. Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar a incidência da erliquiose canina no município de Floriano, Piauí, Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo retrospectivo foi desenvolvido no município de Floriano-Piauí, Brasil, por meio da avaliação das fichas de animais atendidos numa clínica veterinária privada, no período de maio de 2018 a setembro de 2020. Foi realizado um levantamento na casuística de 266 cães, sendo coletadas as informações de raça, sexo, idade e peso. Além disso, foram tabulados os sinais clínicos, parâmetros hematológicos (VCM, HCT e plaquetas) e coinfeções por *Leishmania* sp. e *Anaplasma* sp. dos animais positivos para erliquiose.

Os cães foram considerados positivos para *Ehrlichia canis* por meio do

teste rápido SNAP 4Dx PLUS, o teste apresenta uma sensibilidade de 96,2% e especificidade de 100%. (O'CONNOR et al., 2015). Os animais também foram considerados positivos para as coinfeções de *Leishmania* spp. e *Anaplasma* spp. por meio do teste rápido e exame parasitológico.

Foram coletados também informações relacionadas com os fatores de risco para o desenvolvimento da erliquiose canina, sendo eles: grau de infestação de carrapatos, acesso à rua, ambiente urbano ou rural, mês que foram diagnosticados e rotina de profilaxia em ambientes e carrapaticidas. Todos os dados foram tabulados no Microsoft Excel versão 2007 e analisados posteriormente.

Análise estatística

A razão de prevalência e os respectivos valores de intervalo de confiança de 95% (IC 95%) para cada variável foram empregados para comparar as frequências das variáveis categóricas como idade, sexo, raça, sinais clínicos e anormalidades laboratoriais entre cães positivos para erliquiose canina e cães negativos. Esses dados foram analisados no programa Epiinfo v. 6.04 (CDC, Atlanta, EUA).

A análise estatística foi realizada com o GraphPad Prism 5.0 (Prism Software, Irvine, CA, EUA). A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk para todas as variáveis quantitativas, seguido do teste de Dun. Por serem amostras não pareadas, foi utilizado o teste T de student para comparar as variáveis quantitativas. Em todos os casos, as diferenças foram consideradas significativas quando nas probabilidades de igualdade, os valores de p foram $\leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período de 2018 a 2020 foram atendidos 266 cães, sendo 51,50% (137/266) considerados positivos para erliquiose pelo teste rápido SNAP 4Dx. A soroprevalência de *Erlischia canis* variam nos diferentes estados brasileiros, no nordeste do Brasil 64,7%, 37,9% no sudeste, 41% no norte, 42,5% no centro e 4,8% no sul (DANTAS-TORRES et al., 2020; ZUCHI et al., 2020; SILVA et al., 2010, SAITO et al., 2010).

Neste estudo verificou-se que dos animais positivos para erliquiose, 47,45% (65/137) eram machos e 52,55% eram fêmeas (72/137). Apesar de ser observado maior incidência de positividade entre as fêmeas no presente estudo, não houve diferença estatística (Tabela 1). Essa incidência também pode variar em relação ao sexo do animal, como descrito em outros estudos, já que esses animais costumam ter o hábito de serem semidomiciliados e aumenta-se o risco de se tornarem infectados (ZUCHI et al., 2020; COSTA JR et al., 2007).

Variável	Positividade (%) <i>Ehrlichia canis</i>	RP (95% IC)	Valor de p
Sexo			
Fêmea	47,45 (65/137)	1,0374	0,875
Macho	52,55 (72/137)	(0,8017 - 1,3423)	
Raça			
SRD	45,26 (62/137)	1,1015	0,537
Raça definida	54,74 (75/137)	(0,8352 - 1,4528)	
Idade			
Abaixo de 1 ano	19,71 (27/137)	0,6519	0,065
Acima de 1 ano	80,29 (110/137)	(0,4250-0,9998)	
Área			
Urbana	83,94 (115/137)	0,9884	0,893
Rural	16,06 (22/137)	(0,8885 - 1,0907)	
Presença de carrapatos			
Sim	74,45 (102/137)	1,8832	0,00001
Não	25,55 (35/137)	(1,4890 - 2,3818)	
Uso de Carrapaticidas			
Abaixo de 1 ano	13,87 (19/137)	0,5591	0,0349
Acima de 1 ano	86,13 (118/137)	(0,3343 - 0,9350)	
Acesso à rua?			
Sim	33,58 (46/137)	1,1706	0,4662
Não	66,42 (91/137)	(0,8168 - 1,677)	
Coinfecção			
Sim	36,50 (50/137)	1,8832	0,0030
Não	63,50 (87/137)	(1,2429 - 2,8534)	

Tabela 1: Fatores de riscos associados com a soropositividade por *Ehrlichia canis* no município de Floriano-PI

Apesar de ser observado em diferentes estudos que a idade adulta e a raça dos cães estão relacionadas como fatores de risco para erliquiose canina, como observado por Piantedosi et al (2019) e Chochlios et al. (2019), no presente estudo não foi observado nenhum desses fatores como um fator de risco (Tabela 1). Sugere-se que foram observados esses resultados devido a reduzida taxa de animais semidomiciliados no estudo. Conforme observado por Barrantes-González et al. (2017), os cães sem raça definida estavam mais predispostos a infecção devido a exposições ambientais encontrados no acesso à rua.

Por outro lado, foi observado associação positiva para a presença de carrapatos ($p = 0.00001$) em animais com erliquiose, sendo um importante indicador para a suspeita da doença. Apesar de não ser descrito no presente estudo o grau de infestação de carrapatos nesses cães, sabe-se que quanto mais infestados, maior a possibilidade de serem soropositivos (BARRANTES-GONZÁLEZ et al., 2017). Por consequência, um melhor fator protetivo para evitar a infecção seria o uso de carrapaticidas ($p = 0,0349$) como observamos no presente estudo, evitando a infecção por *Erlchia canis* e outras coinfeções (RODRIGUES et al., 2018).

As coinfeções por *Anaplasma* spp. e *Leishmania* spp. são descritas associadas em cães com erliquiose com bastante frequência na literatura, sendo considerado um fator de prognóstico ($p = 0,0030$), em que as coinfeções podem potencializar a patogênese da erliquiose canina e os sinais clínicos se tornarem mais intensos (SILVEIRA et al., 2018; SOARES et al., 2018; De TOMMASI et al., 2013). No presente trabalho foi observado 25,54% (35/137) cães soropositivos para *A. platys* e *Erlchia canis*, 13,86% (19/137) soropositivos para *Leishmania* spp. e *Erlchia canis* e 2,9% (4/137) positivos para os 3 patógenos.

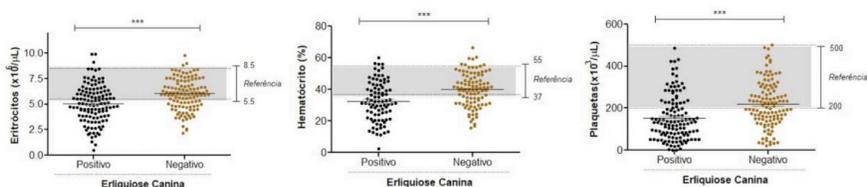


Figura 1: Parâmetros hematológicos associados com a erliquiose canina no município de Floriano- Piauí

Eritrócitos ($p < 0,001$), Hematócrito ($p < 0,001$) e plaquetas ($p < 0,001$) foram associados com a infecção por *Erlchia canis* (Figura 1). Essas variáveis podem ser utilizadas como direcionamento para o diagnóstico do cão com erliquiose, já que testes sorológicos IgG costumam demonstrar a exposição do agente, mas não a confirmação do diagnóstico (HARRUS et al., 2011; CHOCHLIOS et al., 2018). Da

mesma forma, as alterações hematológicas, como anemia e trombocitopenia são indicadores de prognóstico nesses pacientes, já que quadros mais graves estão associados com essas alterações, conforme descrito por outros autores (SHIPOV et al., 2008; HARRUS et al., 1997).

Em relação a época do ano observou-se um aumento da incidência da erliquiose canina no período de novembro a fevereiro, com menores índices de julho a outubro (Figura 2). Esse resultado é condizente com o descrito por outros autores em que relacionam os períodos de picos de carrapatos com a maior temperatura do ambiente, levando ao maior risco de transmissão de hemoparasitas nos cães (Da SILVA et al., 2016).

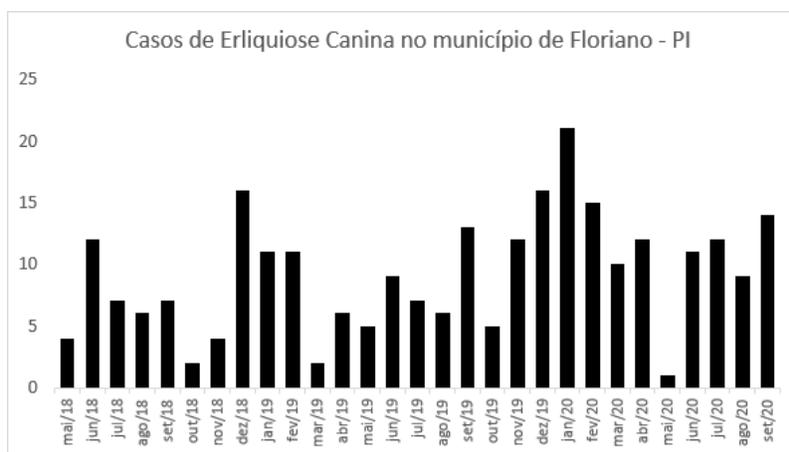


Figura 2: Incidência da erliquiose canina no município de Floriano - Piauí, no período de maio de 2018 a maio de 2020.

CONCLUSÃO

A Ehrlichia canis é uma doença que acomete cães de todas as raças e idades, independentemente do sexo. Desse modo, os parâmetros hematológicos e fatores de risco podem auxiliar o médico veterinário a direcionar a suspeita diagnóstica de cães com erliquiose no município de Floriano - Piauí, permitindo o estabelecimento de prognóstico dos cães pelo acompanhamento das alterações hematológicas e coinfeções nesses pacientes.

REFERÊNCIAS

BARRANTES-GONZÁLEZ, A. V. et al. **Serology, molecular detection and risk factors of Ehrlichia canis infection in dogs in Costa Rica.** *Ticks and tick-borne diseases*, v. 7, n. 6, p. 1245-1251, 2016.

CHOCHLIOS, T. A. et al. **Seroprevalence and risk factors associated with Ehrlichia canis in a hospital canine population.** Veterinary clinical pathology, v. 48, n. 2, p. 305-309, 2019.

COSTA, J. O. et al. **Ehrlichia canis infection in dog in Belo Horizonte, Brazil.** Arq. Esc. Vet., Belo Horizonte, 1973.

COSTA, J. R. et al. **Sero-prevalence and risk indicators for canine ehrlichiosis in three rural areas of Brazil.** The Veterinary Journal, v. 174, n. 3, p. 673-676, 2007.

DA SILVA, S. R. et al. **Estudo descritivo da série histórica de ocorrência de carrapatos em cães assistidos em duas unidades privadas de saúde animal na zona oeste da cidade do Rio de Janeiro.** Brazilian Journal of Veterinary Medicine, v. 38, n. Supl. 3, p. 171-177, 2016.

DANTAS-TORRES, F. **Biology and ecology of the brown dog tick, Rhipicephalus sanguineus.** Parasites & vectors, v. 3, n. 1, p. 1-11, 2010.

DANTAS-TORRES, F. et al. **Prevalence and incidence of vector-borne pathogens in unprotected dogs in two Brazilian regions.** Parasites & vectors, v. 13, p. 1-7, 2020.

DE MORAIS, H. A. et al. **Guidelines for diagnosis and management of dogs infected with Ehrlichia spp.** Clínica veterinária, v. 48, p. 28-30, 2004.

DE TOMMASI, A. S. et al. **Are vector-borne pathogen co-infections complicating the clinical presentation in dogs?** Parasites & vectors, v. 6, n. 1, p. 97, 2013.

DUBIE, T. et al. **An insight review on canine ehrlichiosis with emphasis on its epidemiology and pathogenicity importance.** Global Journal of Veterinary Medicine and Research, v. 2, n. 4, p. 59-67, 2014.

FONSECA, J. P. et al. **Hematological parameters and seroprevalence of Ehrlichia canis and Babesia vogeli in dogs.** Ciência Animal Brasileira, v. 18, 2017.

HARRUS, S. et al. **Canine monocytic ehrlichiosis: a retrospective study of 100 cases, and an epidemiological investigation of prognostic indicators for the disease.** Veterinary Record, v. 141, n. 14, p. 360-363, 1997.

HARRUS, S.; WANER, T. **Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (Ehrlichia canis): an overview.** The Veterinary Journal, v. 187, n. 3, p. 292-296, 2011.

MARTIN, P. L. et al. **Canine monocytic ehrlichiosis in Buenos Aires, Argentina: comparison of serological and molecular assays.** Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 39, n. 8, p. 649-654, 2019.

NICHOLSON, W. L. et al. **The increasing recognition of rickettsial pathogens in dogs and people.** Trends in parasitology, v. 26, n. 4, p. 205-212, 2010.

O'CONNOR, T. P. **SNAP assay technology.** Topics in Companion Animal Medicine, v. 30, n. 4, p. 132-138, 2015.

PAULINO, P. G. et al. **Epidemiology of Ehrlichia canis in healthy dogs from the Southeastern region of the state of Rio de Janeiro, Brazil.** Preventive veterinary medicine, v. 159, p. 135-142, 2018.

PIANTEDOSI, D. et al. **Seroprevalence and risk factors associated with Ehrlichia canis, Anaplasma spp., Borrelia burgdorferi sensu lato, and D. immitis in hunting dogs from southern Italy.** Parasitology research, v. 116, n. 10, p. 2651-2660, 2017.

RODRIGUES, J. B.; DOS SANTOS, G. V. P.; SOARES, F. **Percepção de tutores de cães sobre o controle de carrapatos.** Ciência Animal, v. 28, n. 4, p. 8-10, 2018.

SAITO, T. B. et al. **Canine infection by rickettsiae and ehrlichiae in southern Brazil.** The American journal of tropical medicine and hygiene, v. 79, n. 1, p. 102-108, 2008.

SHIPOV, A. et al. **Prognostic indicators for canine monocytic ehrlichiosis.** Veterinary parasitology, v. 153, n. 1-2, p. 131-138, 2008.

SILVA, J. N. et al. **Soroprevalência de anticorpos anti-Ehrlichia canis em cães de Cuiabá, Mato Grosso.** Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 19, n. 2, p. 108-111, 2010.

SILVEIRA, A. P. S. et al. **PCR sensitivity of peripheral blood of dogs co-infected with Leishmania spp. and Ehrlichia spp. in endemic area of Brazil.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 51, n. 6, p. 843-847, 2018.

SOARES, R. et al. **Molecular survey of Anaplasma platys and Ehrlichia canis in dogs from Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil.** Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 89, n. 1, p. 301-306, 2017.

ZUCHI, T. L. V. L. et al. **Serological survey of Ehrlichia canis, Babesia canis and Leishmania infantum in a Brazilian canine population.** Journal of Advanced Veterinary Research, v. 10, n. 2, p. 61-65, 2020.

INFUSÃO CONTÍNUA DE NOREPINEFRINA NO CONTROLE DE HIPOTENSÃO TRANS E PÓS-OPERATÓRIO DE FELINO: RELATO DE CASO

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 23/09/2020

Isabela Nicoletti Fávero

Médica Veterinária autônoma
Porto Alegre-RS
ID Lattes: 7616607792338416

Camila Feltrin Giglio

Centro Universitário Ritter dos Reis (UniRitter)
Porto Alegre-RS
ID Lattes: 7388545455347842

Rochelle Gorczak

Centro Universitário Ritter dos Reis (UniRitter)
Porto Alegre-RS
ID Lattes: 0378897684865418

RESUMO: Hipotensão é uma das principais complicações anestésicas em felinos. Essa variação cardiovascular causa uma série de mudanças no organismo do animal, na tentativa de compensar as alterações nos parâmetros hemodinâmicos do mesmo. Diante deste quadro, a escolha do vasopressor para um protocolo adequado tem o potencial de restabelecer a perfusão tecidual adequada, evitando assim danos significativos e diminuindo os riscos da anestesia ao paciente felino. O objetivo deste relato de caso é descrever o uso da norepinefrina em infusão contínua durante o trans e pós anestésico em paciente felino submetido à cistorrafia e uretrotomia perineal emergencial. Foi realizado atendimento de emergência em um felino, macho, castrado,

de 8 anos, sem raça definida, pesando 3,8kg, escore corporal de 5 (escala de 1-9), animal já em tratamento para obstrução. Ao exame físico, constatou-se a presença de parte da sonda uretral rompida, bexiga pequena e palpável, desconforto abdominal e dor na palpação, mucosas hipocoradas, desidratação moderada, temperatura retal de 39,5°C. Após estabilização foi necessária intervenção cirúrgica devido a ruptura uretral, neste momento o paciente apresentava FC de 140bpm, pulso síncrono hipocinético e pressão arterial sistólica (PAS) de 60mmHg. O mesmo foi classificado segundo a Sociedade americana de Anestesiologistas como ASA IV. Foi administrado *bolus* de efedrina (0.2 mg/Kg/IV), e passando a PAS para 100mmHg, porém após indução foi observada queda na mesma sendo iniciada a infusão contínua (IC) de norepinefrina (0.5mcg/kg/min), dose esta mantida até 8 horas após o término do procedimento cirúrgico. Ao final deste período foi retirada a IC e realizada a aferição da PAS a cada 4 horas, a qual se manteve entre 100 e 110mmHg. Os outros parâmetros se mantiveram estáveis para espécie. A administração do fármaco e seu monitoramento adequado permitiu a reversão do quadro de hipotensão permitindo a manutenção da PAS. A norepinefrina é considerada um dos vasopressores de primeira escolha para o uso em felinos, pois exerce efeito inotrópico e cronotrópico positivo, melhorando o débito cardíaco, aumentando força de contração, reduzindo a frequência cardíaca, aumentando a oferta de oxigênio e consequentemente aumentando a PAS, assim como observado no caso descrito. O uso da norepinefrina em

IC durante o trans e pós-anestésico se mostrou efetivo ao longo do tratamento do paciente, sendo um adjuvante na reversão do quadro de hipotensão. Devido a escolha do fármaco em dose terapêutica adequada, o monitoramento constante demonstrou que esta não ocasionou efeitos adversos durante seu uso e contribuiu, ainda, com o prognóstico do paciente.

PALAVRAS-CHAVE: Anestesia, gatos, noradrenalina, vasopressor.

CONTINUOUS INFUSION OF NOREPINEPHRINE IN FELINE TRANS AND POST-OPERATIVE HYPOTENSION CONTROL: CASE REPORT

ABSTRACT: Hypotension is one of the main anesthetic complications in felines. This cardiovascular variation causes a series of changes in the animal's organism, in an attempt to compensate for changes in its hemodynamic parameters. In view of this situation, the choice of vasopressor for an adequate protocol has the potential to reestablish adequate tissue perfusion, thus avoiding significant damage and reducing the risks of anesthesia for the feline patient. The purpose of this case report is to describe the use of norepinephrine in continuous infusion during trans and post anesthetic in a feline patient undergoing cystography and emergency perineal urethrostomy. Emergency care was performed on an 8-year-old male, mixed breed, feline, weighing 3.8 kg, body score of 5 (scale 1-9), animal already being treated for obstruction. On physical examination, it was found the presence of part of the ruptured urethral tube, small and palpable bladder, abdominal discomfort and pain on palpation, pale mucous membranes, moderate dehydration, rectal temperature of 39.5° C. After stabilization, surgical intervention was necessary due to urethral rupture. At this moment, the patient had a HR of 140 bpm, a hypokinetic synchronous pulse and systolic blood pressure (SBP) of 60 mmHg. It was classified according to the American Society of Anesthesiologists as ASA IV. A bolus of ephedrine (0.2 mg/Kg/IV) was administered, and the SBP was changed to 100mmHg, but after induction, a fall was observed and the continuous infusion (CI) of norepinephrine (0.5mcg / kg / min) was started, this dose maintained up to 8 hours after the end of the surgical procedure. At the end of this period, the CI was removed and the SBP was measured every 4 hours, which remained between 100 and 110 mmHg. The other parameters remained stable for the species. The administration of the drug and its adequate monitoring allowed the reversal of the hypotension picture, allowing the maintenance of PAS. Norepinephrine is considered one of the first choice vasopressors for use in felines, as it exerts a positive inotropic and chronotropic effect, improving cardiac output, increasing contraction strength, reducing heart rate, increasing oxygen supply and, consequently, increasing SBP, as seen in the case described. The use of norepinephrine in HF during trans and post-anesthesia proved to be effective throughout the patient's treatment, being an adjunct in reversing the hypotension picture. Due to the choice of the drug in an appropriate therapeutic dose, constant monitoring showed that it did not cause adverse effects during its use and also contributed to the patient's prognosis.

KEYWORDS: Anesthesia, cats, norepinephrine, vasopressor.

1 | INTRODUÇÃO

A lesão por trauma mais comum no trato urinário de felinos é a ruptura da vesícula urinária. Quando ocorre essa ruptura a urina começa a se espalhar e acumular pela cavidade abdominal fazendo uoperitonio, podendo causar tumefações ou até mesmo hemorragias (MAXIE et al, 2007). O diagnóstico é feito a partir do atendimento clínico com exame físico e a partir de exames complementares, como hemograma, bioquímica sérica e eletrólitos, urinálise, ultrassonografia e radiografia contrastada (LITTLE, 2012).

Para o reparo dessa ruptura é necessário submeter o paciente a um procedimento anestésico/cirúrgico, o que se não realizado com bastante cautela e planejamento pode comprometer ainda mais a saúde do felino (LITTLE, 2012).

Dentre os sinais que encontramos em felinos que apresentam ruptura de vesícula, de acordo com Walker (2009), estão desidratação, uoperitonio, desconforto e dor abdominal, anorexia, adipisia, iscúria e comprometimento hemodinâmico. Francey e Schweighauser (2009) ressaltam a queda da PAM abaixo de 60 a 80 mmHg, quando há diminuição na perfusão sanguínea periférica. Em casos de hipotensão, a escolha da norepinefrina se mostra eficaz, uma vez que melhora a hemodinâmica dos pacientes, resultando no aumento da PAM sem causar diminuição do débito cardíaco e até mesmo evitando um quadro de choque (TALLO et al, 2008).

Tendo em vista estas premissas, busca-se, a seguir, relatar o uso do vasoconstritor norepinefrina em um procedimento trans e pós-operatório de cistorrafia e uretostomia em um felino.

2 | RELATO DE CASO

Foi realizado atendimento emergencial de um felino macho, castrado, de 8 anos, sem raça definida, pesando 3,8kg, escore corporal de 5 (escala de 1-9). Foi relatado que há cerca de duas semanas o felino havia sido hospitalizado, em outro local, apresentando dificuldades para urinar. O paciente teve alta utilizando sonda uretral. Mantiveram as lavagens da mesma da sonda com solução fisiológica e como terapia farmacológica deste período foi administrado azitromicina (15mg/Kg/VO/SID) e sulcrafato (1mg/Kg/VO/BID). No atendimento foi constatado que a sonda uretral havia rompido, e o animal estava sem se alimentar e urinar.

Ao exame físico geral, constatou-se a presença de parte da sonda uretral ainda posicionada na uretra e fixada (5 cm), vesícula urinária pequena e palpável, desconforto abdominal e dor na palpção, mucosas hipocoradas, desidratação moderada, temperatura retal de 39,5°C, demais parâmetros estavam dentro da

normalidade para a espécie. Neste momento, o paciente foi submetido a anestesia geral injetável com propofol (3 mg/Kg/IV) e diazepam (0.2 mg/Kg/IV) e realizada analgesia com tramadol (3 mg/Kg/IM), para a realização de uma nova sondagem vesical, na qual observou-se urina turva com odor fétido e debris. Procedeu-se então lavagem abundante da vesícula urinária com solução fisiológica 0,9% e, após o procedimento, o felino permaneceu hospitalizado.

No exame ultrassonográfico abdominal pode-se visualizar a vesícula urinária com repleção moderada, em topografia habitual, apresentando forma mantida, parede normoespessa (0,22 cm) e conteúdo anecogênico com debris finos em quantidade acentuada (celularidade/sedimento), estruturas amorfas hiperecogênicas em suspensão sugestivas de coágulos, sem sinais de presença de urolitíase rins simétricos, apresentando dimensões aumentadas (esquerdo medindo 4,08 cm e o direito medindo 4,58 cm), em topografia habitual, contornos regulares, arquitetura e ecogenicidade das corticais mantida; definição córtico-medular mantida, não havendo sinais de cálculos, discreta dilatação de pelve renal bilateral e sem sinal de medular.

A análise hematológica do paciente mostrou anemia normocítica e normocrômica de 20%, sugerindo devido morfologia dos eritrócitos que se trate de uma anemia arregenerativa, hemoglobina 6,00 g/dl e volume de hemácias de 4,54/microlitro, leucócitos totais em 7.500/microlitros, sem presença de bastonetes. Além disso, linfócitos e contagem de plaquetas também dentro dos valores de referência para a espécie, e na bioquímica sérica foi solicitado apenas ALT e creatinina sérica, os quais se mantiveram dentro dos valores de referência também.

O protocolo terapêutico hospitalar do felino consistia em lavagem vesical via sonda com solução fisiológica 0,9% (QID), tramadol (3mg/kg/IM/BID), diazepam (0.2mg/kg/IV/BID), meloxicam (0.1mg/kg/IV/SID), prazosina (0.5mg/gato/VO/BID), cefalotina (20mg/kg/IV/TID), azitromicina (10mg/kg/VO/SID), omeprazol sódico (1mg/kg/IV/SID), ranitidina (0.5mg/kg/SC/BID), o paciente se manteve estável durante a internação com avaliação dos parâmetros a cada 2 horas e manutenção da alimentação via sonda nasoesofágica.

Dois dias após a realização da lavagem vesical notou-se que a quantidade de solução injetada na vesícula não retornava a seringa, como não foi notado a ruptura vesical e uretral pelo exame de imagem o diagnóstico foi clínico. Diante deste quadro, o paciente foi encaminhado para cistorrafia e uretrostomia perineal emergencial, além de esofagostomia. No exame clínico pré-anestésico o paciente apresentou ausculta cardiopulmonar sem alterações, frequência cardíaca (FC) de 140bpm, frequência respiratória (FR) de 38mpm, desidratação de 8%, esta que não pode ser corrigida antes do procedimento devido a ruptura vesical, tempo de preenchimento capilar (TPC) >2, pulso síncrono hipocinético, linfonodos sem

alterações, mucosas hipocoradas, glicemia 95mg/dL, pressão arterial sistólica (PAS) de 60mmHg. O mesmo foi classificado segundo a Sociedade Americana de Anestesiologistas como ASA IV.

Prévio ao procedimento foi administrado *bolus* de efedrina (0.2 mg/Kg/IV), passando cinco minutos a PAS passou para 100mmHg. Em seguida foi realizada a indução anestésica foi realizada com propofol (6mg/kg/IV) associado a diazepam (0.2mg/kg/IV), foi estilado lidocaína para a intubação endotraqueal com traqueotubo tipo Murphy número 3.0mm, conectado ao sistema aberto, duplo T de Baraka, com fornecimento de O₂ a 100% no volume de 100 ml/kg/min (Figura 1A). Nova queda de PAS ocorreu, dando início a infusão contínua (IC) de norepinefrina (0.5mcg/kg/min) dose mantida até 8 horas após o término do procedimento cirúrgico. Para manutenção anestésica foi utilizado o agente inalatório isoflurano ao efeito (Figura 1B). Além disso, administrou-se cefalotina sódica (20mg/kg/IV), cloridrato de maropitant (1mg/kg/SC) e dipirona (20mg/Kg/IV).

Após o paciente foi posicionado em decúbito ventral para a realização da tricotomia, assepsia e bloqueio epidural (S1 e S2), onde foi administrado bupivacaína com vasoconstritor (0.26ml/kg) e morfina (0.1 mg/kg).



Figura 1: A. Paciente felino conectado ao sistema aberto duplo T de Baraka com fornecimento de O₂ a 100% e monitoração de PAS; B. Bomba de infusão com fluxo de noraepinefrina, monitor multiparamétrico, sistema de anestesia veterinária e vaporizador universal.

Fonte: Arquivo pessoal.

Foi instituída a fluidoterapia transoperatória com NaCl 0,9% na taxa de (5ml/kg/hora). Durante o transanestésico, os parâmetros mensurados foram FC, FR, PAS, PAD e PAM (pelo método não invasivo), saturação de oxigênio nas hemoglobinas (SpO₂) este que se manteve em 100% durante todo procedimento e temperatura esofágica (TE), como é possível observar na tabela 1.

	FC	FR	PAS	PAM	PAD	TE(°C)
T10	110	16	60	35	25	36.4
T20	90	16	70	40	30	35.9
T30	120	20	90	70	30	35.8
T40	115	20	90	70	60	35.8
T50	115	20	90	75	60	35.6
T60	125	22	96	77	55	35.6
T70	125	22	90	70	50	35.5
T80	115	22	80	60	40	35.4
T90	115	20	110	80	70	34.5
T100	115	22	105	75	65	34.4
T110	120	22	105	75	65	34.1
T120	110	16	105	70	55	34.0
T130	115	16	90	75	55	33.9
T140	120	20	95	80	60	33.8
T150	120	20	100	85	55	33.9
T160	115	20	100	70	60	34.0
T170	115	22	90	70	60	34.3
T180	120	22	90	60	55	34.5
T190	115	20	95	75	60	34.9

Tabela 1 – Parâmetros mensurados durante o procedimento cirúrgico com IC de noradrenalina.

O procedimento cirúrgico teve duração total de 3 horas e 15 minutos e ao término o paciente foi extubado em 10 minutos e permaneceu em IC de noradrenalina (0.5mcg/kg/min) por mais 8 horas. No pós-operatório imediato, foi administrada metadona (0.2mg/kg/IV).

Quatro horas após o término do procedimento cirúrgico, iniciou-se protocolo de desmame da IC de norepinefrina, quando a PAS estabilizou em 110mmHg. O desmame do vasopressor foi realizado com a diminuição da taxa do fármaco em 25% com o passar das horas e com a avaliação da PAS a cada 2 horas com o auxílio do doppler vascular veterinário. Ao final de 8 horas foi retirada a infusão do vasopressor e continuada a avaliação da PAS a cada 4 horas, a qual se manteve estável entre 100 e 110mmHg.

Ademais, administrou-se ao paciente complexo vitamínico b, nicotinamida, aminoácidos, frutose e macro e microminerais (0,2ml/kg/IV/SID), meloxicam (0,1mg/kg/IV/SID), dipirona sódica (20mg/kg/IV/BID), metadona (0,1mg/kg/IV/TID), cloridrato de maropitant (1mg/kg/SC/SID) e acetilcisteína (10mg/kg/IV/BID). Além disso, foram empregados cuidados pós cirúrgicos, antibioticoterapia com azitromicina (10mg/kg/

VS/SID) e protetor gástrico omeprazol (1mg/kg/VS/SID). Após 4 dias, o paciente recebeu alta, permanecendo estável.

3 | DISCUSSÃO

A ruptura de trato urinário é uma emergência recorrente na rotina clínica de felinos, e as suas causas são diversas, como traumatismo abdominal contuso ou penetrante, traumatismo pélvico, neoplasia, pressão excessiva aplicada a bexiga distendida e comprometida durante a palpação ou compressão manual, cistocentese, cálculos uretrais, obstrução e sondagem uretral inadequada (PEREIRA et al., 2013). Com a ruptura vesical, ocorre o uoperitônio este que traz algumas complicações, uremia, desidratação, hipovolemia, hipercalemia e morte (MACPHAIL, 2014).

No caso do paciente descrito, notou-se possível rompimento da vesícula urinaria, alguns parâmetros mostraram o grave comprometimento hemodinâmico, como desidratação moderada, TPC prolongado, mucosas hipocoradas e hipotensão (LITTLE, 2012).

Diante deste quadro, submeter um felino classificado em ASA IV a um procedimento anestésico de emergência, como no caso relatado requer bastante cautela, sendo de suma importância a avaliação clínica, física, hematológica e dos demais exames, tanto no planejamento anestésico, como no transoperatório e no pós imediato, pois, deste modo, é possível a avaliação do risco ao qual o paciente será submetido. Pacientes felinos com uoperitonio e anemia normocítica e normocrômica de 20% como o animal do relato, apresentando PAS de 60mmHg ou inferior, mucosas hipocoradas, associados a ruptura de vesícula urinaria, devem ser classificados em ASA IV (FUTEMA, 2010).

A MPA nesse caso foi dispensada devido a hipotensão severa do paciente, pois sabe-se que nesses casos indica-se a realização de associações farmacológicas como os fenotiazínicos associados aos opioides (HORN, 2014). Contudo, os fenotiazínicos como a acepromazina devem ser utilizados cuidadosamente devidos os efeitos hipotensores e hipotérmicos, conforme alertam Fantoni e Cortopassi (2010). Nesse caso, como o paciente já se encontrava num quadro de hipotensão, optou-se pela não utilização de nenhum desses fármacos como MPA.

Quando referenciamos à utilização dos opioides, a finalidade desta classe farmacológica é a de promover analgesia efetiva durante os períodos trans e pós-cirúrgico. Contudo, elas têm o potencial de desencadear efeitos sobre o sistema cardiovascular e respiratório, como bradicardia e hipoventilação (HAMMOND; MACDONALD, 2010). Neste caso, o opioide morfina somente foi utilizado como adjuvante pela via epidural. Já o uso de opioides na MPA tem como finalidade promover a analgesia durante o período transanestésico e pós-cirúrgico, mas

nesse caso foi excluído da MPA pelos seus efeitos hipotensores (FANTONI; MASTROCINQUE, 2010).

Com relação as anestésias dissociativas, o uso da cetamina é contra indicada em felinos com disfunções no sistema urinário por apresentarem excreção renal nesta espécie (VALADÃO, 2010). Aumentando a resistência vascular e fluxo sanguíneo renal (YUZER et al., 2009) e prolongando o tempo da recuperação anestésica e aumentando os efeitos colaterais no organismo, principalmente quando utilizado em pacientes com hipovolemia ou prostração (MCKUNE; ROBERTSON, 2016). Diante disso, julgou-se adequado não fazer o uso do fármaco. Os principais motivos da hipotensão pré anestésica no paciente relatado se devem ao uroperitonio, desidratação e anemia normocítica e normocrômica, em um felino com o hematócrito <20% a transfusão sanguínea seria uma boa alternativa para a reversão do quadro pois promove melhor oxigenação dos tecidos, além de repor fatores de coagulação e fornece suporte coloidal (CHACAR et al, 2014), porem esta alternativa precisou ser descartada por motivos financeiro dos tutores.

Mateo et al (2015) destacam a hipotensão como a intercorrência mais comum durante o período anestésico. Quando a pressão arterial média é inferior a 60mmHg, o resultado é hipoperfusão renal e cerebral, para as quais se faz necessário o uso de drogas vasoativas. Na tentativa de aumentar a PAS previamente ao procedimento, se administrou bolus de efedrina. Potente na estimulação de presença receptores β , este produz um efeito inotrópico positivo, aumentando a força de contração pela estimulação de receptores β_1 nas células do miocárdio e causando efeito cronotrópico positivo, aumentando a frequência de contração (VITAL; ARCO, 2014), o que foi observado no paciente, uma vez que após cinco minutos de sua administração o paciente atingiu a PAS de 110mmHg.

Com a queda da PAS para 60mmHg após a indução anestésica, foi instituído ao protocolo uma IC de norepinefrina na dose de (0.5mcg/kg/min) (TALLO et al, 2008). Neurotransmissor endógeno de sistema simpático, é muito parecida com a epinefrina na estimulação dos receptores β_1 , porém, ao contrário da epinefrina, a norepinefrina possui pouco efeito nos receptores β_2 agonista, mas é muito potente nos receptores α agonista (STOELTING; HILLIER, 2007).

A norepinefrina atua na membrana celular pós-sináptica, estimulando os adreno-receptores α_1 , causando assim uma contração do músculo liso vascular e vasoconstrição. Também faz a ligação com os adreno-receptores α_2 pré-sinápticos, criando um feedback negativo que diminui a sua liberação nas terminações nervosas, conforme observam Tallo et al (2008). Como consequência, os receptores α_2 ajudam na respiração vasoconstritora estimulada pelo receptor pós-sináptico e também se asseguram que ocorra apenas uma resposta vasoconstritora a curto prazo após essa estimulação (MURRELL, 2017).

A norepinefrina é ainda considerada um dos vasopressores de primeira escolha para o uso em felinos (CHACAR et al, 2014), pois exerce um efeito inotrópico e cronotrópico positivo, melhorando o débito cardíaco, aumentando força de contração, reduzindo a frequência cardíaca, aumentando a oferta de oxigênio e consequentemente aumentando a PAS (KLEINZ; SPENCE, 2010). Contudo, recomenda-se cuidado em sua administração para não ultrapassar o período de 24 horas de uso a dose de (0.5-1.2mcg/kg/min), usando sempre a menor, minimizando assim a isquemia tecidual (WILSON; SHIH, 2017). No caso relatado, o paciente utilizou a IC por total de 12 horas no intervalo de dose (0.5mcg/kg/min), reduzindo-se, assim, o risco de convulsões (CHACAR et al, 2014), o que não foi notado no paciente em questão. De acordo com Murrell (2017), pacientes em IC deste fármaco devem ser monitorados durante todo o processo anestésico e na recuperação do mesmo, avaliando sempre o plano anestésico, FC, FR, coloração das mucosas, temperatura, TPC, PAS, PAD e PAM. O paciente foi monitorado no trans e no pós-cirúrgico, com auxílio de um monitor multiparamétrico, doppler vascular veterinário e com colchão térmico para melhor aferição dos parâmetros acima descritos. O felino permaneceu na IC de norepinefrina por um total de 12 horas. Devido a escolha do fármaco em dose terapêutica adequada, o monitoramento constante demonstrou que este não causou nenhum efeito adverso durante o transoperatório e pós-operatório, o que inclusive melhorou o prognóstico e a expectativa de vida do paciente.

Para indução, foram associados propofol e diazepam, combinação esta que visa reduzir a dose de propofol e minimizar ainda mais as alterações hemodinâmicas associadas ao uso deste fármaco, trazendo uma rápida recuperação de consciência com mínimos efeitos residuais (RANKIN, 2017). No caso relatado, foram administradas 6 mg/kg de propofol, dose relativamente alta devido a não aplicação de MPA no paciente.

O fármaco de escolha para a manutenção foi o anestésico inalatório isoflurano, comumente utilizado na manutenção transanestésica em gatos devido a algumas vantagens, como a sua baixa solubilidade nos gases sanguíneos (1,46) e mínima biotransformação (0,2%), que resultam em rápida redução do plano e retorno anestésico, e, uma vez administrado junto com o oxigênio, possibilita o melhor controle da ventilação quando necessário, sendo inalado e exalado quase que sem sofrer alterações (PYPENDOP; ILKIW, 2016).

Entretanto, o isoflurano possui alguns efeitos adversos, como a depressão da contratilidade do miocárdio no sistema cardiovascular, o aumento moderado da frequência cardíaca e decréscimo da PAM; no sistema respiratório há a depressão respiratória, ainda que a capacidade de ventilação tenda a aumentar, e a broncodilatação seja um efeito colateral positivo (STOELTING; HILLIER, 2007). Por este motivo, e prevendo o tempo cirúrgico, a anestesista optou pelo bloqueio

peridural com anestésico local de longa ação (bupivacaína com vasoconstritor) associado a um opioide (morfina) visando um tempo de analgesia de até 12 horas e para minimizar o uso deste halogenado e diminuir seus efeitos hipotensores no paciente (OTERO, 2013).

O intuito da realização do bloqueio peridural é analgesia verdadeira, sendo que em felinos a indicação é realizar no espaço sacrocaudal ou sacrococcígeo (FUTEMA, 2007), como observado no caso do paciente felino em questão, no qual foi realizado entre as duas primeiras vértebras sacrais. Segundo o Anesthesia and Monitoring Guidelines for Dogs and Cats (GRUBB et al, 2020), o anestésico local não promove o bloqueio da função motora do membro pélvico em doses iguais ou menores que 0.2ml/kg, sendo que para este caso estipulou-se a dose de 0.26ml/kg. Nesse caso a peridural foi empregada como uma adjuvante anestésica, utilizando bupivacaína com vasoconstritor e morfina para a realização do bloqueio (OTERO, 2013). A morfina, quando administrada no espaço epidural, reduz a necessidade do anestésico inalatório e realiza um bloqueio seletivo nos canais de dor, mas, sem afetar a função motora do paciente, o seu potente e duradouro efeito analgésico pode ser notado durante o procedimento cirúrgico e no pós (LITTLE, 2012), assim como no caso aqui relatado, onde não houveram alterações transoperatória e pós operatória compatíveis com dor cirúrgica.

A realização do bloqueio peridural associando a um anestésico local de longa ação junto a um opioide garantiu a diminuição da concentração de volume de isoflurano no paciente, o que facilitou a estabilização da PA por causa dos seus efeitos hipotensores descritos na literatura, bem como garantiu analgesia (PORTELA, 2013), o que é demonstrado pelos parâmetros do paciente.

4 | CONCLUSÃO

O uso da norepinefrina em IC durante o trans e pós-anestésico se mostrou muito efetiva ao longo do tratamento do paciente, sendo uma grande aliada e de grande importância na reversão do quadro de hipotensão. Devido a escolha do fármaco em dose terapêutica adequada, o monitoramento constante demonstrou que esta não ocasionou nenhum efeito adverso durante seu uso e contribuiu, ainda, com o prognóstico e a expectativa de vida do felino.

REFERÊNCIAS

CHACAR, F.C.; et al. Sepsis em Felinos. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 64-76, 2014.

FANTONI, D.; CORTOPASSI, S.R.G. Medicação pré-anestésica. In: FANTONI, D.T.; CORTOPASSI, S.G. **Anestesia em cães e gatos**. 2. ed. São Paulo: Roca, p. 217-227, 2010.

FANTONI, D.; MASTROCINQUE, S. Fisiopatologia e controle da dor. In: FANTONI, D.T.; CORTOPASSI, S.G. **Anestesia em cães e gatos**. 2. ed. São Paulo: Roca, p.521-544, 2010.

FRANCEY, T.; SCHWEIGHAUSER, A. Epidemiologia clínica das doenças renais no gato. **Veterinary Focus**, França, v. 18, n. 2, p. 2 -7, jun. 2009.

FUTEMA, F. Avaliação pré-anestésica. In: FANTONI, D.T.; CORTOPASSI, S.R.G. **Anestesia em cães e gatos**. 2. ed. São Paulo: Roca, p. 73-82, 2010.

GRUBB, T. et al. 2020 AAHA Anesthesia and Monitoring Guidelines for Dogs and Cats. In: **Journal of the American Animal Hospital Association**. Lakewood. vol. 56, n. 2, p. 59-82, 2020.

HAMMOND, R.; MACDONALD, C.; NICHOLSON, A. Analgésicos opióides. In: MADDISON, J.E.; PAGE, S.W.; CHURCH, D.B. **Farmacologia clínica de pequenos animais**. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 305-324, 2010.

HORN, C. Anestesia e Terapia Multimodal no Perioperatório. In: FOSSUM, T.W. **Cirurgia de Pequenos Animais**. 4 ed. São Paulo: Elsevier, p. 390-448, 2014.

KLEINZ, M.J.; SPENCE, I. A farmacologia do sistema nervoso autônomo. In: MADDISON, J.E.; PAGE, S.W.; CHURCH, D.B. **Farmacologia clínica de pequenos animais**. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 59-82, 2010.

LITTLE, S.E. Distúrbios do trato urinário. In: LITTLE, S.E. **O gato: medicina interna**. Rio de Janeiro: Roca, p. 900-975, 2016.

MACPHAIL, C.M. Cirurgia da Bexiga e da Uretra. In: FOSSUM, T.W. **Cirurgia de Pequenos Animais**. 4 ed. São Paulo: Elsevier, p. 2085-2206, 2014.

MATEO, A.G.C.; et al. Retrospective study of the perioperative management and complications of ureteral obstruction in 37 cats. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**. Amsterdã, v. 42, n. 6, p. 570-579, 2015.

MCKUNE, C.; ROBERTSON, S. Analgesia. In: LITTLE, S.E. **O gato: medicina interna**. Rio de Janeiro: Roca, p. 86-105, 2016.

MAXIE, M.G.; NEWMAN, S.J. The urinary system. In: JUBB, K. & PALMER, N.C. **Pathology of Domestic Animals**, 5 ed. Maxie, M.G., 5 ed., v.2. Elsevier Limited, St. Louis, MO, p. 475-476, 2007.

MURREL, J.C. Agentes adrenérgicos. In: TRANQUILLI, W.J.; THURMON, J.C.; GRIMM, K.A. **Lumb e Jones: anestesiologia e analgesia em veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Roca, p. 175-187, 2017.

OTERO, P.E. Anestesia locorregional do neuroeixo. In: KLAUMANN, P.R.; OTERO, P.E. **Anestesia locorregional em pequenos animais**. São Paulo: Roca, p. 135-176, 2013.

PEREIRA, S.C et al.; **Ruptura de bexiga em um cão: relato de caso**. Revista de Ciências Agroveterinárias. Lages, v.13, n. supl., p.31-32, 2013.

PORTELA, D.A. Anestesia locorreional do membro pélvico. In: KLAUMANN, P.R.; OTERO, P.E. **Anestesia locorreional em pequenos animais**. São Paulo: Roca, p. 213-262, 2013.

PYPENDOP, B.H.; ILKIW, J.E. Anestesia e cuidados pericirúrgicos. In: LITTLE, S.E. **O gato: medicina interna**. Rio de Janeiro: Roca, p.106-141, 2016.

RANKIN, D.C. Sedativos e tranquilizantes. In: TRANQUILLI, W.J.; THURMON, J.C.; GRIMM, K.A. **Lumb e Jones: anestesiologia e analgesia em veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Roca, p. 188-198, 2017.

STOELTING, R.K.; HILLIER, S.C. Anestésicos inalatórios. In: STOELTING, R.K.; HILLIER, S.C. **Manual de Farmacologia e fisiologia na prática anestésica**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 42-73, 2007.

STOELTING, R.K.; HILLIER, S.C. Simpatomiméticos. In: STOELTING, R.K.; HILLIER, S.C. **Manual de Farmacologia e fisiologia na prática anestésica**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 259-277, 2007.

TALLO, F.S. et al. Drogas vasopressoras nos estados choque: qual é a melhor opção? **Revista Brasileira de Clínica Médica**. São Paulo. V. 6, n. 6, p. 237-242, 2008.

VALADÃO, C.A.A. Anestésicos dissociativos. In: FANTONI, D.T.; CORTOPASSI, S.R.G. **Anestesia em cães e gatos**. 2. ed. São Paulo: Roca, p. 237-245, 2010.

VITAL, M.A.B.F.; ARCO, A. Agonistas e antagonistas adrenérgicos. In: SPINOSA, H.S.; GÖRNIAC, S.L., BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 77-90, 2014.

WALKER, D. Feline urethral obstruction: a clinical refresh. **Irish Veterinary Journal**, v. 62, n.3, p. 198-202, mar. 2009.

WILSON, D.V.; SHIH, A.C. Emergências anestésicas e reanimação. In: TRANQUILLI, W.J.; THURMON, J.C.; GRIMM, K.A. **Lumb e Jones: anestesiologia e analgesia em veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Roca, p.109-124, 2017.

YUZER, H.; et al. Effects of intravenous anesthetics on renal ischemia/reperfusion injury. **Renal Failure**. v. 31, n. 4, p. 290-296, ago. 2009.

INGESTÃO DE MÚLTIPLAS PEDRAS BRITA POR UM CÃO – RELATO DE CASO

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 07/09/2020

Raylanne Letícia Pessoa Sousa

Universidade Federal Rural do Semi-árido
Mossoró - RN
<https://orcid.org/0000-0001-8569-1514>

Ryshely Sonaly de Moura Borges

Universidade Federal Rural do Semi-árido
Mossoró - RN
<https://orcid.org/0000-0002-2242-1207>

Moisés Dantas Tertulino

Universidade Federal Rural do Semi-árido
Mossoró - RN
<http://lattes.cnpq.br/7491986836591875>

Araceli Alves Dutra

Universidade Federal Rural do Semi-árido
Mossoró - RN
<http://lattes.cnpq.br/3630237002559250>

Darlla Whaianny Fernandes de Lima

Universidade Federal Rural do Semi-árido
Mossoró - RN
<https://orcid.org/0000-0002-7448-0495>

Camila Carneiro Araújo

Universidade Federal Rural do Semi-árido
Mossoró - RN
<https://orcid.org/0000-0003-0025-8581>

Eraldo Barbosa Calado

Departamento de Ciências da Saúde
Mossoró - RN
<https://orcid.org/0000-0001-5651-5781>

RESUMO: A ingestão de corpo estranho por cães ocorre principalmente nas fases iniciais da vida, isso porque a curiosidade dos cães filhotes fazem com que eles ingiram acidentalmente objetos. O que se observa como sinais clínicos em casos de ingestão de corpos estranhos gástricos incluem vômito, anorexia ou depressão, e em alguns casos todos esses sintomas, sendo que em algumas situações pode não ocorrer manifestação de sintomas. O diagnóstico definitivo ocorre quando é feita a visualização do corpo estranho através de exames de imagem, tais como ultrassonografia, radiografia ou endoscopia. Feita a identificação do material, tais como forma, tipo e tamanho do material é decidido a conduta de tratamento, sendo a intervenção cirúrgica para retirada do objeto indispensável em casos que não é possível a saída natural do mesmo. O presente trabalho objetiva relatar o caso de um animal diagnosticado com presença de corpo estranho através de radiografia, que passou por intervenção cirúrgica pela técnica de gastrotomia. Após o procedimento o animal continuou o tratamento designado para o pós cirúrgico, assim como para outras patologias concomitantes que o mesmo possuía. Por se tratar de um animal adulto e pelos sinais clínicos a suspeita de corpo estranho foi inicialmente descartada, e a partir disso podemos concluir que a apresentação dessa patologia em questão possui diversas formas e, por isso, é indispensável uma boa anamnese aliada a avaliação clínica e exames hematológicos e de imagem.

PALAVRAS-CHAVE: Corpo estranho. Poodle. Brita. Diarreia. Vômitos.

INGESTION OF MULTIPLE STONES GRAVEL BY A DOG – CASE REPORT

ABSTRACT: The ingestion of foreign body by dogs occurs mainly in the early stages of life, this is because the curiosity of the puppies makes them accidentally ingest objects. What is observed as clinical signs in cases of ingestion of gastric foreign bodies include vomiting, anorexia or depression, and in some cases all these symptoms, being that in some situations it can not occur manifestation of symptoms. The definitive diagnosis occurs when the foreign body is visualized through imaging exams, such as ultrasonography, radiography or endoscopy. Once the material is identified, such as the shape, type and size of the material, the treatment conduct is decided, and the surgical intervention to remove the object is indispensable in cases where it is not possible to leave it naturally. The present work aims at reporting the case of an animal diagnosed with the presence of a foreign body by means of radiography, which underwent surgical intervention by the technique of gastrotomy. After the procedure the animal continued the treatment designated for the post-surgical, as well as for other concomitant pathologies that it had. Because it is an adult animal and due to clinical signs the suspicion of foreign body was initially discarded, and from this we can conclude that the presentation of this pathology has several forms and, therefore, a good anamnesis allied to clinical evaluation and hematological and imaging exams is indispensable.

KEYWORDS: Foreign body. Poodle. Brita. Diarrhea. Vomiting. Dog.

INTRODUÇÃO

Corpo estranho se caracteriza como qualquer material ingerido que o organismo animal não consegue digerir e, caso consiga, tem uma digestão muito lenta (FOSSUM 2014). Corpos estranhos gástricos frequentemente são observados nos cães e incluem agulhas, moedas, pedras, gravetos, caroços de pêssigo, plástico, papel alumínio, bolas e brinquedos pequenos. Em gatos, por outro lado, é mais comum encontrar barbantes e outros corpos estranhos lineares. (SHERDING et al., 1998). Radiografias simples permitem evidenciar a presença de corpos estranhos radiopacos em porções variadas do trato digestório, ao passo que imagens obtidas com administração oral de contrastes positivos se prestam para o diagnóstico de corpos estranhos radiotransparentes (O'BRIEN, 1978). Se não forem evidenciados sinais clínicos sistêmicos de obstrução intestinal, o procedimento cirúrgico pode não ser a primeira escolha. A quantidade, o tipo e o peso dos corpos estranhos podem influenciar na eliminação natural das britas ingeridas.

A imagística diagnóstica ultrassonográfica e radiográfica com exposições em planos diferentes, associadas ao estudo sanguíneo sérico foram eficientes à conclusão diagnóstica, auxiliando o profissional no estabelecimento da conduta mais adequada e proporcionando atenuação de danos maiores ao paciente.

OBJETIVO

O presente objetiva descrever condutas clínicas, diagnósticas e de tratamento cirúrgico, em paciente canino, adulto, nefropata, acometido por ingestão incidental de múltiplos corpos estranhos gástricos.

METODOLOGIA

O paciente foi levado para atendimento clínico no hospital veterinário Jerônimo Dix-Huit Rosado Maia (HOVET), da Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Um canino doméstico, 6 anos de idade, macho, raça poodle, com 9 kg de peso corpóreo. Durante a anamnese seu tutor relatou que o paciente apresentava falta de apetite, ingeria pouca água, tinha diarreia pastosa e sanguinolenta além de ter apresentado episódios de vômitos durante uma semana, que segundo o relatado foram de início súbito. Ao exame clínico, o paciente apresentou mucosas hipocoradas, sem alterações à ausculta pulmonar, sons cardíacos normofônicos, temperatura 38,7° C e linfonodos sem alterações à palpação. Durante palpação abdominal, o paciente apresentava sinais de dor.

A suspeita inicial foi de gastroenterite, ficando estabelecido inicialmente o tratamento de suporte, mas o paciente não apresentou melhoras. No retorno à consulta, foi solicitado exame de imagem (exame ultrassonográfico e radiográfico) para avaliação detalhada do trato digestório. Na avaliação imagística foram visibilizadas grandes quantidades de material em topografia gástrica, sendo bastantes radiopacos (Figura 1). A terapia estabelecida foi a cirúrgica imediata para a remoção dos corpos estranhos gástricos. O protocolo anestésico utilizado foi a administração de medicação pré-anestésica com acepromazina (0,45 mL) associada a medetomidina (0,33 mL), induzido por propofol (0,36 mL) e mantido com isoflurano diluído em oxigênio a 100%, em circuito semi-fechado.

Para a realização da gastrotomia, o animal foi posicionado em decúbito dorsal, realizada diérese de pele e na linha média ventral, que se estendeu desde a cartilagem xifóide até a região pré-púbica. O estômago foi fixado por suturas de sustentação com fio mononáilon 2-0. A diérese gástrica foi feita na área de menor vascularização, entre as curvaturas maior e menor gástrica. Foi realizada a remoção de cerca de 40 pedras de brita, uma das matérias primas do concreto, do estômago (Figura 2). Após a retirada das pedras, e verificado não ter ficado mais nenhum dos corpos estranhos, a síntese gástrica foi realizada em dois planos de sutura, em padrões seromusculares invaginantes. No primeiro plano foi realizado padrão Cushing e para no segundo plano, em padrão Lembert, com emprego de fio poligalactina 910 3-0. Em seguida, foi realizada inspeção da cavidade abdominal, lavagem da mesma com solução salina (Na⁺Cl⁻ 0,9%) estéril, aquecida; em seguida,

foi iniciada a síntese de planos anatômicos musculares abdominais com pontos simples separados, utilizando fio mononáilon 2-0 reunindo a linha alba; um padrão intradérmico com fio poligalactina 910 3-0 com aproximação das bordas cirúrgicas e redução do espaço morto anatômico. A síntese de dérmica, foi realizada com mononáilon 3-0, em pontos simples separados.

O paciente foi internado para fluidoterapia e realização das medicações prescritas (metronidazol 15 mg.kg⁻¹; ceftriaxona 30mg/kg; dipirona sódica 25 mg.kg⁻¹; meloxicam 0,1 mg.kg⁻¹ e tramadol 4 mg.kg⁻¹). Foi recomendado ainda que o mesmo permanecesse em jejum completo durante as primeiras 12 horas, após o procedimento cirúrgico, iniciando alimentação líquida após este período.

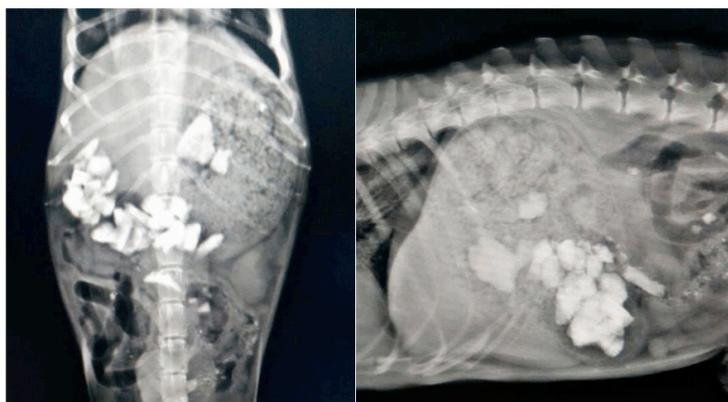


Figura 1 – Ilustrações radiográficas, em projeção dorso-ventral (esquerda) e látero-lateral (direita) evidenciando presença de múltiplos corpos estranhos radiopacos (pedras de britas), em topografias *gástricas* de cão.

Fonte: Arquivo Pessoal (2020).



Figura 2 – Ilustração de corpos estranhos (britas) retirados do estômago de cão.

Fonte: Arquivo Pessoal (2020).

Para o pós-operatório, foi prescrito uso de dipirona sódica, na dose de 25mg.kg⁻¹, a cada 8 horas, durante 4 dias e meloxicam, na dose de 0,1 mg.kg⁻¹, a cada 24 horas, durante 3 dias e amoxicilina com clavulanato de potássio na dose de 20mg/kg a cada 12 horas, durante 10 dias.

As suturas de pele foram retiradas 12 dias após o procedimento operatório tendo ocorrido cicatrização por primeira intenção, sem intercorrências e com boa recuperação do paciente.

RESULTADOS

Pela anamnese realizada e os quadros de diarreia, a suspeita inicial foi de gastroenterite. Entretanto, o paciente não respondeu ao tratamento conservador preconizado. À avaliação dos exames laboratoriais o paciente apresentou acentuada leucocitose e alterações plaquetárias, com anisocitose, hipocromia e policromasia leves, poiquilocitose com acantócitos, equinócitos e corpúsculos de *Howell Jolly*. Foram observadas plaquetas gigantes e *Anaplasma platys*. A creatinina estava em nível elevado, 4,7 mg.dL⁻¹. Quando analisado o exame radiográfico, constatou presença de corpos estranhos, confirmados pelas projeções realizadas. Múltiplas estruturas com radiopacidade maior que de ossos, formas e estruturas semelhantes ou menores, concentradas em região de corpo gástrico e antro piloro.

Os achados ultrassonográficos gástrico evidenciavam relevante distensão no órgão. Na região do corpo e antro piloro gástrico observou-se formação de importantes sombras acústicas fortes, com formas variadas e pontiagudas, com espessamento de paredes. A nível intestinal, grande presença de gases. Sem, contudo, haver considerável presença de líquido livre cavitário. Os achados ultrassonográficos revelaram também nefropatia crônica bilatrel e alterações hepáticas sugestivas de estase biliar. O paciente foi submetido a gastrotomia para remoção dos corpos estranhos evidenciados, iniciado tratamento para paciente nefrótico e estabelecido tratamento para *Anaplasma platys*.

DISCUSSÃO

A maior parte dos cães com presença de corpos estranhos gástricos apresentam vômito, anorexia, depressão ou todos os anteriores, o vômito pode ser intermitente e alguns animais podem ingerir e permanecer ativos (FOSSUM, 2014), o que não foi observado no paciente do presente relato. Embora o exame ultrassonográfico do trato gastrointestinal seja prejudicado pela presença de artefatos decorrentes do conteúdo gasoso, estudos recentes demonstraram que a ultrassonografia apresenta melhor acurácia para o diagnóstico precoce de corpos estranhos (TYRELL; BECK, 2006; SILVA et al., 2013). Além disso, a avaliação

ultrassonográfica pode colaborar demonstrando a integridade da parede do órgão, alterações mesentéricas adjacentes e presença de líquido livre na cavidade abdominal (TYRELL; BECK, 2006; SHARMA et al., 2011) e ainda possui maior acurácia na identificação de corpos estranhos radioluscentes, o que poderia ser um achado de difícil identificação na radiografia simples (TYRELL; BECK, 2006); o que pode justificar a ultrassonografia em primeira opção para avaliação do trato gastrointestinal de tais pacientes.

Na avaliação preliminar do paciente, a suspeita primária foi de gastroenterite, devido aos episódios de vômitos e diarreias sanguinolentas. Entretanto, não podemos descartar que os fatores idade do paciente e a presença de diarreia não são achados clínicos mais comuns em ocorrências de corpos estranhos gástricos. Além disso, os exames laboratoriais do paciente apresentaram achados que não podem ser relacionados diretamente à presença de corpos estranhos gástricos. Segundo Fossum (2014), tais pacientes acometidos, podem não se apresentar com alterações de parâmetros laboratoriais e, quando acontece, é caracterizado por queda no hematócrito e ou, alterações das proteínas totais, nitrogênio uréico sérico e creatinina.

Dos parâmetros avaliados, o paciente apresentou apenas alteração da creatinina sérica, e esta alteração não pode ser relacionada à presença dos corpos estranhos relatados; pode-se aventar que tal nefropatia, de caráter crônico, bilateralmente, diagnosticada à luz da ultrassonografia abdominal, estivesse relacionada às perdas fisiológicas de néfrons devido à idade do paciente e ou agravada pela presença de *Anaplasma platys* ou outras causas concorrentes ao longo da vida do paciente.

CONCLUSÕES

Infere-se que a resolução do presente caso foi desafiadora pelo fato de não ser comum as características clínicas apresentadas pelo paciente. A literatura aponta que a ingestão de corpos estranhos ocorre, comumente, em animais mais jovens e os sinais clínicos característicos diferem dos observados no paciente do presente relato. A quantidade, o tipo e o peso dos corpos estranhos seguramente influenciaram na falha para que houvesse eliminação natural das britas ingeridas.

A imagística diagnóstica ultrassonográfica e radiográfica com exposições em planos distintos, associadas ao estudo sanguíneo sérico foram suficientemente eficientes para conclusão diagnóstica, auxiliando o profissional no estabelecimento da conduta mais adequada e proporcionando litigação de danos maiores ao paciente, caso houvesse demora para o rápido encaminhamento à intervenção cirúrgica.

REFERÊNCIAS

BICHARD, STHPHEN. J.; SHERDING, ROBERT. G. 1998. **Doenças do esôfago e distúrbios de deglutição**. p. 715 – 740. BICHARD, STHPHEN. J.; SHERDING, ROBERT. G. Clínica de pequenos animais. São Paulo, ed. Roca, 980 p.

FOSSUM, T. W. **Cirurgia de Pequenos Animais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 4^a Ed.1640 p.

O'BRIEN, T.R. **Small intestine. Radiografic diadnosis of abdominal disorders in the dog and cat**. Philadelphia, WB Saundrs, 1978.

SHARMA, A. et al. **Comparison of radiography and ultrasonography for diagnosing smallintestinal mechanical obstruction in vomiting dogs. Veterinary Radiology and Ultrasound**. v.52, n.3, p.248-255, 2011.

SILVA, L.C. et al. **Avaliação Ultrassonográfica Gástrica em Pequenos Animais**. Veterinária e Zootecnia, Botucatu, v.20, n.4, p.567-575, 2013.

TYRRELL, D.; BECK, C.; **Survey of the use of radiographyvs.ultrasonography in the investigation of gastrointestinal foreign bodies in small animals. Radiology & Ultrasound**. v. 47, n. 4, p. 404-408, 2006.

MIELOMA MÚLTIPLO EM CÃO – RELATO DE CASO

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 03/09/2020

Luana Lopes Patente

Universidade Santo Amaro
São Paulo – São Paulo
<http://lattes.cnpq.br/8936209272422745>

Michele Legnaro Canteiro

Universidade Santo Amaro
São Paulo – São Paulo
<http://lattes.cnpq.br/9929898334234111>

Milene Letícia Bastos de Souza

Universidade Santo Amaro
São Paulo – São Paulo
<http://lattes.cnpq.br/7190053678230645>

Elizabeth Bohland

Universidade Santo Amaro
São Paulo – São Paulo
<http://lattes.cnpq.br/6090942522806362>

RESUMO: O mieloma múltiplo é um distúrbio raro, caracterizado pela proliferação anormal dos plasmócitos na medula óssea, que sintetizam elevadamente um tipo específico de imunoglobulina (proteína M). Objetivando relatar a existência desta enfermidade, realizou-se um conjunto de análises que possibilitou a conclusão diagnóstica em uma cadela, Cocker Inglês, 14 anos, atendida inicialmente com sinais de prurido generalizado, lesões em pele, linfonodo poplíteo reativo e histórico de tratamento de dor em coluna há três anos. Um tratamento foi

prescrito para as lesões cutâneas, porém após um mês, a paciente retornou com as mesmas queixas. Foi realizada citologia aspirativa por agulha fina dos linfonodos poplíteos e cervicais com sugestão diagnóstica de mieloma múltiplo / linfoma de células B. O hemograma (analisador automático Modelo Mindray BC-5000 Vet + leitura manual) apresentou valor de proteína plasmática de 12,2 g/dl, leucopenia, anemia normocítica normocrômica, trombocitopenia, sem alterações bioquímicas relevantes. O exame radiológico em coluna revelou área radiotransparente circunscrita na base do processo espinhoso de L1 sugestiva de lesão óssea (característica em casos de mieloma múltiplo). A dosagem da proteína de Bence Jones foi sugerida, porém não houve autorização do tutor. Após dois meses, a paciente apresentou agravamento dos índices hematológicos e intensa prostração. Assim, foi realizado o mielograma (análise microscópica de material corado em panótico rápido), que confirmou a suspeita diagnóstica. Os achados hematológicos, radiográficos e clínicos corroboraram desde o início com o direcionamento da suspeita clínica para um quadro neoplásico de mieloma múltiplo, onde foi instituído tratamento quimioterápico e imunossupressor. A paciente não retornou para reavaliação. Não foi possível afirmar neste caso se as alterações encontradas na pele tinham associação com a ocorrência do mieloma múltiplo. Em suma, os resultados dos exames citológicos e radiológico confirmados pelo mielograma concluíram o diagnóstico de mieloma múltiplo.

PALAVRA-CHAVE: Mieloma múltiplo, neoplasia, gamopatia monoclonal.

MULTIPLE MYELOMA IN DOG – CASE REPORT

ABSTRACT: Multiple myeloma is a rare disorder, characterized by the abnormal proliferation of plasma cells in the bone marrow, which highly synthesize a specific type of immunoglobulin (M protein). To report the existence of this disease, a set of analyzes enabled the diagnostic conclusion in a dog, English Cocker, 14 years old, that was admitted with signs of generalized pruritus, skin lesions, reactive popliteal lymph node and history of spine treatment three years ago. A treatment was prescribed for the skin lesions, but after one month, the patient returned with the same signs. Fine needle aspiration cytology of popliteal and cervical lymph nodes was performed with diagnostic suggestion of multiple myeloma / B cell lymphoma. The blood count (automatic analyzer Model Mindray BC-5000 Vet + manual reading) presented a plasma protein value of 12.2 g / dl, leukopenia, normochromic normocytic anemia, thrombocytopenia, without relevant biochemical changes. The radiological examination in the spine showed a circumscribed radiotransparent area at the base of the L1 spinous process, suggestive of bone injury (characteristic in cases of multiple myeloma). The dosage of Bence Jones protein was suggested, but it was not authorized by tutor. After two months, the patient presented worsening of hematological indexes and intense prostration. Thus, the myelogram (microscopic analysis of material stained in fast panoptic) was performed, which confirmed the diagnostic. The hematological, radiographic and clinical findings corroborated from the beginning with the directing of clinical suspicion to a neoplastic condition of multiple myeloma, where chemotherapy and immunosuppressive treatment were instituted. The patient did not return for reassessment. It was not possible to state in this case whether the skin lesions were associated with the occurrence of multiple myeloma. In summary, the results of the cytological and radiological exams confirmed by the myelogram concluded the diagnosis of multiple myeloma.

KEYWORD: Multiple myeloma, neoplasia, monoclonal gammopathy.

1 | INTRODUÇÃO

O mieloma múltiplo é um distúrbio raro, caracterizado pela proliferação anormal dos plasmócitos na medula óssea, que sintetizam elevadamente um tipo específico de imunoglobulina (Proteína M). Algumas das alterações mais comumente observadas são osteopatias, pancitopenia, aumento da viscosidade sanguínea, hipercalcemia e doença renal. O diagnóstico definitivo é firmado através da análise citológica ou histopatológica da medula óssea. O tratamento é quimioterápico, com finalidade de diminuir as células neoplásicas e conseqüentemente os níveis de imunoglobulinas séricas. (CALAZANS, 2008)

2 | RELATO DE CASO

Uma cadela de 14 anos de idade, foi admitida no hospital veterinário da Universidade Santo Amaro no dia 14 de março de 2019 com queixa principal de

prurido intenso e lesões em pele. No exame físico observou-se rarefação pilosa em dorso, feridas no membro torácico esquerdo, base de cauda e região perianal e um aumento de volume do linfonodo poplíteo esquerdo. Neste momento foi solicitada função renal para a prescrição de anti-inflamatório esteroidal. O tutor foi orientado em relação ao manejo do prurido e foi prescrito tratamento para as lesões em pele.

O retorno ocorreu 20 dias após a primeira consulta. O paciente não apresentou melhora do quadro clínico. Foram realizados exames complementares (hemograma, função renal, função hepática, urinálise, triglicérides e colesterol) para diagnóstico diferencial de DAPE/ endocrinopatia e citologia dos linfonodos pois todos os linfonodos aparentes estavam aumentados de volume.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do hemograma revelaram uma leve anemia normocítica normocrômica, anisocitose, policromasia, presença de eritroblastos (25/100 leucócitos), intensa leucopenia (1.900 células/mm³), trombocitopenia (165 mil/mm³) e aumento das proteínas plasmáticas totais (12,2 g/dL).

A citologia dos linfonodos poplíteos e cervicais direito e esquerdo revelou uma amostra com alta celularidade, predomínio de células redondas (70% a 90%), baixa relação núcleo-citoplasma, citoplasma amplo, moderadamente a intensamente basofílico, com vacuolização perinuclear, núcleo excêntrico, apresentando cromatina densa a grosseira; figuras de mitose ocasionais. Presença de médios e grandes linfócitos, raros macrófagos discreta quantidade de corpúsculos linfoglandulares e raras células binucleadas. Essas alterações foram sugestivas de linfoma de células B / neoplasia de plasmócitos / mieloma múltiplo (figura 1).

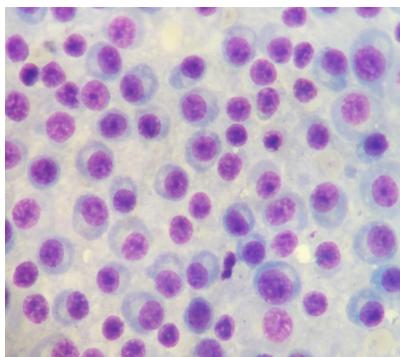


Figura 1. Citologia de linfonodo poplíteo. Coloração panótico rápido (aumento de 40x). Predomínio de plasmócitos.

Fonte: Arquivo pessoal.

O diagnóstico citológico foi complementado por um mielograma e exame radiológico de coluna vertebral para verificação de existência de possível lesão óssea. O laudo radiológico constatou presença de área radiotransparente circunscrita na base do processo espinhoso de L1 sugestiva de processo neoplásico. O mielograma teve como conclusão uma amostra compatível com hipoplasia mielóide, eritroide, megacariocítica e Mieloma Múltiplo.

Dos relatos encontrados em literatura, um deles descreve a ocorrência do mieloma em cão com queixa primária de claudicação (MUNHOZ, 2016), onde após os exames complementares a suspeita diagnóstica foi voltada ao mieloma devido à pancitopenia e osteólise ao exame radiográfico, entretanto a suspeita não foi confirmada por mielograma, já que o mesmo não evidenciou células neoplásicas, sendo confirmado por exame histopatológico. Vários autores evidenciam sinais clínicos como claudicação (BARONI et al, 2015), dor óssea e fraturas patológicas em animais diagnosticados com mieloma múltiplo, o que difere no presente relato, apesar da alteração osteolítica. Em contrapartida, diversas alterações laboratoriais citadas em literatura conferem semelhança ao presente caso, dentre elas pancitopenia e o aumento das proteínas totais.

4 | CONCLUSÃO

Os resultados dos exames citológicos e radiológico confirmados pelo mielograma, concluíram o diagnóstico de mieloma múltiplo. Não foi possível afirmar neste caso se as alterações encontradas na pele tinham associação com a ocorrência do mieloma múltiplo.

REFERÊNCIAS

BARONI, Raquel *et al.* **MIELOMA MÚLTIPLO EM UM CÃO: RELATO DE CASO**. Investigação, [S. l.], 7 nov. 2015. I Simpósio de Oncogeriatrics em Pequenos Animais - Universidade de Franca.

CALAZANS, S.G.; DALECK, C.R.; DE NARDI, A.B. Neoplasias do Sangue e dos órgãos formadores do sangue. In: DALECK, C.R.; DE NARDI, A.B. **Oncologia em cães e gatos**. Roca. 2ed. Cap 32. p.513-515, 2008.

MUNHOZ, Thiago Demarchi *et al.* **Mieloma múltiplo num cão - Relato de caso**. Rev. Bras. Med. Vet, [S. l.], p. 231-234, set. 2016.

CAPÍTULO 6

NEURITE POR DOENÇA DE MAREK EM GALINHAS CAIPIRAS

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 11/09/2020

Vitor de Moraes Pina de Carvalho

Universidade Federal da Bahia
Salvador – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/1664236333005699>

Alessandra Estrela-Lima

Universidade Federal da Bahia
Salvador – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/7883457219333957>

Natasha Dórea da Silva Azevedo

Universidade Federal da Bahia
Salvador – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/5042080290132194>

Flávia Roberta Pereira Abbude-Carvalho

Universidade Federal da Bahia
Salvador – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/3407454450646729>

Elainne Maria Beanes da Silva Santos

Universidade Federal da Bahia
Salvador – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/7805719856925721>

Gabriel Saraiva Diniz Gonçalves

Universidade Federal da Bahia
Salvador – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/7603368927712728>

Danielle Nascimento Silva

Universidade Federal da Bahia
Salvador – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/5491053063575001>

Lia Muniz Barretto Fernandes

Universidade Federal da Bahia
Salvador – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/0839354168154032>

Thanielle Novaes Fontes

Universidade Federal da Bahia
Salvador – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/7257665273346344>

Eduardo Luiz Moreira Trindade

Universidade Federal da Bahia
Salvador – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/7829306889206141>

Isabella Neves Finamori França Polonio

Universidade Federal da Bahia
Salvador – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/0519715491447991>

Marilaine Carlos de Sousa

Universidade Federal da Bahia
Salvador – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/7124573905150791>

RESUMO: A Doença de Marek é uma desordem linfoproliferativa causada por um *Alphaherpesvirus*, que acomete principalmente as galinhas domésticas, com relatos em perus e aves silvestres. O presente relato visa descrever os achados clínicos e anatomo-histopatológicos de um surto de Doença de Marek em galinhas caipiras de uma propriedade do município de Miguel Calmon na Bahia. Os sinais clínicos incluíram paralisia das asas e queda de penas com evolução clínica para o óbito. Os achados necroscópicos revelaram

o espessamento do nervo ciático, caracterizado microscopicamente por infiltrado inflamatório predominantemente linfocítico moderado difuso, moderada vacuolização intramielínica e áreas com desmielinização. Os achados anatomo-histopatológicos aliados aos sinais clínicos e fatores epidemiológicos são compatíveis com a infecção pelo vírus da Doença de Marek.

PALAVRAS-CHAVE: Doenças das aves, neuropatia desmielinizante, patologia, síndrome neurológica.

NEURITIS DUE TO MAREK'S DISEASE IN FREE-RANGE CHICKENS

ABSTRACT: Marek's disease is a lymphoproliferative disorder caused by an *Alphaherpesvirus*, which mainly affects domesticated chickens, with reports in turkeys and wild birds. The present report aims to describe the clinical and anatomopathological findings and an outbreak of Marek's Disease in hens from a farm in the municipality of Miguel Calmon in Bahia. Clinical signs included wing paralysis and feather drop with clinical evolution for death. Necroscopic findings revealed thickening of the sciatic nerve, characterized microscopically by inflammatory infiltrate predominantly diffuse moderate lymphocytic, moderate intramyelinic vacuolization and areas with demyelination. The anatomic-histopathological findings associated with clinical and epidemiological factors are compatible with Marek's disease virus infection.

KEYWORDS: Bird diseases, demyelinating neuropathy, pathology, neurological syndrome.

1 | INTRODUÇÃO

O vírus da Doença de Marek (MDV), pertence à família dos herpesvírus. Devido a seu tropismo positivo por linfócitos, e pela dificuldade de distingui-lo de outras leucoses, foi classificado como membro da subfamília *Gamaherpesvirinae*. Após a descoberta de uma estrutura genômica de alphavírus, semelhante a do herpes simples, o vírus denominado MDV - *Marek's disease virus* ou GaHV-2 - *Gallid herpesvirus 2*, foi incluído na subfamília *Alphaherpesvirinae* e gênero *Mardivirus*. Possui 3 sorotipos: sorotipo 1 (oncogênico), geralmente utilizado nas vacinas, sorotipo 2 (não oncogênico), naturalmente não patogênico e o sorotipo 3 (Herpes Virus Turkey) (BÜLOW; BIGGS, 1975).

Na cadeia epidemiológica da Doença de Marek, as principais fontes de infecções são os indivíduos portadores da doença (galinhas domésticas, codornas, perus, faisões e patos) que eliminam constantemente o vírus no meio ambiente por meio da descamação dos folículos da pena, ocorrendo o contato direto com as aves, ou até mesmo o contato indireto por meio de camas reutilizadas e contaminadas (WITTER et al., 2005)1957. A principal porta de entrada do vírus é a respiratória, vivenciando as situações de contato direto e indireto com o vírus. Aves de variadas faixas etárias podem ser infectadas, sendo a mais acometida entre 2 a 5 meses de

idade (MACLACHLAN E DUBOVI, 2010).

A apresentação clínica da doença pode ocorrer de quatro formas: cutânea, ocular, visceral e neurológica (CHAT E NAIR, 2008). A forma neurológica, embora pouco relatada, é importante para diagnóstico diferencial com outras doenças, além de causar grandes perdas na produção, por óbito das aves. Esta apresentação caracteriza-se por nervos aumentados, principalmente vago, braquial e ciático, resultando em paralisia do pescoço, asas, e pés, respectivamente (WITTER et al., 1999).

A patogênese do complexo de lesão neurológica não é totalmente compreendida e consiste de paralisia transitória clássica, paralisia transitória aguda (resultando em mortalidade dentro de 1 a 3 dias pós-inoculação), síndrome neurológica persistente e paralisia tardia. O desenvolvimento de ambos os tipos de paralisia é influenciado pelo Complexo de histocompatibilidade (MHC) e pela virulência da cepa do MDV, com as cepas mais virulentas causando paralisia transitória aguda em vez de clássica. As lesões cerebrais consistem de vasculite que começam aos 6-8 dias, e edema vasogênico (CHAT E NAIR, 2008).

O diagnóstico é baseado na presença de lesões, principalmente o espessamento do nervo ciático associado à histopatologia. Os diagnósticos diferenciais desta virose são a reticuloendoteliose, leucose, (pois podem apresentar lesões nos nervos e tumores na bursa de Fabricius, raramente lesão na pele e paralisia) (WITTER et al., 2005) e neuropatia periférica, uma doença neurológica de etiologia incerta que causa paralisia e aumento dos nervos em uma baixa proporção de frangos comerciais entre 6 e 12 semanas de idade e foi descrita em planteis de frangos comerciais e livres de patógenos específicos (SPF). As galinhas afetadas não possuem linfomas viscerais; as lesões nervosas são uniformemente do tipo B; e o MDV é raramente, ou nunca, encontrado (BACON; WITTER; SILVA, 2001).

O controle e profilaxia são baseados na higiene dos galpões, incineração das penas, limpeza e desinfecção, vazio sanitário de aproximadamente 15 dias e vacinação das aves que forem introduzidas (MACLACHLAN E DUBOVI, 2010). Em 2013, a Doença de Marek entrou para a lista de doenças que requerem notificação obrigatória mensal de qualquer caso confirmado, passíveis da aplicação de medidas de defesa sanitária animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Neste contexto objetivou-se com o presente relato de caso descrever a ocorrência rara de um surto da forma neurológica da Doença de Marek em uma pequena propriedade no município de Miguel Calmon na Bahia.

21 CASUÍSTICA

Dois galinhas caipiras (*Gallus domesticus*) provenientes de uma

propriedade localizada no município de Miguel Calmon, na Bahia, com histórico de paralisia nos pés, foram encaminhadas ao Laboratório de Sanidade Avícola da Bahia (LASAB) com o objetivo de definir o diagnóstico da doença que acometia cerca de metade do lote do produtor.

As aves eram criadas no tipo de exploração de subsistência caipira em um plantel de 40 animais, dos quais 24 apresentaram sinais clínicos de perda de apetite, diminuição na produção de ovos e algumas possuíam dificuldade de locomoção e paralisia das asas e queda de penas, definindo progressivamente até o óbito. O produtor afirmou que o início da doença foi dois meses antes de atingir 50% do lote e as aves acometidas tinham entre 8 e 23 semanas de idade e não foram vacinadas.

Após a eutanásia, procedeu-se o exame necroscópico no qual observou-se o espessamento do nervo ciático esquerdo medindo 6,5 x 0,5 x 0,5 cm com superfície irregular, brancacenta e firme-elástica, ao corte, compacto e brancacento. O nervo ciático direito media 6,0 x 0,3 x 0,2 cm, de superfície regular, brancacenta e firme-elástica. Ao corte apresnetava-se compacto e brancacento (Fig.1). Nos demais órgãos não foram encontradas alterações dignas de nota. Foram colhidos fragmentos dos nervos ciáticos esquerdo e direito, acondicionados em recipientes contendo formol neutro tamponado com fosfato a 10% e encaminhados ao Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) no Hospital de Medicina Veterinária Prof. Renato Rodenburg de Medeiros Netto (HOSPMEV/UFBA). Os fragmentos foram clivados, processados pela técnica rotineira de inclusão em parafina, cortados em secções de 5 µm e corados pela técnica de Hematoxilina e Eosina (HE) (PROPHET *et al.*, 1994).

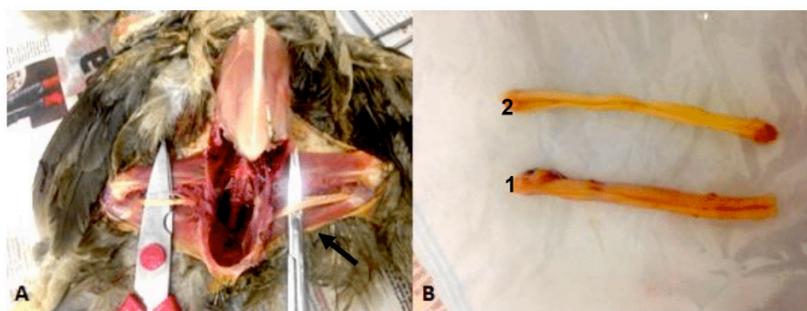


Fig.1: Neurite por Doença de Marek em galinhas caipiras. Achados necroscópicos. A = Espessamento do nervo ciático esquerdo observado durante a necrópsia. (Seta). B = Diferença de espessura entre os nervos ciáticos esquerdo (1) e direito (2).

Nas secções histológicas de nervo ciático esquerdo, foi observado infiltrado inflamatório predominantemente linfocítico moderado difuso, por vezes formando

aglomerados focais entre os axônios. Associado a inflamação, observou-se moderada vacuolização intramielínica e áreas com desmielinização caracterizando neurite linfocítica. (Fig.2)

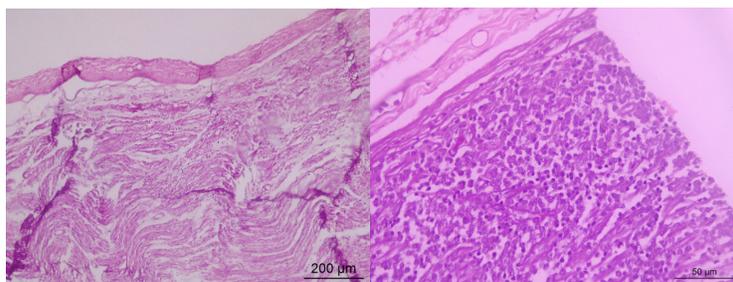


Fig.2: Neurite por Doença de Marek em galinhas caipiras. Fotomicrografias em HE mostrando as diferenças entre os nervos ciáticos. A = Nervo ciático direito. B = Nervo ciático esquerdo com infiltrado de linfócitos (setas).

A partir dos sinais clínicos relatados e achados anatomo-histopatológicos observados, foi firmado diagnóstico presuntivo de Doença de Marek na forma neurológica. Após o conhecimento da enfermidade que acometeu o lote, foi feita a notificação aos órgãos de Defesa Agropecuária competentes e orientações ao criador sobre medidas de controle e profilaxia tais como o sacrifício das aves, limpeza e desinfecção de toda a granja com incineração das penas, vazio sanitário de no mínimo 15 dias e repovoamento com aves vacinadas, além da possibilidade de indenização pelo abate sanitário das aves. Segundo contato com o proprietário, que ocorreu três meses após a instituição dos métodos de controle e vacinação das aves, não houve mais a presença dos sinais clínicos que se assemelham a infecção pelo MDV neste plantel.

3 | DISCUSSÃO

O surto relatado corrobora o fato da Doença de Marek ser mais comumente encontrada em pequenas propriedades de subsistência. Em um estudo feito por WITTER E GIMENO (2006), foi observado que a concentração do vírus, idade e genética são fatores importantes que definem a apresentação dos sinais clínicos e lesões da Doença de Marek. A idade das aves do plantel também contribuiu para a rápida disseminação no ambiente através da maior eliminação de carga viral por meio da descamação das penas, que atingiu metade do lote em dois meses. Estresse, infecção prévia e ambiente, como as baixas condições de biossegurança, são fatores predisponentes a enfermidade (SCHAT E NAIR, 2008) e estavam

presentes no plantel relatado.

A maior ocorrência desta patologia é entre quatro e oito semanas de idade, podendo se estender até dezoito semanas, como ocorre na forma ocular, e às vezes até mesmo após o início da produção de ovos, com morbidade variando conforme a apresentação da doença, de 10% (forma neurológica) a 50-70% (forma cutânea e visceral) (OIE, 2017). As formas da doença podem apresentar-se isoladas ou associadas em um mesmo indivíduo, e a sobrevivência relaciona-se diretamente com a dificuldade das aves em alimentarem-se em função da concorrência com outras, que eventualmente evoluem a óbito por caquexia em 7 a 20 dias (CAUCHY; COUDERT, 1986).

A queda de penas relatada é justificada pela replicação viral que ocorre no foliculo da pena, levando a descamação da mesma (NAIR, 2005), contudo não foram observadas lesões de pele, características da enfermidade no exame necroscópico das duas aves.

As aves aqui relatadas não apresentaram sintomatologia relacionada ao acometimento do sistema nervoso central, bem como não foram observados alterações encefálicas na análise necroscópica. A depender da virulência do vírus, ele é capaz de atravessar a barreira hematoencefálica e instalar-se no sistema nervoso central causando edema vasogênico, afluxo perivasculares de células mononucleares e/ou linfoides, trombose e hemorragia, e por consequência, encefalite, que resulta uma paralisia assimétrica transitória aguda dos membros e a tremores de cabeça (WITTER et al., 1999).

De acordo com MACLACHLAN E DUBOVI (2010), no sistema nervoso periférico ocorre replicação do vírus nas fibras nervosas, desmielinização e afluxo de células mononucleares e/ou linfoides que inicialmente cursam com uma inflamação e/ou proliferação anormal de células linfoides caracterizando o quadro de neurite periférica. Devido a isso, há o aumento da espessura, principalmente do nervo vago, braquial e ciático, conforme observado na necrópsia das aves, resultando em paralisia às vezes do pescoço, asas e pés. Como consequência dessa paralisia, as aves geralmente têm dificuldade de se alimentar ou acessarem os bebedouros, reduzindo o ganho de peso, diminuindo a produção, e em casos mais graves, levando à morte. Os achados neste relato são semelhantes aos encontrados por METE *et al.*, (2016), que observaram sinais clínicos neurológicos compatíveis com paralisia de pernas, diminuição da capacidade de andar, cambalear, incapacidade de ficar em pé, claudicação progressiva e lesões somente em nervos periféricos de galinhas de quintal infectadas pelo vírus da Doença de Marek.

Devido à ausência de outros sinais clínicos como queda de penas associados à epidemiologia da doença, alta morbidade e mortalidade na granja, idade dos animais, a neuropatia periférica (principal diagnóstico diferencial da apresentação

neurológica da Doença de Marek) (BACON; WITTER; SILVA, 2001), foi descartada nas aves que apresentaram paralisia neste plantel. Bem como a ausência de linfomas nos órgãos das aves necropsiadas, excluiu a possibilidade de infecção pelo vírus da reticuloendoteliose ou da leucose aviária (WITTER et al., 2005)1957.

Atualmente não existe um padrão diagnóstico aceito para a Doença de Marek, entretanto a presença de infiltrado inflamatório predominantemente linfocítico e o espessamento do nervo ciático são suficientes para confirmação do diagnóstico quando associados a fatores epidemiológicos (SCHAT E NAIR, 2008). No presente relato, os achados clínicos e anatomo-histopatológicos observados nas duas galinhas avaliadas foram suficientes para o diagnóstico da enfermidade. Adicionalmente os efeitos da vacinação com a utilização dos métodos de controle adequados ratificaram o diagnóstico da virose.

4 | CONCLUSÃO

Com base nos achados clínicos, epidemiológicos e anatomo-histopatológicos foi firmado o diagnóstico da Doença de Marek na forma neurológica. Os resultados obtidos neste relato sugerem a realização de estudos epidemiológicos visando verificar se realmente a Doença de Marek na apresentação neurológica é rara ou subdiagnosticada nas pequenas propriedades da Bahia. Ressalta-se que os achados clínicos e anatomo-histopatológicos são importantes no diagnóstico preciso para uma investigação mais efetiva nas criações avícolas de subsistência dos municípios baianos, em que a doença pode ser subdiagnosticada, além de possibilitar o planejamento de medidas de controle e profilaxia da doença.

REFERÊNCIAS

BACON, L. D.; WITTER, R. L.; SILVA, R. F. **Characterization and experimental reproduction of peripheral neuropathy in white leghorn chickens.** *Avian Pathology*, v. 30, n. 5, p. 487–499, 2001.

BÜLOW, V. V.; BIGGS, P. M. **Differentiation between strains of marek's disease virus and turkey herpesvirus by immunofluorescence assays.** *Avian Pathology*, v. 4, n. 2, p. 133–146, 1975.

CAUCHY, L.; COUDERT, F. Marek ' s disease. v. 5, n. 4, p. 1025–1035, 1986.

NAIR, V. **Evolution of Marek's disease - A paradigm for incessant race between the pathogen and the host.** *Veterinary Journal*, v. 170, n. 2, p. 175–183, 2005.

MACLACHLAN, N.J.; DUBOVI, E.J. **Fenner's veterinary virology.** [S.l.]: Academic press, 2010.

METE A., GHARPURE, R., PITESKY, M.E. et al. **Marek's Disease in Backyard Chickens, A Study of Pathologic Findings and Viral Loads in Tumorous and Nontumorous Birds. Avian Diseases**, v. 60, n. 4, p. 826–836, dez. 2016.

OIE, A. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. *Office international des epizooties, paris, France*. [S.l.: s.n.], 2017. p. 1092–1106.

PROPHET, E.B. et al. **Histotechnology**. Washington: **Armed Forces Institute of Pathology**, 1994.

SCHAT, K. A.; NAIR, V. **Marek's disease**. In: SAIF, Y. M.; BARNES, H. J. (Org.). **Diseases of poultry**. 12. ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2008. p. 452–514.

WITTER, R. L. et al. **Classification of Marek's disease viruses according to pathotype: Philosophy and methodology. Avian Pathology**, v. 34, n. 2, p. 75–90, 2005.

WITTER, R.L.; GIMENO, I.M. **Susceptibility of adult chickens, with and without prior vaccination, to challenge with Marek's disease virus. Avian diseases**, v. 50, n. 3, p. 354–365, 2006.

WITTER, A. R. L. et al. **An Acute Form of Transient Paralysis Induced by Highly Virulent Strains of Marek ' s Disease Virus** Published by : American Association of Avian Pathologists
Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/1592740> REFERENCES Linked references are available on JST. v. 43, n. 4, p. 704–720, 1999.

OCORRÊNCIA DE *MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBSP. *PARATUBERCULOSIS* VIÁVEL DO TIPO *CATTLE* SUBTIPO *BISON* EM QUEIJO COALHO DE BÚFALA PROVENIENTE DE ALAGOAS, BRASIL

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 21/09/2020

Pedro Paulo Feitosa de Albuquerque

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Recife, Brasil
<https://orcid.org/0000-0002-6879-0876>

Marilene de Farias Brito

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Rio de Janeiro, Brasil
<https://orcid.org/0000-0002-8667-9434>

Erika Fernanda Torres Samico- Fernandes

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Recife, Brasil
<https://orcid.org/0000-0001-7069-1992>

José Wilton Pinheiro Junior

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Recife, Brasil
<https://orcid.org/0000-0002-0266-0956>

Rinaldo Aparecido Mota

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Recife, Brasil
<https://orcid.org/0000-0002-2844-5509>

RESUMO: *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) é o agente etiológico da doença da paratuberculose. Neste estudo identificou-se pela primeira vez no Brasil por meio da técnica de isolamento e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), a presença de MAP viável em queijo tipo coalho de búfala. Posteriormente, para a tipificação do isolado realizou-se a técnica

de Análise de Restrição Enzimática (REA) da região IS1311 do MAP que identificou o tipo *Cattle* subtipo *Bison*. Este resultado, inédito no Brasil, alerta para a presença de MAP em queijo coalho de búfalo comercializado em Alagoas, Nordeste do Brasil. É importante ressaltar, que esse microrganismo pode estar envolvido com enfermidades em humanos, suscitando a necessidade de mais pesquisas na área.

PALAVRAS CHAVE: Búfalos, paratuberculose, tipificação, IS1311, isolamento.

OCCURRENCE OF VIABLE *MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBSP. *PARATUBERCULOSIS* IN BUFFALO COALHO CHEESE FROM ALAGOAS, BRAZIL

ABSTRACT: *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) is the etiologic agent of paratuberculosis disease. In this study, the presence of viable MAP in buffalo coalho cheese was identified for the first time in Brazil through the Isolation and Polymerase Chain Reaction (PCR) technique. Subsequently, for typing the isolate, the technique of Restriction Enzyme Analysis (REA) of MAP region IS1311 was realized, which identified the isolate belonging to the Cattle type, Bison subtype. This result, previously unheard of in Brazil, assists in MAP control strategies in food, since this microorganism is suspected of being involved with diseases in humans.

KEYWORDS: Buffaloes; paratuberculosis; IS1311; IS900; isolation.

1 | INTRODUÇÃO

A doença de Johnne, também conhecida por paratuberculose, é uma inflamação intestinal crônica causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). Essa enfermidade afeta principalmente ruminantes, mas já foi descrito acometendo várias outras espécies animais, incluindo as selvagens (MANNING, 2001).

Assim, a paratuberculose é responsável por sérias consequências econômicas e de saúde animal em todo o mundo (BENEDICTUS; DIJKHUIZEN; STELWAGEN, 1987; OTT; WELLS; WAGNER, 1999). O MAP também é de interesse na saúde pública devido ao seu possível envolvimento na doença de Crohn em humanos que é doença debilitante crônica de etiologia desconhecida e que apresenta uma patologia semelhante à doença de Johnne (SECHI; DOW, 2015).

Embora existam muitas dúvidas sobre as condições em que a doença em seres humanos possa se desenvolver, é fundamental compreender melhor o risco de exposição humana ao MAP de várias fontes, incluindo o contato direto com animais, o meio ambiente e o consumo de alimentos potencialmente contaminados (WADDELL et al., 2016).

Um dos alimentos que pode representar risco à saúde humana é o queijo artesanal *Coalho* por ser produzido com leite cru. Esse tipo de queijo é tipicamente nordestino e muito popular, amplamente consumido pela população local e em todo o Brasil. As principais características desse queijo são o sabor levemente salgado e ácido, e a resistência ao calor sem derreter, permitindo a preparação do popular *queijo assado* (SILVA et al., 2012).

MAP já foi identificado em vários produtos alimentícios, no entanto estudos em derivados de leite de búfala são escassos no mundo.

Diante do exposto o objetivo deste estudo foi identificar a ocorrência de MAP viável em amostras de queijo de coalho de búfala, no estado de Alagoas, Nordeste do Brasil.

2 | METODOLOGIA

2.1 Amostragem

Nesse estudo foram consideradas duas amostras da mesma marca de queijo tipo coalho pasteurizado de búfala, coletadas no único estabelecimento que comercializava o queijo de coalho de búfala, localizado no Estado de Alagoas, Brasil. Essas amostras foram armazenadas em temperatura de refrigeração e encaminhadas ao laboratório para análises microbiológicas e moleculares.

2.2 Descontaminação e cultivo para isolamento do MAP

Para descontaminação utilizou-se o protocolo descrito por Faria et al. (2014) com algumas modificações. Resumidamente, o exterior da embalagem dos queijos foi descontaminada com álcool 70% com posterior exposição à luz ultravioleta por 30 minutos. Em seguida foram pesadas 30g de queijo de cada amostra e colocado em sacos do tipo “zip locker” previamente esterilizados. Adicionou-se 125 ml de solução de NaCl a 1% e por ação mecânica o queijo foi homogeneizado e macerado. A amostra foi colocada em banho maria por 30 minutos a 37°C. Em seguida, 30 ml da suspensão foi transferida para um tubo do tipo “falcon” de 50 ml e centrifugado a 3000 RPM por 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* foi suspenso em 10 ml de solução de *hexadecyl pyridinium chloride* (HPC) a 0,75%. Logo após, as amostras foram deixadas em sala escura à temperatura ambiente por 5 horas e novamente centrifugadas a 3000 RPM por 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* suspenso em 1 ml de PBS pH 7,2 esterilizado; alíquotas de 250 μ L foram distribuídas em duplicata no meio de cultura Löwenstein Jensen enriquecido com Micobactina J, incubados em estufa a 37°C e observados semanalmente durante 3 meses.

2.3 Extração do DNA das amostras

Colônias suspeitas foram coletadas, diluídas em 200 μ L de PBS pH 7,2 esterilizado e submetidas à extração de DNA utilizando-se o kit comercial “*QIAamp DNA Mini Kit*”, utilizando-se o protocolo do fabricante.

2.4 Detecção molecular da região IS900 do MAP

O DNA extraído foi submetido às amplificações em um volume final de 15mL contendo: 5 μ L de DNA genômico; 0,5 μ L dos primers específicos para IS900 a 20pMol (DF: 5'-GACGACTCGACCGCTAATTG-3' e o DR-1: 5'-CCGTAACCGTCATTGTCCAG-3'); 2,75 μ L de água Mili-Q ultrapura e 6,25 μ L de MasterMix (mistura para PCR - Promega®) de acordo com o protocolo do fornecedor. O perfil térmico das reações foi realizado em um termociclador XP Thermal Cycler (Bioer Technology CO. LTD) com desnaturação inicial a 96°C por 5 minutos, em seguida 35 ciclos a 95°C por 1 minuto cada, anelamento a 58°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 3 minutos, e um ciclo final de 72°C por 10 minutos (TADDEI et al., 2008). O produto amplificado de 99pb correspondente ao DNA do MAP foi detectado por eletroforese em gel de agarose a 2%, corados com bluegreen e visualizados através de luz ultravioleta e fotodocumentados.

2.5 Tipificação do MAP

Para a tipificação do MAP foi realizada a PCR para a região IS1311 com

posterior digestão enzimática das amostras positivas para a região IS900 do MAP. Para realização da PCR IS1311, o DNA foi submetido às amplificações em um volume final de 25mL contendo: 6,5µL de DNA genômico; 1µL dos primers específicos para IS1311 a 10pMol (M56: 5'- GCG TGA GGC TCT GTG GTG AA-3' e M119: 5'- ATG ACG ACC GCT TGG GAG AC-3') (MARSH; WHITTINGTON; COUSINS, 1999); 4µL de água Mili-Q ultrapura e 12,5µL de MasterMix (mistura para PCR - Promega®) de acordo com o protocolo do fornecedor. O perfil térmico das reações foi realizado em um termociclador XP Thermal Cycler (Bioer Technology CO. LTD) com uma desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos, seguida de 37 ciclos a 94°C por 30 segundos para desnaturação, 64°C por 30 segundos para o anelamento e 72°C por 1 minuto para a extensão, com um ciclo final de 72°C por 10 minutos (KAUR et al., 2010). Então, a análise com enzimas de restrição foi realizada utilizando as enzimas HinfI e MseI como descrito por Kaur et al. (2010) e Sevilla et al. (2005). Os genótipos foram então identificados pelos padrões de migração dos fragmentos descritos por Marsh et al. (1999), como observados na tabela 2. A identificação da filogenia de MAP foi realizada de acordo com Stevenson (2015).

Produto da PCR IS1311	Identificação da cepa	Tamanho da banda (pb)
608pb	<i>M. avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> (Sheep)	285, 323
	<i>M. avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> (Cattle)	67, 218, 285, 323
	<i>M. avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> (Bison)	67, 218, 323
	<i>M. avium</i> subsp. <i>avium</i>	134, 189, 285

Tabela 1: Tamanhos de bandas esperadas logo após a digestão pelas enzimas de restrição (HinfI e MseI) do produto de PCR da região IS1311.

Marsh et al. (1999)

2.6 Sequenciamento das amostras para validação da PCR IS1311

Para validar as amplificações, a amostra que foi positiva na PCR da região IS1311 do MAP foi encaminhada para o sequenciamento. A amostra foi purificada utilizando-se o *QIAquick Gel Extraction Kit*® (Qiagen) de acordo com as instruções do fabricante e sequenciadas bidirecionalmente por protocolos padrão usando o *BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit* (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) em um sequenciador automatizado ABI-PRISM 3130 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). As sequências foram analisadas utilizando-se a plataforma do *Basic Local Align Sequence Tool* (BLAST; www.blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi).

2.7 Comitê de Ética da Pesquisa

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco sob a licença nº 123/2015.

3 | RESULTADOS

Das duas amostras de queijo tipo coalho de búfala analisadas, uma foi positiva no cultivo e confirmada na PCR da região IS900. A amostra positiva foi tipificada como pertencente ao tipo *Cattle*, subtipo *Bison*. O sequenciamento da região IS1311 da amostra positiva revelou similaridade de 99% com uma sequência depositada no BLAST pertencente ao MAP tipo *Cattle*, subtipo *Bison* (*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* isolate bison insertion sequence IS1311, partial sequence).

4 | DISCUSSÃO

Os dados sobre a paratuberculose em búfalos no Brasil são escassos. O primeiro relato dessa enfermidade acometendo essa espécie no país ocorreu no Estado de Pernambuco em um rebanho leiteiro (MOTA et al., 2010). Os autores relataram a identificação de MAP em 5 búfalos aplicando a técnica de PCR em amostras biológicas de linfonodos mesentéricos e mucosa intestinal, revelando a amplificação de um fragmento de aproximadamente 110pb, confirmada pela comparação com outras sequências de MAP disponíveis no GenBank (MOTA et al., 2010).

Em seguida, outros relatos surgiram nos estados do Maranhão e Alagoas (REIS et al., 2015; BRITO et al., 2016; MORAES PEREIRA et al., 2020. Nessas pesquisas ficou caracterizado que a presença de DNA de MAP está disseminada nos rebanhos bubalinos da região Nordeste do Brasil.

Dessa forma, constata-se que, a partir do relato de Mota et al. (2010), MAP em búfalos começou a ser mais pesquisado, entretanto, não foram encontrados estudos que relatem a presença de MAP no leite e/ou derivados nas espécies de búfalos.

Portanto, tem-se o primeiro relato de isolamento de MAP em amostras de queijo tipo coalho de búfala no Brasil, especificamente no estado de Alagoas, região nordeste. É importante registrar que outros estudos realizados no nordeste identificaram MAP, todavia foram em amostras de leite e derivados de vaca (ALBUQUERQUE et al., 2017).

Em termos de isolado desse microrganismo, há relatos de Farias et al. (2014) e Albuquerque et al. (2019) em amostras de queijo de coalho bovino nos estados do Piauí e Pernambuco. Por sua vez, Sung e Collins (2000) verificaram

que a capacidade de sobrevivência de MAP em queijos pode variar de acordo com algumas características físico-químicas, como concentração de sal e pH, no entanto, os autores descobriram que o fator que mais contribuiu para a redução de MAP viável foi o tratamento térmico do leite, bem como o tempo de manutenção do queijo.

Embora o queijo de búfala desta pesquisa tenha sido tratado termicamente, ainda foi possível detectar MAP no isolamento e na PCR. Vale ressaltar que esse microrganismo é capaz de sobreviver a processos térmicos que simulam a pasteurização (N SUNG; COLLINS, 1998).

Nesse sentido, em um estudo experimental com queijos produzidos a partir de leite cru de vacas na Europa observou que o aquecimento da coalhada a 53°C por 20 minutos não afetou a sobrevivência de MAP, porém uma diminuição significativa na viabilidade de MAP foi observada durante a fase de moldagem e após salga em salmoura, em relação às cepas estudadas (CAMMI et al., 2019).

É importante ressaltar que a identificação das cepas de MAP tem grande impacto para a epidemiologia molecular desta doença em ruminantes. Pois podem auxiliar na compreensão da origem da infecção, na identificação dos fatores de risco que influenciam a transmissão e caracterização da patogênese (MOTIWALA et al., 2006).

Albuquerque et al. (2018), realizaram um estudo epidemiológico inédito no Brasil, onde todas as cepas identificadas pertenciam ao subtipo Bison sugerindo que a cepa pode ter sido introduzida no Brasil por rebanhos de Búfalos importados da Índia.

Já em estudos realizados na Índia, a principal cepa de MAP que afeta as espécies bubalinas pertence também ao subtipo Bison. Esses mesmos autores indianos, destacam a importância para a saúde pública da cepa do “tipo de Indian Bison” MAP e seu potencial como infecção zoonótica. Os autores afirmam que foi comprovado que MAP não é inativado durante a pasteurização e, portanto os bacilos vivos podem atingir a população humana pelo consumo de leite e seus derivados (CHAUBRY et al., 2017).

Suspeita-se que MAP possa estar associado a algumas importantes enfermidades em humanos como a doença de Chron (GHADIALI et al., 2004; KHAN et al., 2016), a sarcoidose (BROWNELL et al., 2011), síndrome de Blau (DOW; ELLINGSON, 2010), a esclerose múltipla (COSSU et al., 2011), tireoidite de Hashimoto (SISTO et al., 2010) e diabetes tipo 1 (RANI; SECHI; AHMED, 2010). A relação do consumo de alimentos de origem animal contaminados com MAP e o desenvolvimento da doença de Chron nos humanos ainda não está devidamente esclarecida (WADDELL et al., 2016).

Diante disso, e considerando este importante achado de MAP em queijo coalho de búfala, é fundamental que sejam desenvolvidas novas pesquisas para

avançar nas questões relacionadas à exposição humana ao MAP para auxiliar na tomada de decisões sobre o possível problema em saúde pública.

Até o momento, apenas cepas de MAP do tipo *Cattle* e *Cattle* subtipo *Bison* foram identificadas em amostras de fezes e biópsias provenientes de humanos com casos confirmados da doença de Chron ou suspeitos (SINGH et al., 2009; WADDELL et al., 2016). Estudos indicam, ainda, que embora a cepa tipo *Cattle* de MAP predomine entre os ruminantes (com exceção de ovinos) e não ruminantes, também há evidências crescentes sobre a importância do subtipo *Bison* e sua capacidade para infectar diferentes espécies hospedeiras (SINGH et al., 2009; SOHAL et al., 2014; AHLSTROM et al., 2015; PODDER et al., 2015).

Apesar das controvérsias sobre o envolvimento de MAP em saúde pública, suspeita-se que esta bactéria esteja envolvida na doença de Crohn em humanos, e se esta relação existe, os achados deste trabalho merecem atenção, uma vez que a grande maioria dos isolados de MAP de humanos com a doença de Crohn foi tipificada como pertencentes ao tipo gado subtipo *Bison* (WHITTINGTON et al., 2000; GHADIALI et al., 2004; PAUSTIAN et al., 2008; NASER et al., 2014).

5 | CONCLUSÃO

Neste estudo, inédito no Brasil, foi possível confirmar a presença de MAP em queijo coalho de búfalo comercializado em Alagoas, Nordeste do Brasil. Esse resultado alerta sobre a possibilidade desse agente causar danos à saúde humana. Isso denota a necessidade de avançar nas pesquisas em torno desse importante agente, a fim de subsidiar o desenvolvimento de estratégias de prevenção.

REFERÊNCIAS

AHLSTROM, C. et al. **Limitations of variable number of tandem repeat typing identified through whole genome sequencing of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* on a national and herd level.** BMC Genomics, v. 16, n. 1, p. 1–9, 2015.

ALBUQUERQUE, P. P. F. de et al. **Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in bovine milk from the state of Pernambuco, Brazil.** Brazilian Journal of Microbiology, v. 48, n. 1, p. 113–117, 2017.

ALBUQUERQUE, P. P. F. et al. **First molecular epidemiological study of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in cattle and buffalo from different regions of Brazil.** Tropical Animal Health and Production, v. 50, n. 8, p. 1929–1935, 2018.

ALBUQUERQUE, P.P.F., CEZAR, R.D.S., PINHEIRO JUNIOR, J.W., GRAZIELLE NASCIMENTO, G., SANTOS, A.S., & MOTA, R.A. **Occurrence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in coalho cheese in the State of Pernambuco, Brazil.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 71(6), 1917-1921. Epub December 13, 2019. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-10754>

- BENEDICTUS, G.; DIJKHUIZEN, A. A.; STELWAGEN, J. **Economic losses due to paratuberculosis in dairy cattle.** *Veterinary Record*, v. 121, n. 7, p. 142–146, 1987.
- BRITO, M. F. et al. **Paratuberculosis in buffaloes in Northeast Brazil.** *Tropical Animal Health and Production*, v. 48, n. 7, p. 1497–1501, 2016.
- BROWNELL, I. et al. **Evidence for mycobacteria in sarcoidosis.** *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, v. 45, n. 5, p. 899–905, 2011.
- CAMMI G, RICCHI M, GALIERO A, et al. **Evaluation of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis survival during the manufacturing process of Italian raw milk hard cheeses (Parmigiano Reggiano and Grana Padano).** *Int J Food Microbiol.* 2019;305:1087.
- CHAUBEY, K. K. et al. ***Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis – An important food borne pathogen of high public health significance with special reference to india: An update** *Veterinary Quarterly*, 2017.
- COSSU, D. et al. **Association of mycobacterium avium subsp. paratuberculosis with multiple sclerosis in sardinian patients.** *PLoS ONE*, v. 6, n. 4, p. 2–7, 2011.
- DOW, C. T.; ELLINGSON, J. L. E. **Detection of *Mycobacterium avium* ss. *Paratuberculosis* in Blau Syndrome Tissues.** *Autoimmune Diseases*, v. 2010, p. 1–5, 2010. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/ad/2010/127692/>>.
- FARIA, A. C. S. et al. Short communication: **Viable *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in retail artisanal Coalho cheese from Northeastern Brazil.** *Journal of Dairy Science*, v. 97, n. 7, p. 4111–4114, 2014.
- GHADIALI, A. H. et al. ***Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis Strains Isolated from Crohn ' s Disease Patients and Animal Species Exhibit Similar Polymorphic Locus Patterns.** *Society*, v. 42, n. 11, p. 5345–5348, 2004.
- KAUR, P. et al. **Molecular detection and typing of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis from milk samples of dairy animals.** *Tropical Animal Health and Production*, v. 42, n. 5, p. 1031–1035, 2010.
- KHAN, I. A. et al. **Prevalence and Association of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis with Disease Course in Patients with Ulcero-Constrictive Ileocolonic Disease.** *PLoS ONE*, v. 11, n. 3, p. e0152063, 2016.
- MANNING, E. J. B. ***Mycobacterium avium* subspecies Paratuberculosis: a review of current knowledge.** *Journal of Zoo and Wildlife medicine*, v. 32, p. 293–304, 2001.
- MARSH, I.; WHITTINGTON, R.; COUSINS, D. **PCR-restriction endonuclease analysis for identification and strain typing of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis and *Mycobacterium avium* subsp. *avium* based on polymorphisms in IS1311.** *Molecular and Cellular Probes*, v. 13, n. 2, p. 115–126, 1999.

MORAES PEREIRA DE H, SANTOS HP, DE OLIVEIRA EAA, et al. **High prevalence of subclinical paratuberculosis in buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Maranhão, Brazil** [published online ahead of print, Apr 14]. *Braz J Microbiol.* 2020;10.1007/s42770-020-00267-4. doi:10.1007/s42770-020-00267-4

MOTA, R. A. et al. **Ocorrência de paratuberculose em búfalos (*Bubalus bubalis*) em Pernambuco.** *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 30, n. 3, p. 237–242, 2010.

OTT, S. L.; WELLS, S. J.; WAGNER, B. A. **Herd-level economic losses associated with Johne's disease on US dairy operations.** *Preventive Veterinary Medicine*, v. 40, n. 3–4, p. 179–192, 1999.

PODDER, M. P. et al. **Typing of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis isolates from Newfoundland using fragment analysis.** *PLoS ONE*, v. 10, n. 4, p. 1–11, 2015.

RANI, P. S.; SECHI, L. a; AHMED, N. ***Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis as a trigger of type-1 diabetes: destination Sardinia, or beyond?** *Gut pathogens*, v. 2, p. 1, 2010.

REIS, A. S. B. et al. **Diagnóstico de paratuberculose por biópsia retal em búfalos.** *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 35, n. 10, p. 823–828, 2015.

SECHI, L. A.; DOW, C. T. ***Mycobacterium avium* ss. paratuberculosis Zoonosis - The Hundred Year War - Beyond Crohn's Disease.** *Frontiers in Immunology*, v. 6, n. MAR, p. 1–8, 2015.

SEVILLA, I. et al. **Molecular typing of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis strains from different hosts and regions.** *Revue Scientifique Et Technique*, v. 24, n. January 2006, 2005.

SINGH, S. V. et al. **Genotype profiles of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis isolates recovered from animals, commercial milk, and human beings in North India.** *International Journal of Infectious Diseases*, v. 13, n. 5, 2009.

SISTO, M. et al. **Proposing a relationship between *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis infection and Hashimoto's thyroiditis.** *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, v. 42, n. 10, p. 787–790, 2010.

SOHAL, J. S. et al. **Genetic structure of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis population in cattle herds in Quebec as revealed by using a combination of multilocus genomic analyses.** *Journal of Clinical Microbiology*, v. 52, n. 8, p. 2764–2775, 2014.

SOUZA, M. C. C. et al. **Molecular typing of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis (MAP) isolated from dairy goats in Brazil.** *Small Ruminant Research*, v. 140, p. 18–21, 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0921448816301201>>.

STEVENSON, K. **Genetic diversity of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis and the influence of strain type on infection and pathogenesis: A review.** *Veterinary Research*, p. 1–13, 2015. Disponível em: <????>.

SUNG, N.; COLLINS, M. T. **Thermal tolerance of *Mycobacterium paratuberculosis***. Applied and Environmental Microbiology, v. 64, n. 3, p. 999–1005, 1998.

SUNG, N.; COLLINS, M. T. **Effect of Three Factors in Cheese Production (pH, Salt, and Heat) on *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Viability**. Applied and Environmental Microbiology, v. 66, n. 4, p. 1334–1339, 2000.

TADDEI, R. et al. ***Mycobacterium porcinum* strains isolated from bovine bulk milk: Implications for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* detection by PCR and culture**. Veterinary Microbiology, v. 130, n. 3–4, p. 338–347, 2008.

WADDELL, L. A. et al. **The potential Public Health Impact of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*: Global Opinion Survey of Topic Specialists**. Zoonoses and Public Health, v. 63, n. 3, p. 212–222, 2016.

CAPÍTULO 8

PROCESSOS DE VITRIFICAÇÃO DE OÓCITOS E EMBRIÕES: O QUE VOCÊ PRECISA SABER

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 16/10/2020

Mariana Mendonça Maia Cavalcante

Centro Universitário Cesmac, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Biotecnologia em Saúde Humana e Animal
Maceió - AL
<http://lattes.cnpq.br/1533347531534605>

Marcio Calixto Matias

Universidade Federal de Alagoas, Laboratório de Reprodução Animal
Viçosa – AL
<http://lattes.cnpq.br/0961151851243268>

Agnelo Douglas do Nascimento Junior

Universidade Federal de Minas Gerais, Laboratório de Biotecnologia e Reprodução Animal Assistida
Viçosa – AL
<http://lattes.cnpq.br/3940945010357440>

Sandra Simone de Barros Lima

Clínica Veterinária Pet House
Maceió – AL
<http://lattes.cnpq.br/4129948813545504>

Simone Firmino dos Santos

Clínica Veterinária Pet House
Maceió - AL

Gilsan Aparecida de Oliveira

Centro Universitário Cesmac, Curso de Medicina Veterinária
Maceió - AL
<http://lattes.cnpq.br/8979509592333260>

Raíssa Karolliny Salgueiro Cruz

Centro Universitário Cesmac, Curso de Medicina Veterinária
Maceió - AL
<http://lattes.cnpq.br/7282487880446301>

Zelma Holanda do Nascimento

Centro Universitário Cesmac, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Biotecnologia em Saúde Humana e Animal
Maceió – AL
<http://lattes.cnpq.br/7335007873484700>

Camila Calado de Vasconcelos

Centro Universitário Cesmac, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Biotecnologia em Saúde Humana e Animal
Maceió – AL
<http://lattes.cnpq.br/8719460134313389>

Valesca Barreto Luz

Centro Universitário Cesmac, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Biotecnologia em Saúde Humana e Animal
Maceió – AL
<http://lattes.cnpq.br/4488802815016137>

RESUMO: A vitrificação consiste em um método de preservação de amostras biológicas ultrarrápido, barato, e fácil de ser realizado que permite o armazenamento por tempo indeterminado dessas amostras para uso futuro. Existem distintos procedimentos de vitrificação usando diferentes formulações de meios adequadas às espécies bem como diversos dispositivos para vitrificação, que são agrupados e classificados em sistema abertos

e fechados. Diante dessa variedade, objetivou-se na presente revisão reunir e relatar sobre a técnica de vitrificação em suas variantes de procedimentos. Para tanto foram consultadas publicações dos últimos 20 anos nas bases de dados como Google Acadêmico, SciELO e PubMed e PubVet. Ambas as técnicas de vitrificação tanto aberta como fechada, se bem conduzidas, alcançam resultados semelhantes. Dessa maneira, a escolha de uma técnica ou outra, vai depender da familiaridade do manipulador com a técnica, dos objetivos a serem alcançados com a vitrificação, e relação custo/benefício relacionada a cada espécie.

PALAVRAS-CHAVE: Criopreservação, Germoplasma, Ovário.

OOCYTE AND EMBRYO VITRIFICATION PROCESSES: WHAT YOU NEED TO KNOW

ABSTRACT: The vitrification consists of an ultra-fast, inexpensive, and easy-to-be-performed of a biological sample preservation method that allows indefinite storage of these samples for future use. There are different vitrification procedures using different formulations which are suitable for the species as well as various devices for vitrification. Vitrification technique is grouped and classified in open and closed system. In view of this variety, the aim of this review was to gather and report on the vitrification technique and its procedure variants. Publications from the last 20 years were consulted in the databases such as Google Scholar, SciELO and PubMed and PubVet. Both open and closed vitrification techniques, if well conducted, achieve similar results. Thus, the choice of one technique or another will depend on the familiarity of the handler with the technique, the objectives to be achieved with the vitrification, and cost/benefit ratio related to each species.

KEYWORDS: Cryopreservation, Germplasm, Ovary.

1 | INTRODUÇÃO

A técnica de vitrificação é a produção de um estado vítreo amorfo por meio da solidificação de uma solução conseguida por uma combinação de uma alta concentração de agentes crioprotetores (ACPs) pelo qual um fluido eleva de maneira extrema a sua viscosidade quando submetido a baixas temperaturas numa taxa de velocidade de resfriamento de 2500°C/min, estabilizando na temperatura de -196°C. O estado vítreo permite que o fluido tenha características mecânicas de um sólido, já que parte das cadeias moleculares se encontra desorganizada e há uma certa flexibilidade entre as moléculas (KHALILI *et al.*, 2017; ARAYATHAM, TIPTAVAVATANNA, THARASANIT, 2017; PALMA, 2008).

Com o objetivo de evitar a formação de cristais de gelo no ooplasma e também no meio extracelular, bem como impedir o rompimento da membrana plasmática, por conseguinte, danos celulares irreversíveis, a vitrificação de oócitos foi desenvolvida e aplicada como uma técnica inovadora no âmbito científico (CARVALHO *et al.*, 2011).

Diante disto, a vitrificação permite uma melhor estocagem de material genético para a formação de bancos de germoplasma (gametas e embriões) e com esta finalidade se caracteriza como a técnica mais viável de criopreservação por propiciar taxa de sobrevivência, implantação e taxa de gestação significativamente mais altas do que a congelação lenta (KHALILI *et al.*, 2017; LEVI-SETTI, PATRIZIO, SCARAVELLI, 2016).

Existem distintos processos de vitrificação usando diferentes formulações de meios adequadas as espécies bem como diversos dispositivos para vitrificação. Mas, basicamente os procedimentos se dividem em: sistemas de vitrificação abertos e fechados (CARVALHO *et al.*, 2011; ARGYLE, HARPER, DAVIES, 2016). Diante da relevância da importância desse processo, objetivou-se resumir e relatar sobre a técnica de vitrificação em suas variantes de procedimentos.

2 | REVISÃO DE LITERATURA

Tipos de vitrificação

A vitrificação aberta envolve o contato direto entre oócitos ou embriões e o nitrogênio líquido, usando dispositivos que comportam apenas uma pequena quantidade de material a ser vitrificado, com a vantagem de promover uma curva de resfriamento mais rápida, de tal forma que o tempo de contato dos oócitos com os ACPs a temperatura ambiente é abreviado, com isso, diminui-se a citotoxicidade dos mesmos (ZHE *et al.*, 2019; YOUM *et al.*, 2018).

Em contrapartida, a vitrificação fechada envolve o contato indireto entre oócitos ou embriões e o nitrogênio líquido utilizando sistemas de tubulação. Esse tipo de vitrificação tem por vantagem minimizar o risco de transmissão microbiológica através de nitrogênio líquido durante os procedimentos de resfriamento, armazenamento e aquecimento. Visto que a maioria dos microrganismos pode sobreviver em temperaturas baixas e crioprotetores ou componentes do meio podem protegê-los de lesões. Por essa razão, muitas estratégias têm sido desenvolvidas para evitar o contato direto das células, tanto na vitrificação quanto no armazenamento (GHASEM *et al.*, 2013; ARGYLE *et al.*, 2016; YOUM *et al.*, 2018; CASTELLÓ *et al.*, 2018).

Entretanto, essa proteção extra conferida pelo sistema de vitrificação fechado também resulta em uma diminuição da velocidade de resfriamento que pode reduzir a eficácia do protocolo de vitrificação (GHASEM *et al.*, 2013; ARGYLE *et al.*, 2016; YOUM *et al.*, 2018).

2.1 Sistemas de vitrificação aberta

Vitrificação em palhetas abertas

Consiste na utilização de uma palheta fabricada e adaptada de maneira artesanal, seja com a utilização de uma lâmina de bisturi ou de uma lâmina de barbear. De modo que a extremidade da palheta, onde ficarão os óocitos juntamente com o meio de vitrificação, assume um formato de bisel, destacando que essa extremidade não é selada (figura 1). Esse processo foi desenvolvido com o intuito de se obter uma velocidade de criopreservação ainda mais rápida e eficiente, para se evitar a formação de cristais de gelo (AMID *et al.*, 2018).



Figura 1. Palheta aberta.

Fonte: AUTORA, 2020.

Pipetas de desnudamento flexipet

Sua formato e intuito de utilização é bastante similar à vitrificação em palhetas abertas descritas anteriormente, com a única diferença de que as pipetas de desnudamento *flexipet* não são fabricadas de modo artesanal, mas, de modo industrial (figura 2) com o intuito de serem empregadas na manipulação de embriões (CARVALHO *et al.*, 2011).



Figura 2. Flexipet.

Fonte: https://www.cookmedical.com/products/wh_fpip3_webds/ Acesso em 09/10/2020.

Vitrificação por cobertura direta

A técnica baseia-se em submeter os criotubos com a tampa aberta, contendo o material a ser vitrificado juntamente com os ACPs escolhidos, em nitrogênio líquido (figura 3). Como a tampa não é fechada justamente para permitir o contato do nitrogênio líquido com os oócitos e, dessa forma, possibilitar uma redução brusca de temperatura. Minimiza-se a toxicidade dos ACPs pela aplicação de menor volume dos mesmos (GHAVAMI *et al.*, 2015).



Figura 3. Vitrificação por cobertura direta

Fonte: CHEN *et al.*, 2006.

Cryoloops

Considerados os dispositivos mais adaptáveis para vitrificação disponíveis devido à possibilidade de personalização necessária para cada amostra. Corresponde a utilização de um laço de nylon de 0.5-0.7 milímetros de diâmetro, montado em um tubo de aço inoxidável pequeno introduzido na tampa de um criotubo (figura 4) (LIU *et al.*, 2011). O centro do laço deve ser preenchido com um meio de vitrificação e os embriões são adicionados com o auxílio de uma micropipeta, formando uma tensão superficial, que impedirá o extravasamento destes. Destaca-se que o tempo cujo blastocistos são mantidos no laço em contato com o ar deve ser o mais curto possível, porque a solução evapora facilmente (CARVALHO *et al.*, 2011; MUKAIDA *et al.*, 2002).

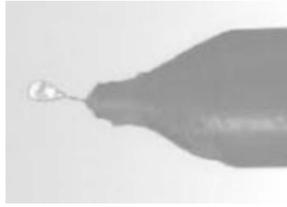


Figura 4. Cryoloop

Fonte: Adaptado de KARAIN *et al.*, 2002

Vitrificação em espátula

Para a montagem dessa espátula, a ponta de uma ponteira de carregamento de gel é esmagada com o auxílio de dois fórceps finos, suavemente aquecidos com um bico de Bunsen para gerar uma ponta achatada em formato de pétala de 1 mm² (figura 5). A borda distal deve ser selada por calor para evitar infiltração líquida e a outra extremidade da ponteira de carregamento de gel é removida para encurtar o talo da espátula (TSANG e CHOW, 2009).

Esse processo foi desenvolvido para suportar uma maior quantidade de oócitos ao passo que viabiliza uma velocidade de criopreservação rápida e eficiente com volume e tempo de exposição ao ACPs em temperatura ambiente reduzidos. Mostrou-se uma técnica artesanal útil e simples para a vitrificação de embriões murinos de 2 células e de 8 células produzidos *in vitro* ou *in vivo* (MEIKLE *et al.* 2018). Como desvantagem as espátulas são unicamente produzidas de modo artesanal levando em torno de 1 a 2 minutos sua produção (TSANG e CHOW, 2009).

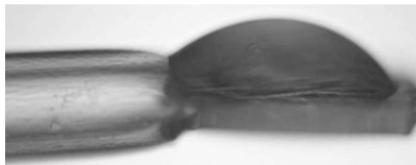


Figura 5. Vitrificação em espátula

Fonte: TSANG e CHOW, 2009.

Cryotop

Constitui-se num dispositivo desenvolvido para permitir a vitrificação de amostras com um volume mínimo 0,1 µL, proporcionando não apenas melhores taxas de resfriamento e aquecimento (-23.000° C/minuto e 42. 000°C/minuto respectivamente), mas, também menor toxicidade dos ACPs, conseqüentemente,

melhores taxas de sobrevivência. O sistema possui duas vertentes diferentes: aberta e fechada. Sendo a aberta, composta por uma palheta de plástico resistente a criotemperatura associada a uma haste plástica utilizada para a manipulação, que evita o contato direto da mão do manipulador com a palheta (figura 6) (KUWAYAMA *et al.*, 2005).



Figura 6. Cryotop de sistema aberto

Fonte: ANTINORI, 2007.

2.2 Sistemas de vitrificação fechados:

Vitrificação convencional

Consiste no enchimento de palhetas francesas e/ou criotubos com os ACPs juntamente do material a ser vitrificado (figura 7). Essas devem, então, ser seladas antes de serem submetidas ao nitrogênio líquido (ARGYLE *et al.*, 2016; ISHIJIMA *et al.*, 2006).

Adaptações no método foram desenvolvidas com o intuito de diminuir a quantidade de ACPs e, por conseguinte, sua toxicidade à célula, como o método da hemi-palheta, que consiste em cortar pela metade uma palheta francesa de 0,25 mL em formato de bisel e pipetar uma gota contendo o material a ser vitrificado com o ACP para então submergir em nitrogênio líquido. Alguns autores relatam que, antes de submergir a palheta em nitrogênio líquido, é necessário ainda inseri-la em uma palheta de 0,5 mL (CARVALHO *et al.*, 2011).



Figura 7: Criotubo sistema fechado

Fonte: AUTORA, 2020

Vitrificação em palhetas fechadas

Por ser um método fechado, carrega as vantagens e desvantagens desse tipo de vitrificação, consistindo na utilização de uma palheta fabricada de modo artesanal, a partir de uma palheta francesa, com o auxílio do calor para que fique alongada e a máxima eficiência quanto a velocidade de criopreservação seja alcançada (GHASEM *et al.*, 2013). Após a deposição dos oócitos juntamente com a solução crioprotetora, faz-se a retirada do excesso de meio na palheta artesanal por capilaridade, e então fecha-se sua extremidade para que o nitrogênio líquido e seus vapores não penetrem no interior da mesma (figura 8) (CARVALHO *et al.*, 2011).



Figura 8: Palheta fechada

Fonte: AUTORA, 2020

Cryotop

O *Cryotop* em sistema fechado consiste em um plástico firme formando a palheta e a haste de manipulação em que é adicionada uma fina película transparente, de maneira a revestir toda a estrutura da palheta-haste, impedindo o contato com o nitrogênio líquido, diminuindo as chances de contaminação do material vitrificado (figura 9) (AMIDI, KHODABANDEH, MOGAHI, 2018).

Castelló *et al.* (2018) ao comparar o *Cryotop* sistema fechado com o *Cryotop* sistema aberto conseguiram dados análogos no que diz respeito à taxa de sobrevivência do embrião (inclusive, utilizando-se embriões com ativação partenogênica), integridade do eixo cromossômico e potencial de desenvolvimento de embriões.



Figura 9. Cryotop em sistema fechado

Fonte: ANTINORI, 2007

3 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar da técnica de vitrificação de oócitos ser mais dependente da habilidade do manipulador do que no método de congelação lenta, esta se mostra mais eficaz em reduzir os danos celulares ocasionados por baixas temperaturas.

Ambas as técnicas de vitrificação tanto aberta como fechada, se bem conduzidas, alcançam resultados semelhantes no que diz respeito às taxas para integridade da membrana plasmática, competência oocitária e danos oocitários em geral, ressaltando algumas diferenças pontuais.

Dessa forma, a preferência de utilização de uma técnica ou outra, vai depender da familiaridade do manipulador com a técnica, dos objetivos a serem alcançados com a vitrificação, e relação custo/benefício relacionada a cada espécie e localidade a ser aplicada a técnica.

REFERÊNCIAS

ANTINORI, M. *et al.* Cryotop vitrification of human oocytes results in high survival rate and healthy deliveries. **Reproductive BioMedicine Online**, vol. 14, n. 1, p. 72-79, 2007.

ARAYATHAN, S.; TIPTAVAVATANNA, N.; THARASANIT, T. Effects of vitrification and a Rho-associated coiled-coil containing protein kinase 1 inhibitor on the meiotic and developmental competence of feline oocytes. **J Reprod Dev**, vol. 63, n. 5, p. 511-517, out. 2017.

ARGYLE, C. E.; HARPER, J. C.; DAVIES, M. C. Oocyte cryopreservation: where are we now? **Human Reproduction Update**, vol. 22, n. 4, p. 440-449, jul./ago. 2016.

CARVALHO, A. A. *et al.* Vitrificação: uma alternativa para a preservação de embriões e material genético de fêmeas mamíferas em criobancos. **Acta Veterinaria Brasileira**, v.5, n.3, p.236-248, 2011.

CASTELLÓ, D. *et al.* Pre-clinical validation of a closed surface system (Cryotop SC) for the vitrification of oocytes and embryos in the mouse model. **Cryobiology**, vol. 81, p. 107-116, 2018.

CHEN, S. *et al.* Novel direct cover vitrification for cryopreservation of ovarian tissues increases follicle viability and pregnancy capability in mice. **Human Reproduction**, vol. 21, n. 11, p. 2794-2800, 2006.

GHASEM, S.; NEGAR, K. Effect of vitrification on number of inner cell mass in mouse blastocysts in conventional straw, closed pulled straw, open pulled straw and cryoloop carriers. **Journal of Pakistan Medical Association**, vol. 63, n. 4, abr. 2013.

GROSS, E., PIRES, M., FERNANDES, V. **Curso Teórico Prático de Técnicas em Microscopia Eletrônica**. Centro de Microscopia Eletrônica - Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus – Bahia, Março 2014.

ISHIJIMA, T. *et al.* Cryopreservation of canine ovaries by vitrification. **J Reprod Dev**, vol. 52, n. 2, p. 293-299, 2006.

KHALILI, M. A. *et al.* Vitrification of human immature oocytes before and after in vitro maturation: a review. **J Assist Reprod Genet**, vol. 34, n. 11, p. 1413-1426, nov. 2017.

KUWAYAMA, M. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. **Reproductive BioMedicine Online**, vol. 11, n. 3, p. 300-308, 2005.

LEVI-SETTI, P.; PATRIZIO, P.; SCARAVELLI, G. Evolution of human oocyte cryopreservation: slow freezing versus vitrification. **Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity**, vol. 23, n. 6, p.445–450, dez. 2016.

LIU, L. *et al.* Successful cryoloop vitrification and subsequent in vitro maturation of mouse preantral follicles. **Syst Biol Reprod Med**, vol. 57, n. 3, p. 149-153, 2011.

MEIKLE, M. N. *et al.* Minimum Volume Spatula MVD Vitrification Method Improves Embryo Survival Compared to Traditional Slow Freezing, Both for in Vivo and in Vitro Produced Mice Embryos. **Cryobiology**, vol. 84, p. 77-81, out. 2018.

MUKAIDA, T. Blastocyst cryopreservation: ultrarapid vitrification using cryoloop technique. **Reproductive BioMedicine Online**, vol 6, n. 2, p. 221–225, 2002.

PALMA, G. A. **Producción in vitro de embriones bovinos**. In: Biotecnología de la reproducción. 2ª ed. Mar del Plata - Argentina, p. 313-380, 2008.

YOUM, H. S. *et al.* Closed versus open vitrification for human blastocyst cryopreservation: A meta-analysis. **Cryobiology**, vol. 77, p. 64-70, ago. 2018.

ZHE, J. *et al.* [Causes of oocyte vitrification and its value in assisted reproductive technology]. **Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao**, vol. 39, n. 7, p. 766-771, 2019.

CAPÍTULO 9

OVINOCULTURA: PRINCIPAIS HELMINTOS GASTRINTESTINAIS ENCONTRADOS NA CAMPANHA GAÚCHA

Data de aceite: 01/12/2020

Brenda Luciana Alves da Silva

Universidade Federal do Pampa
Dom Pedrito – Rio Grande do Sul

Mikaele Simas Santos

Universidade Federal do Pampa
Dom Pedrito – Rio Grande do Sul

Gustavo Freitas Lopes

Universidade Federal do Pampa
Dom Pedrito – Rio Grande do Sul

Gladis Ferreira Corrêa

Universidade Federal do Pampa
Dom Pedrito – Rio Grande do Sul

Lourdes Caruccio Hirschmann

Universidade Federal do Pampa
Dom Pedrito – Rio Grande do Sul

Marcele Ribeiro Corrêa

Universidade Federal do Pampa
Dom Pedrito – Rio Grande do Sul

Anelise Afonso Martins

Universidade Federal do Pampa
Dom Pedrito – Rio Grande do Sul

RESUMO: A ovinocultura é um sistema de criação explorado para produção de carne, leite e lã que tem grandes perspectivas de lucratividade, no entanto, existem entraves limitando sua expansão, dentre eles, as endoparasitoses gastrintestinais. Com isso, objetivou-se identificar os principais parasitas gastrointestinais em

ovinos naturalmente infectados de Dom Pedrito/RS e região. No período de setembro de 2018 a dezembro de 2019, no Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal do Pampa, campus Dom Pedrito, foram recebidas amostras de fezes, provenientes de ovinos machos e fêmeas, com idades entre 2 meses e seis anos. Durante o período foram recebidas para análise parasitológica um total de 2177 amostras de ovinos, deste total 63% eram provenientes de animais adultos e 37% de jovens. As amostras foram submetidas às técnicas de quantificação de ovos de helmintos por gramas de fezes (OPG), oocistos de coccídeos por grama de fezes (OOPG) e coprocultura para identificação dos parasitas presentes nos animais. A *Eimeria spp* foi o gênero de coccídeo encontrado em 100% das amostras, quanto aos ovos de helmintos encontrados nas amostras foi possível verificar que 79% eram pertencentes ao filo Nematoda e 21 % ao filo Cestoda. Verificou-se que os ovinos são acometidos tanto por helmintos quanto por coccídeos na região estudada, da mesma forma verificou-se que os animais jovens apresentaram maior susceptibilidade as parasitoses, demonstrando a necessidade de controle para aumentar a produtividade do rebanho.

PALAVRAS-CHAVE: Ovinocultura, Verminose, Coccídeo, *Haemochus spp*.

SHEEP FARMING: MAIN GASTRINTESTINAL HELMINTHS FOUND IN THE RIO GRANDE DO SUL CAMPAIGN

ABSTRACT: Sheep farming is a farming system exploited for the production of meat, milk and

wool which has great prospects for profitability, however there are obstacles limiting its expansion, among them, gastrointestinal endoparasitoses. Thus, the objective was to identify the main gastrointestinal parasites in naturally infected sheep from Dom Pedrito / RS and region. From September 2018 to Dezembro 2019, at the Parasitology Laboratory of the Federal University of Pampa, feces samples were received, from male and female sheep, aged between 2 months and six years. During the analyzed period, a total of 2177 sheep samples were received for parasitological analysis, of which 63% came from adult animals and 37% from young animals. The samples were submitted to helminth egg quantification techniques per gram of feces (OPG), coccid oocysts per gram of feces (OOPG) and co-culture to identify the parasites present in the animals. *Eimeria* spp was the coccid genus found in 100% of the samples and as for helminth eggs found in the samples, it was possible to verify that 79% belonged to the phylum Nematoda and 21% to the phylum Cestoda. It was found that sheep are affected by both helminths and coccids in the studied region, demonstrating the need to control these parasites in animals to increase the productivity of the herd.

KEYWORDS: Ovinoculture, Verminose, Coccid, *Haemochus* spp.

1 | INTRODUÇÃO

A ovinocultura é um sistema de criação explorado para produção de carne, leite e lã que tem grandes perspectivas de lucratividade, possibilitada pelo incremento gradativo do uso de tecnologias com o objetivo de aumentar a produção. Na pecuária é uma atividade facilitada pela exigência de menor extensão de área de pastagem e que suporta maior carga animal por área quando comparada a grandes ruminantes (GIANLORENÇO, 2013).

No entanto, existem alguns entraves limitando sua expansão, dentre eles, levando em consideração a sanidade dos ovinos. As endoparasitoses gastrintestinais possuem grande importância pelas perdas econômicas ocasionadas, resultam no desenvolvimento inadequado dos animais através da perda de peso e baixa conversão alimentar, diminuição nos índices reprodutivos, diminuição da resistência a outros agentes infecciosos e em casos severos a morte do animal, influenciando diretamente na produtividade da ovinocultura (VILELA et al., 2012).

Algumas das condições que facilitam o parasitismo e à permanência dos parasitas nos animais são clima favorável ao desenvolvimento das formas infectantes no ambiente, idade e estado fisiológico dos animais, alta taxa de lotação animal e estado nutricional deficiente (OSAKA et al 2008).

O trato gastrintestinal dos ovinos é parasitado por várias espécies de helmintos e de protozoários, o qual pode ocorrer concomitantemente, sendo os animais jovens, ovelhas parturientes e animais subnutridos os mais suscetíveis (SMITH, 1993).

Os principais helmintos nematódeos de ovinos encontrados na região

sul do Brasil são o *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Strongyloides spp*, *Ostertagia ostertagi*, *Cooperia curticei*, *Nematodirus spatigher* e *Oesophagostomum venulosum*. Sendo que o *Haemonchus contortus* se destaca por possuir maior prevalência no parasitismo e ser considerado o mais patogênico por ser hematófago e ocasionar grandes problemas para os ovinos como anemia, hipoproteinemia, diarreia, ascite e morte em casos graves principalmente em animais jovens por serem mais suscetíveis (DOMINGUES et al., 2013).

Considerando os protozoários, os coccídeos do gênero *Eimeria*, necessitam ser identificados e controlados dentro do sistema de produção, pois causam grandes alterações no desenvolvimento dos animais principalmente jovens pela inabilidade do sistema imunológico em combater esses parasitas podendo ocasionar a doença clínica ou subclínica. Existem várias espécies do gênero *Eimeria*, no entanto, as mais patogênicas relacionadas as infecções clínicas são a *E. ovinoidalis* e a *E. crandallis* (ANDREWS, 2013).

O diagnóstico das parasitoses consiste em aspectos epidemiológicos, sinais clínicos e identificação dos parasitas, que pode ser através de técnicas laboratoriais como quantificação de ovos de helmintos por grama de fezes (OPG) e quantificação de oocistos de coccídeos por grama de fezes (OOPG), considerado um dos métodos mais utilizados e de simples execução, utilizado tanto para diagnóstico quanto para teste de resistência à antiparasitários (AMARANTE, 2005).

Considerando os problemas e prejuízos que os helmintos e coccídeos representam para a ovinocultura, o presente trabalho objetivou identificar os principais parasitas gastrointestinais em ovinos naturalmente infectados provenientes de propriedades rurais de Dom Pedrito/RS e região.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

No período de setembro de 2018 a dezembro de 2019, no Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal do Pampa, Campus Dom Pedrito/RS, foram recebidas amostras de fezes, provenientes de ovinos machos e fêmeas, com idades entre 2 meses e seis anos, pertencentes a propriedades particulares de Dom Pedrito e região.

As amostras de fezes para análises coproparasitológicas foram coletadas individualmente, direto da ampola retal dos ovinos, identificadas, acondicionadas em caixas isotérmicas e encaminhadas ao Laboratório.

Posteriormente foram submetidas às técnicas de quantificação de ovos de helmintos por gramas de fezes (OPG) e oocistos de coccídeos por grama de fezes (OOPG) segundo (GORDON E WHITLOCK, 1939), modificado e coprocultura para identificação dos parasitas presentes nos animais (ROBERTS E O'SULLIVAN,

1950).

Para a realização do OPG e OOPG foram utilizadas 2g de fezes e 58 ml de solução hipersaturada de Cloreto de Sódio (NaCl), por amostra, utilizou-se câmaras de McMaster para a realização da contagem, e o número de ovos encontrados foram multiplicados por 100. Enquanto para a identificação dos nematódeos gastrintestinais encontrados realizou-se a coprocultura, no qual um *pool* de fezes foi incubado em estufa à temperatura de 24°C por um período de aproximadamente 12 dias, posteriormente realizou-se a recuperação e identificação das larvas infectantes (L₃) presentes nas amostras.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

Durante o período analisado foram recebidas para análise parasitológica um total de 2177 amostras de ovinos, deste total 1379 (63%) eram provenientes de animais adultos (com mais de três anos) e 798 (37%) de jovens (entre dois meses e 3 anos).

Foi observado nas avaliações que conforme a categoria animal houve diferença na quantidade de ovos de helmintos e coccídeos encontrados nas amostras de fezes dos animais, tabela 1.

Categorial animal	Amostras Recebidas	Média Geral OPG	Média Geral OOPG
Adultos	1378	1.134	78,78
Jovens	798	1.596	2.686
Total	2177	1.319	1.121,71

Tabela 1 – Quantificação de ovos de parasitas por grama de fezes encontrados nos ovinos conforme a categoria dos animais. OPG: ovos de helmintos por grama de fezes; OoPG: oocistos de coccídeos por grama de fezes.

Fonte: Autor, 2020

Foram encontrados oocistos de coccídeos em 91%% das amostras analisadas, sendo que a categoria de jovens apresentou ovos em 98,5% das amostras e na categoria adulto foi observado em 86,4% das amostras.

A diferença na quantificação de oocistos de coccídeos (OoPG) encontrada entre a categoria jovens e adultas, conforme verificado na tabela 1, provavelmente ocorreu pela suscetibilidade de animais jovens, uma vez que essa categoria não possui o sistema imunológico totalmente competente e com isso é sensível a ação dos parasitas (ANDREWS, 2013). Da mesma forma outros autores encontraram a

presença de coccídeos nas fezes analisadas e obtiveram a média maior em animais jovens (MARTINS, G. F. et al, 2011; ANDREWS, 2013).

A *Eimeria spp* foi o gênero de coccídeo encontrado em 100% das amostras analisadas pela técnica de OOPG, não foi verificado no presente trabalho a espécie de maior ocorrência.

A Eimeriose uma das enfermidades causada pelos coccídeos é responsável por ocasionar grandes perdas ao produtor, uma vez que, causa retardo no crescimento dos animais e em alguns casos pela diarreia profusa e desidratação pode ocasionar a morte dos mesmos (DAUGSCHIES; NAJDROWSKI, 2005; LAGARES, 2008). Em casos menos graves, os cordeiros apresentam baixo desempenho, necessitando de maior tempo para alcançar peso igual ao daqueles não infectados da mesma idade com mesmo tipo de manejo (CHARTIER; PARAUD 2012).

A ingestão de oocistos de *Eimeria* através de alimentos e água contaminados por fezes dos ovinos, está diretamente relacionada com a infecção dos animais, com isso, comedouros e bebedouros em locais inadequados são possíveis fonte perpetuação da doença no rebanho (DENIZ A, 2009; MOREIRA, et al. 2019).

Comparado a média do OPG dos ovinos, nas categorias analisadas, foi observado valores médios parecidos e acima do recomendado de 500 ovos por grama de fezes. Mesmo os jovens sendo mais suscetíveis a infecções por parasitas, infelizmente, há muitos rebanhos adultos com sensibilidade a infecção parasitária e resistência dos parasitas a ação dos anti-helmínticos, fazendo com que o OPG se mantenha sempre elevado, ocasionando perdas, mesmo na categoria adulta (OSAKA et al 2008).

Quanto aos ovos de helmintos encontrados nas amostras de fezes, foi possível verificar que a maioria era pertencente ao filo Nematoda seguido do filo Cestoda, desse último 100% eram tênia do gênero *Moniezia expansa*. (Figura 1).

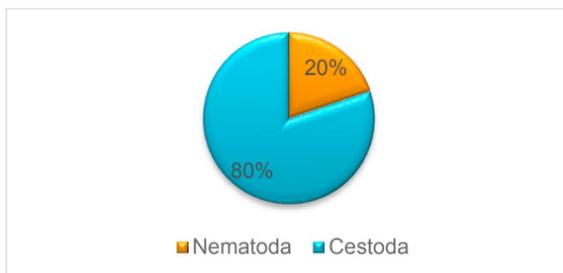


Figura 1. Frequência de helmintos encontrados em ovinos naturalmente infectados na campanha gaúcha.

Na figura 2 estão representados a frequência dos nematódeos encontrados nos ovinos, independente da categoria animal, pois em ambas a frequência foi semelhante, provavelmente por permanecerem nos mesmos ambientes.

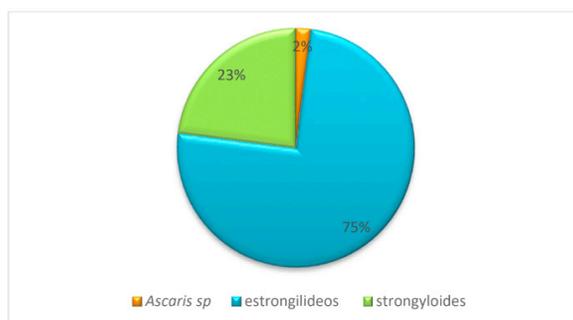


Figura 2. Frequência de nematódeos gastrintestinais encontrados em ovinos naturalmente infectados na campanha gaúcha

Foi realizada a coprocultura das amostras de fezes para a identificação dos Estrongilídeos encontrados, com isso verificou-se uma maior frequência do gênero *Haemonchus sp.* (69%) seguido do *Trichostrongylus sp.* (25%), *Cooperia spp.* (2%), *Ostertagia sp.* (2%), *Oesophagostomum sp* (1%) e *Nematodirus sp* (1%). Os resultados do presente estudo são semelhantes aos encontrados por Sczesny-Moraes et al, 2010, onde identificaram com maior prevalência os gêneros *Haemonchus* e *Trichostrongylus* em rebanho ovino naturalmente infectado.

O *Haemonchus sp.* é um dos principais entraves quando pensa-se em parasitose gastrointestinal, pois é responsável por perdas significativas nas propriedades de ovinocultura, uma vez que é um parasita hematófago que causa anemia, hipoproteïnemia e conseqüentemente favorece outras infecções secundárias, podendo ocasionar o retardo no desenvolvimento zootécnico do animal ou até mesmo a morte em casos severos (Roberto, et.al, 2018; OSAKA et al 2008).

4 | CONCLUSÃO

Verificou-se que os ovinos são acometidos tanto por helmintos quanto por coccídeos na região estudada, sendo os animais jovens mais suscetíveis a eimeriose do que os adultos. Da mesma forma, observou-se que os ovinos, no período estudado, em ambas categorias, encontravam-se com a média de OPG elevada onde o gênero *Haemochus sp* foi o de maior prevalência. Demonstrando a necessidade de controle dessas parasitoses nos animais para aumentar a produtividade do rebanho

REFERÊNCIAS

- AMARANTE, A. F. T. In: **SIMPÓSIO DE CAPRINOS E OVINOS DA ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG**, Belo Horizonte, 1., 2005, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2005. 14 f.1
- ANDREWS, A.H. **Some aspect of coccidiosis in sheep and goats**. Small Ruminant Research, v.110, p. 93-95, 2013.
- DAUGSCHIES, A.; NAJDROWSKI, M. Eimeriosis in **cattle: current understanding**. Journal of Veterinary Medicine Series B Berlin, v. 52, n. 1, p. 417- 427, Dec. 2005.
- DENIZ A. **Coccidiose ovina: revisão bibliográfica**. Albéitar 2009; 3: 4-11.
- DOMINGUES, L. F.; GIGLIOTI, R.; FEITOSA, K. A.; FANTATTO, R. R.; RABELO, M. D.; DE SENA OLIVEIRA, M. C., DE SOUZA CHAGAS, A. C. **In vitro and in vivo evaluation of the activity of pineapple (Ananascomosus) on Haemonchus contortus in Santa Inês sheep**. Veterinary Parasitology, 193:263-270, 2013.
- FRANCISCA FERNANDA DA SILVA ROBERTO, GELSON DOS SANTOS DIFANTE, LILIAN GIOTTO ZAROS, ANTONIO LEANDRO CHAVES GURGEL. Nematoides gastrintestinais na ovinocultura de corte sob regime de pastejo*. PubVET. v. 12 No. 04 p. 147 (2018).
- GIANLORENÇO, V. K. **Produção de carne ovina pode ser mais rentável que bovina**. São Paulo: SEBRAE, 2013. Disponível em: Acesso em: 7 set. 2019.
- GORDON, H. M.; WHITLOCK, H. V. **A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces**. Journal of the Council for Scientific Industrial Research, 12:50-52, 1939.
- LAGARES AFBF. **Parasitoses de pequenos ruminantes na região da cova da beira** [Dissertação]. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária, universidade Técnica de Lisboa; 2008.
- MARTINS, G.F. et al. **Frequência de oocisto de Eimeria spp. em ovinos de propriedades rurais do Município de Uberlândia-MG**. PUBVET, Londrina, V. 5, N. 7, Ed. 154, Art. 1038, 2011.
- MOREIRA, D. O.; RODRIGUES, F. L.; SILVA, L. P.; CORREA; HIRSCHMANN, L. C; MARTINS, A. A. **Avaliação da contaminação de oocistos de coccídeos em ambiente destinado ao abrigo de ovinos**. In: 11ºSalão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, 2019, Santana do Livramento.
- OSAKA, D.M., MACEDO, V.P., ZUNDT, M. et al. **Verminose ovina com ênfase em haemoncose: uma revisão**. PUBVET, 2(16), 2008.
- ROBERTS, F. H. S.; O’SULLIVAN, S. P. **Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastro-intestinal tract of cattle**. Australian Journal of Agriculture Research, 1(1):99-102, 1950.
- SCZESNY-MORAES, E.A.; BIANCHIN, I.; SILVA, K.F.; CATTO, J.B.; HONER, M. R. E PAIVA, F. 2010. **Resistência anti-helmíntica de nematóides gastrintestinais em ovinos**, Mato Grosso do Sul. Pesquisa Veterinária Brasileira 30:229-236.

CAPÍTULO 10

OZONIOTERAPIA NO TRATAMENTO DE INSUFICIÊNCIA RENAL GRAU III E ASSOCIAÇÕES INTEGRATIVAS- RELATO DE CASO

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão:04/08/2020

Daniela Franco Lopes

Universidade Anhembi Morumbi
São José dos Campos- São Paulo- Brasil
<http://lattes.cnpq.br/8150890487021137>

Fernanda Sunson Martarella

Médica Veterinária autônoma-Bioethicus

Guilherme Augusto Oliveira Barbosa

Faculdade Anhanguera
Campinas. São Paulo

Matheus Corsini Pilla

Faculdade Anhanguera de Campinas
São Paulo

Ana Cláudia Benedictis Andreta

Médica Veterinária autônoma-IMAN

RESUMO: A Insuficiência Renal Aguda é uma síndrome clínica que leva a um quadro súbito de insuficiência hemodinâmica pela deficiência de filtração, excreção e perda da função renal, o que por sua vez resulta no acúmulo de toxinas metabólicas urêmica, promovendo sintomas de oligúria, anúria, êmese, diarreia, apetite caprichoso a inapetência. O tratamento convencional é feito sob internação, fluidoterapia, diuréticos e quelantes de alumínio. Nas últimas décadas, a Ozonioterapia vem sendo estudada de forma mais profunda e científica, a fim de propor novos protocolos de

tratamentos complementares nas mais diversas patologias, pois a molécula de ozônio reage com uma grande quantidade de compostos orgânicos e inorgânicos, gerando uma cadeia de respostas bioquímicas, farmacológicas e neuro imunológicas responsáveis por toda terapêutica. O objetivo deste artigo foi relatar o uso da fluidoterapia com Ringer lactato ozonizada no tratamento complementar.

PALAVRA-CHAVE: Ozonioterapia, Fluidoterapia Ozonizada, Cão, Insuficiência Renal.

OZONIOTHERAPY IN THE TREATMENT OF GRADE III RENAL INSUFFICIENCY AND INTEGRATIVE ASSOCIATIONS - CASE REPORT

ABSTRACT: Acute Renal Failure is a clinical syndrome that leads to a sudden picture of hemodynamic failure due to deficiency of filtration, excretion and loss of renal function, which in turn results in the accumulation of uremic metabolic toxins, promoting symptoms of oliguria, anuria, emesis, diarrhea, capricious appetite to lack of appetite. Conventional treatment is done under hospitalization, fluid therapy, diuretics and aluminum chelators. In the last decades, ozone therapy has been studied in a more profound and scientific way, in order to propose new protocols for complementary treatments in the most diverse pathologies, since the ozone molecule reacts with a large amount of organic and inorganic compounds, generating a chain of biochemical, pharmacological and neuro-immunological responses responsible for all therapeutics. The purpose of this article was to report the use of fluid therapy with Ringer-ozonized lactate in the

complementary treatment.

KEYWORDS: Ozone Therapy, Ozonized Fluid Therapy, Dog, Renal Failure.

1 | INTRODUÇÃO

A Insuficiência Renal Aguda é uma síndrome clínica que leva a um quadro súbito de insuficiência hemodinâmica em relação ao processo de filtração e excreção renal o que por sua vez resulta no acúmulo de toxinas metabólicas urêmica devida perda da função súbita. Os sintomas cursam com oligúria, anúria, vômitos esporádicos a frequentes, diarreia e apetite caprichoso a inapetência e perda de massa muscular. O Diagnostico inicial é clínico, mas laboratorialmente é indicado dosar as enzimas bioquímico como ureia, creatinina, fósforo. Um exame preditivo bem usado é o SDMA(dimetil arginina) um biomarcador da função renal, refletindo a taxa de filtração glomerular a partir de 25% de alguma lesão ocorrida, que é mais sensível que a creatinina e relação proteína creatinina, portanto é preditivo a se saber a gravidade de lesão renal. O tratamento convencional é paliativa e sintomática, inclui a internação com fluidos, antibióticos, diuréticos e quelantes de alumínio (Nelson&Couto, 2010).

O primeiro registro bibliográfico da utilização da ozonioterapia em Medicina datam da primeira guerra mundial, quando o Dr. Albert Wolf realizou na Alemanha a limpeza e desinfecção de feridas sépticas na grande guerra. No entanto, o precursor do uso de ozônio foi Werner von Siemens, que em 1857 construiu o primeiro tubo de indução para produzir ozônio a partir de oxigênio (GROOTVELT *et al.*, 2004a; VERANES *et al.*, 1999).

A partir da segunda metade do século XX, o desenvolvimento médico científico da ozonioterapia começou a ser um fenômeno crescente, o que acabou por culminar no aprofundamento da forma em que o ozônio vinha sendo estudado, o que levou na elaboração de novos protocolos de tratamento em diversas patologias (BOCCI, 2008). O ozônio terapêutico é produzido quando um alto gradiente de voltagem entra em contato com oxigênio puro. Por este ser puro, evita-se a produção de compostos tóxicos como o dióxido de nitrogênio, formado quando utiliza-se o ar atmosférico (BOCCI, 2004a). Nesta mistura gasosa produzida pelo aparelho, em torno de 95% é oxigênio e 5% é ozônio que, mesmo neste percentual, desencadeia suas respostas no organismo (HALLIWELL, 1994).

Portanto, definindo a concentração, o volume e a via de administração, gera-se um coeficiente terapêutico que distingue um tratamento eficaz de uma dose tóxica (KOWALTOWSKI *et al.*, 2009).

O ozônio pode ser usado em muitas especialidades Médicas Veterinárias com eficácia e segurança, trazendo inúmeros benefícios na área da cardiologia,

oncologia, dermatologia, odontologia, infectologia, neonatologia, ortopedia, cirurgia, clínica geral, neurologia e intensivismo (BOCCI, 2008). *Como vias de administração*, tem-se utilizado a via intramuscular, intravenosa, subcutânea, intracavitária (espaços peritoneais e pleurais), intrarretal, intravaginal, intrauretral, intramamária, periarticular, intra-articular ou intradiscal guiada (HADDAD, 2009; MORETTE, 2011).

O efeito protetor do ozônio pode ser explicado pela regulação positiva do sistema de defesa antioxidante e efeitos benéficos na circulação sanguínea e no metabolismo do oxigênio (HUTCHISON, 2013). O tratamento com ozônio pode representar uma abordagem terapêutica para minimizar os danos renais após o transplante segundo Calunga e Menéndez (2005).

Relato de caso

Paciente Canina, Maltes, 12 anos, 4 kg, é acompanhado desde 27/07/2016, inicialmente foi encaminhada para tratar medo de chuva e trovão, pois apresentava alteração cor língua, taquicardia, queixa de disúria e incontinência urinária por medo, polidipsia, cólicas gasosas, episódios de diarreia. Sua alimentação é por dieta industrializada de manutenção. Possui cardiopatia valvular assintomática desde 2015, recebendo profilaticamente Homeopatia durante 8 meses. Após esse período apresentou tosse e dispneia, passou por avaliação cardiológica onde foi verificado hipertensão arterial pulmonar. Foi medicada com anti-hipertensivo e diurético, sem melhora aparente da tosse e dispneia. Iniciando tratamento complementar com ozonioterapia.

2 I JUSTIFICATIVA DA SOLUÇÃO RINGER LACTATO

As situações de desidratação devem ser corrigidas pela fluidoterapia com cristaloides, como a solução lactato de Ringer (RIBEIRO, 2019). A solução Fisiológica a 0,9% ozonizada pode liberar ácido hipocloroso e causar hipercaliemia.

3 I ACHADOS EM EXAMES FÍSICO E LABORATORIAL

Em 12/01/19 foi recomendada tartarectomia e ao passar por exames pré-operatórios apresentou alterações bioquímicas renais e hepáticas. Foi realizado Ultrassonografia apresentando Colangiohepatite e lama biliar. Foi realizado SDMA, que estava em nível elevado indicando lesão renal grave nível IV, Urina 1 com traços proteínas, UPC e hemograma normais. Em 15/01/19 apresentava hiporexia, oligodipsia, oligúria, normotermia, dor palpação cinturão renal, desânimo, tremores, diarreia e sialorreia, TPC 4 segundos. Foi avaliado por um nefrologista que propôs um tratamento conservativo com Fluidoterapia e internação, antibióticos e dieta

industrial terapêutica. A tutora decidiu fazer o tratamento integrativo que consistiu em associar a Ozonioterapia sistêmica com Florais Vibracionais e Homeopatia.

CANIS FAMILIARIS, MALTES, FEMEA, 12ANOS

DATA	19/12/18	21/01/19	28/01/19	12/02/19	08/04/19	21/05	11/06
HEMOG.	6,3	6,0		6,0	5,25		6,2
LEUC.	6,6	5,50		5,5	8,100		6,700
PLAQ.	422.000			435.000	437.000		393.000
SDMA (0-14)		80mCg					46mCg
UREIA		81	70	158	58	21	97
CREAT		6,6	3,3	2,63	2,5	1,8	3,31
FAL (20-150)	157				218		58
AST (10-88)					188		
ALT (10-88)	328				191		64
GGT (1-10)					8		
FOSFORO(2,6-6,2)		8,10		4,3			3,70
UPC(mg/dl)		0,13		0,13			0,05

Figura 1. QUADRO DE EXAMES REALIZADOS NO PERÍODO DE 19/12/18 a 11/06/19

DATA	09/05/20
HEMOG.	4,7
HT	33
LEUCO	6.400
PLAQ.	246.000
URÉIA	58
CREATI	2,7
FOSFORO(2,6-6,2)	5,1

Figura 2. QUADRO DE EXAMES REALIZADOS NO PERÍODO DE 09/05/20

4 I TRATAMENTO E EVOLUÇÃO

No período de 17/01 a 28/01/19 recebeu fluidoterapia ozonizada com solução de Ringer lactato durante 5 minutos, na quantidade de 70ml e [54mcg/ml] via subcutânea, 1x/dia por 5 dias seguidos, por 3 semanas, Insuflação retal [4mcg/ml] 45ml, 1x/semana por 3 semanas, 1 ampola de *Chelidonium* D5 Injectcenter® via subcutânea por dia por 3semanas. Prescrição Oral: Ureia+Phosphorus 30ch ãa, 3 gotas 2xdia, por 60 dias, *Lycopodium/Arsenicum* 6ch ãa, 3 gotas, 3xdia por 60 dias, Após 10 dias do início do tratamento a paciente apresentava normorexia, normodipsia, normotermia, normoquesia, normúria, TPC 2 segundos, redução da dor a palpação cinturão renal, redução rápida dos valores bioquímicos de função renal e hepático. De 26/02/19 a 02/04/19 manteve normodipsia, normotermia, normoquesia, normúria, TPC 4 segundos e peso 3,5Kg, recebendo semanalmente Fluidoterapia ozonizada com solução de Ringer lactato durante 5 minutos, na quantidade de 70ml

e [54mcg/ml] via subcutânea e [54mcg/ml] via subcutânea, a Insuflação retal [4mcg/ml] 45ml, 1x/mês, 1 ampola de *Chelidonium* D5 Injectcenter® via subcutânea, 2x/semana. Prescrição Oral: Ureia/ *Phosphorus* 30ch ãa, 3 gotas 2xdia, por 60 dias, *Lycopodium/Arsenicum* 6ch ãa, 3 gotas, 2xdia, Bioquantic neutralizador®, meio ml, 5xdia e Filther®, meio ml, 5xdia, Dieta natural elaborada para doentes renais e nutracêuticos. Em 13/08/19 fizemos reavaliação, pois apresentava vômitos biliosos esporadicamente, peso 3,7kg, normorexia, normodipsia, normotermia, normoquesia e normúria, TPC 4 segundos, mantivemos apenas Insuflação retal 1xsemana com [4mcg/ml] 45ml e homeopatia oral Ureia 40ch, 1xdia, Filther®, 3x/dia, Renaldetox®, 2x/dia, Bioquantic neutralizador®, 2xdia, dieta natural elaborada para doentes renais até 10/03/20. Ficou sem receber Ozonioterapia, mas manteve todas as prescrições orais e dieta. Retornou em 09/05/20 para reavaliação, apresentou hiporexia, hipotermia, apatia, êmese, dispneia, tosse com estertor, ansiedade de separação e medo, dor localizada no cinturão renal, recebeu Fluidoterapia ozonizada com solução de Ringer lactato durante 5 minutos, na quantidade de 70ml e [54mcg/ml] via subcutânea e Insuflação retal [4mcg/ml] 45ml. Prescrição de 1 ampola de Fígado D5® Injectcenter, 1xsemana por 2 meses, CBD 2% full spectrum 1 gota a cada 12 h por 90 dias, homeopatia oral Ureia 40ch, 1xdia, Filther®, 3x/dia, Renaldetox®, 2x/dia, Bioquantic neutralizador®, 2xdia, dieta natural elaborada para doentes renais. Voltou a se alimentar após 3 dias e mantém-se estável até o momento.

5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 10 dias do início do tratamento a paciente apresentava Normorexia, Normodipsia, Normotermia, Normoquesia, Normúria, TPC 2 segundos, redução da dor a palpação cinturão renal, redução rápida dos valores bioquímicos de função renal e hepático. Segundo Calunga e Menéndez(2013), o principal e mais grave evento é a Isquemia, pois a vasoconstrição renal e a disfunção tubular são importantes para o funcionamento do néfron, reduzindo a taxa de filtração glomerular, lesionando o endotélio pela presença óxido nítrico, adenosina, prostaglandina e como consequência redução da resistência vascular a redução do fluxo sanguíneo e o órgão. Hui Chem et al (2013) sugerem 10 sessões de ozônio IR, e a paciente respondeu clinicamente a partir da 8ª sessão de Insuflação retal e mantém o período de tratamento de 1 ano e 7 meses. Volkhovskaya, Kolesova & Tkachenko (2008), relatou que a injeção de soro fisiológico ozonizado durante 10 dias seguidos, conduziu a uma falha na capacidade de compensação e de adaptação dos ratinhos ao stress oxidativo causado, piorando a condição geral destes (Joaquim, 2018). Com solução RL ozonizado em 7 minutos que permitiu a produção de uma mistura oxigênio-ozono. Deste processo resultou uma concentração de ozono de

aproximadamente 40 µg/ml, porém sem equipamento adequado de mensuração.

6 | CONCLUSÃO

Foi verificado que em 30 dias de tratamento, a integração das técnicas de Ozonioterapia, Florias Vibracionais e Homeopatia a mudança de estágio da doença renal de grau III para II sem a necessidade de internação do paciente. Concluímos que após 1 ano e 7 meses de tratamento, obtivemos o prolongamento o tempo e qualidade de vida e o estadiamento da evolução da Insuficiência Renal.

REFERÊNCIAS

1. BOCCI, V. **How ozone acts and how its exerts therapeutics effects: the revolution in dentistry**, United Kingdom; 2004a, cap1.1, pag15-22.
2. BOCCI, V. **Non-specific immunomodulation in chronic heart failure**. *Lancet*. 2008, 371:2083.
3. CALUNGA, JL, ZAMORAM, ZB, BORREGO, A., et al. **Ozone therapy on rats submitted to subtotal nephrectomy: role of antioxidant system**. *Mediators Inflamm*. 2005; 2005(4):221-227. doi:10.1155/MI.2005.221 .
4. GROOTVELT, M.; BAYSAN, A.; SIDDIQUI, N.; SIM, J.; SILWOOD, C.; LYNCH, E. **History of clinical applications of ozone**. In: **Lynch E. Ozone: the revolution in dentistry**. Reino Unido: Quintessence Publishing Books; 2004. Cap. 1.2, p. 23-30.
5. HUTCHISON, CA, **Renal Failure- Prevencion, Causes and Treatment**, Cap.III, Ed. Nova Biomedical, New York, 2013, p. 37- 54.
6. KOWALTOWSKI, AJ.; DE SOUZA-PINTO, NC.; CASTILHO, RF. *et al.*, 2009, **Mitochondria and reactive oxygen species**, *Free Radic. Biol. Med. in press, May 7* .
7. MORETTE, DA. **Principais aplicações terapêuticas da ozonioterapia**. 2011. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado- Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/120089>>.
8. NELSON. RW; COUTO. CG. **Medicina interna de pequenos animais**. Editora Elsevier.2010. 4º edição. Rio de Janeiro – RJ.
9. HADDAD, MA. et al. **Comportamento de componentes bioquímicos do sangue em equinos submetidos à ozonioterapia**. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte, June 2009. v. 61, n. 3. p. 539-546. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352009000300003&lng=en&nrm=iso>. access on 31 Aug. 2020. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352009000300003>.
10. HALLIWELL, B. **Free radicals and antioxidants: a personal view**. *Nutrition Reviews*, New York. 1994. v.52. n.8. p.253-265.

11. RIBEIRO, JLT. **Efeitos da Ozonioterapia no Manejo da Doença Renal Crônica em Felinos**. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina veterinária, LISBOA. 2019.

12. VERANES, X.G.; NÁPOLES, Y.N.; CONTRERA, H.; LUQUE, R.F.; BLANCO, C.M. **Labor de enfermera em la aplicación de la azonioterapia em retinosis pigmentaria**. Revista Cubana Enfermería. 1998.v. 14. n. 2. p. 99-102.

CAPÍTULO 11

PASSADO, PRESENTE E FUTURO NA PESQUISA DE COCCIDIOSE AVIÁRIA

Data de aceite: 01/12/2020

Fabiano Fabri

Hipra Saúde Animal
São Paulo/SP, Brasil

Marco Antonio de Andrade Belo

Universidade Brasil
Descalvado/SP, Brasil

RESUMO: A coccidiose aviária é uma doença transmitida por protozoários intracelulares do gênero *Eimeria*. É caracterizada pela infecção das células do epitélio da mucosa intestinal, que podem provocar inflamação, diminuição da capacidade de absorção e digestão de alimento, perda celular e conseqüentemente, redução dos resultados zootécnicos com prejuízo na conversão alimentar, redução de crescimento, em casos severos, alta mortalidade e também é importante destacar os altos custos envolvidos no tratamento e prevenção. Contudo, torna-se imprescindível o controle da Coccidiose aviária, seja com uso de medicamentos anticoccidianos na ração ou vacinas vivas com oocistos atenuados, associados com programas sanitários de desinfecção, já que essa enfermidade apresenta significativa relevância econômica na avicultura industrial, por causar um impacto negativo no desempenho zootécnico das aves além de causar mortalidades. As empresas do setor avícola devem avaliar e monitorar o melhor programa contra essa enfermidade, levando em consideração cada realidade, sustentabilidade,

produtividade e qualidade do produto final.

PALAVRA-CHAVE: Manejo sanitário, vacinação, anticoccidianos, desempenho zootécnico, *Eimeria* spp.

PAST, PRESENT AND FUTURE IN AVIAN COCCIDIOSIS RESEARCH

ABSTRACT: Avian coccidiosis is a disease transmitted by intracellular protozoa of the genus *Eimeria*. It is characterized by infection of the cells of the intestinal mucosal epithelium, which can cause inflammation, decreased absorption and digestion capacity of food, cell loss and, consequently, reduced zootechnical results with impaired feed conversion, reduced growth, in severe cases, high mortality and it is also important to highlight the high costs involved in treatment and prevention. However, it is essential to control avian coccidiosis, either with the use of anticoccidial drugs in the feed or live vaccines with attenuated oocysts, associated with sanitary disinfection programs, since this disease has significant economic relevance in industrial poultry, as it causes an impact negative effect on the zootechnical performance of the birds. Poultry companies must evaluate and monitor the best program against this disease, considering each reality, sustainability, productivity, and the quality of the final product.

KEYWORDS: Health management, vaccination, anticoccidials, zootechnical performance, *Eimeria* spp.

A coccidiose é uma das doenças de maior relevância econômica da avicultura

industrial, além do impacto negativo no desempenho zootécnico, ocasiona também mortalidade. Ela gera déficit econômico em todo o mundo, estimado em US\$ 3 bilhões ao ano, incluso nesse valor gastos com medicamentos profiláticos anticoccidianos ou terapêuticos incorporados na ração, além disso o efeito da doença nas aves. Estima-se no Brasil, que a perda anual exceda a US\$ 30 milhões devido a doença (FEDDERN et al., 2016).

O sistema intensivo de produção de frangos de corte, mesmo com uso de alto padrão tecnológico, não assegura que o ambiente de criação das aves esteja livre de patógenos. Quando presentes, os patógenos prejudicam a eficiência do aproveitamento dos nutrientes das rações, em decorrência do possível surgimento de desordens entéricas (RAMOS et al, 2011).

Devido à grande presença de oocistos no meio ambiente, grande potencial de reprodução das Eimerias e a fácil disseminação da coccidiose nos aviários de criação comercial de frangos de corte, tornou-se muito difícil manter as aves livres desse protozoário (ENGBERG et al., 2000; ALLEN; FETTERER, 2002; CABADAJ et al., 2002; ISLAM et al., 2007; GUO et al., 2007).

Segundo MACDOUGALD (2003) existem nove espécies de eimerias que parasitam as aves, *E. acervulina*, *E. máxima*, *E. tenella*, *E. necatrix*, *E. brunetti*, *E. praecox*, *E. hagani*, *E. mivati*, porém (ABDELAZIZ 2011, MACDOUGGALD 2003 e TOLEDO et al., 2011) somente sete espécies, *E. acervulina*, *E. praecox*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. tenella* e *E. brunetti*, tem a galinha como único hospedeiro natural e portanto são consideradas validas.

Dentre as espécies citadas, *E. acervulina*, *E. maxima* e *E. tenella* são consideradas as mais importantes para a indústria avícola, devido a sua onipresença nas granjas, patogenicidade inata e características imunológicas (CARDOZO e; LILLEHOJ et al., 2004; PRADO, 2005; YAMAMURA, 2006), sendo *E. maxima* considerada, dentre as demais espécies, uma das que possui maior patogenicidade (SHARMAN, 2010).

Trabalho realizado por Shirley (1979) usando método de eletroforese enzimática para identificação mais precisa das espécies de Eiméria aviária, e utilizando teste de imunidade cruzada demonstrou que, na realidade, *E. mivati* seria uma amostra mista onde estavam presentes as espécies de *E. mitis* e *E. acervulina*.

No Brasil, o primeiro caso de coccidiose em frangos foi relatado por Nóbrega em 1936 no Estado de São Paulo, onde a *E. acervulina*, *E. maxima*, e *E. tenella* estiveram entre as espécies relatadas (REIS & NOBREGA, 1936).

As espécies do gênero *Eimeria* completam o ciclo de vida de forma endógena (dentro do hospedeiro) com reproduções assexuadas (merogonia) e sexuadas (gamogonia) nas células da mucosa intestinal que compreendem a fase a e possui uma forma exógena no meio ambiente onde oocistos imaturos passam por divisões

meióticas e mitóticas (esporogonia).

A Figura 1 a seguir mostra de maneira simplificada, o ciclo do gênero *Eimeria*. A fase de endógena compreende a ingestão de oocistos esporulados (com 4 esporocistos) do ambiente (1), a parede do oocisto é destruída, liberando os esporocistos (2). Devido a força mecânica a parede deste é destruída na moela, ocorrendo a liberação de esporozoítos (3) que parasita a célula hospedeira. (MARTINS et. al, 2012). Os esporozoítos são liberados no intestino delgado (3). Dentro da célula do epitélio glandular, cada esporozoítos origina um trofozoítos, depois o esquizonte e inicia o processo de reprodução assexuada chamada merogonia (4). Cada esquizonte ou meronte tem no seu interior um número variável de merozoítos, esses merozoítos rompem a célula do hospedeiro e na luz do intestino invadem novas células na qual forma uma nova geração de esquizontes (5). Alguns merozoítos de segunda geração penetram em outras células dando origem a uma terceira geração de esquizontes, (6) outros penetram em novas células nas quais dão início a fase sexuada ou gametogonia.



Figura 1 – Ciclo da coccidiose.

Fonte: Fabiano Fabri, 2020

A maioria dos merozoítos se transformam em gametócitos femininos (7) ou macrogametócitos que crescem até se tornarem maduros, formando então os macrogametas (Figura 1). Outros se transformam em gametócitos masculinos ou microgametócitos. Dentro de cada microgametócito é formado um grande número de microgametas (8). Os microgametas rompem a célula e vão fertilizar os macrogametas, resultando no zigoto que desenvolve uma parede dupla e dá origem ao oocisto (9). Os oocistos rompem as células e vão ao exterior com as fezes em forma não infecciosa, pois não estão esporulados (10). Os oocistos eliminados com as fezes dos galináceos são imaturos (não esporulados). No meio ambiente ocorre a esporulação dos oocistos (11). Os oocistos diplóides sofrem esporogonia (meiose), resultando em quatro esporocistos. Dois esporozoítos evoluem em cada esporocisto. Os oocistos esporulados são infectantes. (LUCIUS E LOOS-FRANK, 1997).

A coccidiose aviária é transmitida mediante as fezes do animal infectado, onde os coccídios completam seu ciclo de vida dentro das células do intestino hospedeiro (FERNANDO; ROSE e MILLARD, 1987). No ambiente, o animal infectado elimina oocistos não esporulados juntos as fezes e, em condições climáticas favoráveis de umidade, temperatura e oxigenação (WALDENSTED et al., 2001), estes sofrem esporulação tornando-se assim infectantes podendo suportar, durante meses, condições adversas até que seja ingerido por um hospedeiro (KAWAZOE, 2009). Todas as fases celulares do ciclo destroem uma célula intestinal, resultando em 2.048 células destruídas para cada oocisto que for ingerido. Essas células são responsáveis pela absorção de nutrientes como: vitaminas, sais minerais, carotenóides, carboidratos, lipídeos, proteínas, água e alguns medicamentos (KAWAZOE, 2009)

Para sobreviver, em nível celular, as coccídeas dependem de dois ciclos para obtenção de energia, conhecidos como glicólise e sistema de transporte de elétrons(ETS). A glicólise ocorre predominantemente nos estágios extracelulares do ciclo vital dos parasitas, enquanto as coccídeas ainda estão na luz do trato intestinal da ave. Após a invasão das células da parede intestinal, há predominância dos ETS. A glicólise, atuando na ausência de oxigênio, gera duas unidades de energia a partir de cada molécula de glicose, assegurando a energia para a manutenção do parasita. O ETS, que necessita da presença de oxigênio molecular, fornece 15 vezes mais unidades de energia por molécula de glicose (Evans, 2010). As diferenças atribuídas à espécie são em relação à sua biologia, tais como local de desenvolvimento, aparência morfológica, os estágios do ciclo de vida, os períodos pré-patente e patente e especificidade imunológica (SCHNITZLER e SHIRLEY, 1999).

De acordo com Back (2019) para fins de diagnóstico da coccidiose, avalia-se a presença de lesões de eimeias patogênicas em três regiões distintas do intestino.

No terço anterior a *Eimeria acervulina* é a espécie prevalente. Ela produz lesões no duodeno e, em caso de infecção severa, as lesões podem se estender até jejuno. Observa-se espessamento da mucosa intestinal e enterite discreta a severa. Na mucosa pode apresentar lesões esbranquiçadas puntiformes ou coalescentes, formando estrias transversais ou placas. É considerada de moderada a alta patogenicidade.

No terço médio, possui duas eimeiras importantes. A primeira é a *E.necatrix*, que causa enterite severa, congestão, hemorragia e necrose no íleo. Podem ser observadas lesões puntiformes branco-amareladas e intercaladas com pontos avermelhados, as aves podem eliminar fezes com sangue digerido. Apesar das lesões estarem presentes no intestino médio, os oocistos (fase sexuada) são formados somente no ceco, esta é considerada muito patogênica e geralmente causa mortalidade. A segunda é a *E.máxima*, que coloniza o jejuno e, de acordo com a gravidade pode se estender até final do duodeno e início do íleo. Provoca enterite com espessamento da parede da mucosa e dilatação do intestino, acúmulo de muco amarelo-alaranjado. É considerada uma espécie de patogenicidade moderada (BACK, 2019)

Por fim, no terço médio, duas eimeiras parasitam, a primeira é a *E.brunetti*, a qual causa enterite com necrose da mucosa e formação de uma massa fibrinosa e ou fibrino-necrótica no terço inferior do intestino, incluindo reto e ceco e é considerada de patogenicidade moderada. A segunda é a *E.tenella*, que parasita mais o ceco e provoca espessamento da parede cecal com hemorragias, necrose e acúmulo de sangue caseoso no lúmen, já essa eimeira é uma das mais patogênicas. (BACK, 2019).

De acordo com Tyzzer (1929), a *Eiméria Mitis*, infecta predominantemente a metade anterior do intestino delgado e não produz lesão grave. Colônias são raramente vistas no epitélio, porém há uma distribuição uniforme do parasita na área infectada. Esta espécie já foi considerada não patogênica, mas estudos mostram que podem causar mortalidade em pintos jovens.

Eiméria Praecox, infecta a parte superior do intestino, embora não ocorra mortalidade, mesmo em doses altas de infecção, tem sido observada depressão no ganho de peso ou perda de peso corporal e é considerada de baixa patogenicidade (Johnson, 1930).

ADORNO (2013) defende o diagnóstico da coccidiose subclínica por meio da contagem de oocistos da mucosa intestinal, colhido durante as monitorias de necropsia das aves e determinação de escores de lesão. Por outro lado, DINIZ (2008) descreve além dos métodos anteriormente relatados, o diagnóstico histopatológico, análise de material genético e técnicas de biologia molecular.

As infecções por *Eimerias*, causam uma modificação nas estruturas das

vilosidades intestinais provocando o encurtamento na altura delas, diminuindo a capacidade de absorção. Muitas vezes ocorre a destruição das células epiteliais do intestino, impedindo a renovação das vilosidades levando a perda de fluidos, hemorragia e susceptibilidade a outras doenças (KAWAZOE, 2000).

Sabe-se que a coccidiose está presente em todas as granjas comerciais, tanto de frango de corte, como de matrizes reprodutoras pesadas, em nível variado, de acordo com os programas de controle anticoccidiano ou de vacinas. O uso constante de vacinas vivas, contendo todas as espécies de *Eimeria* tem sido introduzida sistematicamente nas granjas (Lovato e Gazoni 2018).

A gravidade da infecção depende de alguns fatores tais como, da quantidade de oocistos ingeridos, do grau de virulência das cepas e da suscetibilidade do hospedeiro. Por isso, há necessidade de um bom manejo, reduzindo assim a exposição aos oocistos infectantes. Também, é importante evitar a umidade da cama que é um meio para prevenir a esporulação dos oocistos. Poucos agentes são capazes de destruir os oocistos e os agentes capazes de matá-los são tóxicos e de difícil aplicação como o gás de amônia e o brometo de metila (KAWAZOE, 2009).

O controle da coccidiose em frangos de corte é sem dúvidas, a melhor maneira de evitar grandes perdas econômicas. A limpeza e desinfecção das instalações, fermentação da cama podem reduzir o número de oocistos no ambiente, mas não é uma medida muito eficiente para controlar a infecção no hospedeiro, já que os oocistos são extremamente resistentes e se distribuem rapidamente no ambiente. Segundo GARDNER et al (1991), um dos principais fatores que contribuem para a resistência no meio ambiente é a espessura da parede do oocisto. De maneira geral, os oocistos com paredes mais espessas são mais resistentes às condições adversas favorecendo a manutenção dos oocistos nas instalações.

O controle da doença onera a produção, mas por outro lado, a parasitose quando instalada reduz a produtividade e por consequência o lucro (ALBINO e TAVERNARI, 2008; DORNE et al., 2011). Outra forma de controle desse protozoário é o uso de drogas anticoccidianas via ração. Os anticoccidianos utilizados na avicultura são químicos (como nicarbazina, robenidina, dinitolmida, halofuginona e diclazuril) e ionóforos (como monensina, narasina, salinomina, lasalocida, maduramicina e semduramicina), podendo ser usados combinados ou isoladamente nas rações e nas diferentes fases de vida das aves.

Os ionóforos provocam o desequilíbrio osmótico das eimérias, com maior perda de energia na bomba de Na-K, ocorrendo sua vacuolização. Atuam geralmente na fase inicial de vida das eimérias podendo ser coccidiostáticos (interrompendo o ciclo do parasita sem destruí-lo) e/ou coccidicidas (matando os parasitas). Os compostos químicos atuam em diferentes pontos do metabolismo das eimérias em distintas fases do ciclo de vida das eimérias podendo ser coccidiostáticos e/ou

coccidídeos (SCHMIDT, 2016)

O uso de agentes anticoccidianos no controle da coccidiose em frangos de corte é uma medida preventiva muito utilizada na produção. Porém, o êxito do produto dependerá do período de utilização da droga, das recomendações de uso, bem como qual a dosagem e em que época do ano utilizar, da interação sinérgica ou antagônica com outros medicamentos, do desafio existente na granja e da resistência dos parasitas ao princípio ativo (ANDRADE, 2004).

Um ponto importante em relação aos anticoccidianos é a questão de resíduos que podem estar presentes nos produtos finais, sendo potencial fator de risco de saúde pública. Assim, é necessário respeitar o período de carência de cada medicamento. De acordo com MYLLYNIEMI, 2004; DOYLE, 2006), o cálculo do período de carência de um medicamento é feito por um método estatístico que foi proposto pelo Comitê de Medicamentos para uso Veterinário (Committee for Veterinary Medicinal Products - CVMP) da Agência Europeia de Medicina (EMA) em 1995.

O uso indiscriminado de anticoccidídeos tem resultado na seleção de cepas resistentes a drogas, as quais reduzem a eficácia de vários anticoccidídeos em uso (CHAPMAN, 1997; COOMBS; MÜLLER, 2002; LI et al., 2004). Diante da atual estratégia profilática, o Conselho da União Européia propôs a retirada progressiva dos anticoccidídeos utilizados como aditivos na alimentação animal, até dezembro de 2012 (UNIÃO EUROPÉIA, 2003).

Desta forma, existe necessidade de novos conceitos estratégicos para o controle da eimeriose aviária e também existe, uma mudança comportamental da população consumidora, que busca e exige produtos que não apresentem resíduos de agentes químicos (VERMEULEN; SCHAAP; SCHETTERS, 2001). No entanto, o uso de vacinas vivas para controle da coccidiose é uma opção viável, já que atuam promovendo efetiva imunidade celular, são capazes de restabelecer a sensibilidade das cepas de campo de Eimeira frente aos anticoccidianos convencionais e sem prejuízos com resultados zootécnicos.

Em relação à vacinação, a coccidiose aviária é extremamente imunogênica, o que leva à boa imunização para desafios semelhantes no futuro (RAMBOZZI et al., 2012). Um ponto importante em relação às eimeiras, é que a imunidade cruzada entre as espécies é fraca, assim para proteção é essencial uso de cepas prevalentes nas vacinas para frangos de corte e matrizes de frangos de corte. A imunidade conferida pelas vacinas atenuadas é protetora, pois permite o desenvolvimento completo do ciclo do parasito e, conseqüentemente, estimula todas as vias da resposta imune, principalmente a resposta imune celular, a qual promove efetivamente a proteção contra infecções subsequentes. (LILLEHOJ et al., 2000^a). As respostas imunes mediadas por células mostraram-se mais importantes, imunidade humoral

desempenhando pouco papel na proteção (ROSE & HESKETH, 1979).

Tanto a imunidade inata quanto a adquirida são necessárias na infecção por *Eimeria*. A imunidade inata é necessária durante a primeira fase da infecção, enquanto a imunidade adquirida ocorre mais no final da infecção, sendo importante para desenvolver a memória imunológica para resistência a infecções futuras (DALLOUL & LILLEHOJ, 2003). Sendo assim, a imunidade completa só é adquirida após dois ciclos de replicação das eimerias vacinais no intestino das aves a primeira replicação estimula a imunidade inata, enquanto a segunda envolve a imunidade adaptativa.

As vacinas vivas atualmente utilizadas no controle da coccidiose aviária são as atenuadas ou as produzidas com cepas virulentas. A vantagem das atenuadas em relação as cepas virulentas, consiste na menor possibilidade de lesão intestinal, devido ao seu menor potencial reprodutivo e, ao mesmo tempo, conferindo maior imunidade aos animais (TOMASI, 2006). Da mesma forma, Kawazoe (2009), vacinas atenuadas comerciais apresentam características como ciclo evolutivo com período reduzido (redução do período pré-patente), redução dos estágios assexuados de merogonia nas células intestinais, isto é, com parasitos da “linhagem pura”, atenuação estável com produção de menor número de oocistos, menor disseminação de oocistos na cama durante cada período de infecção, menor dano ao hospedeiro, reciclagem dos isolados de *Eimeria* spp. Nos galpões a cada novo lote colocado e queda acentuada da virulência, sem decréscimo significativo da imunogenicidade.

Alguns anos atrás, a utilização de vacinas no controle de coccidiose em frangos de corte no Brasil não apresentou resultados satisfatórios, devido uso de vacinas com cepas virulentas, que lesionavam muito o epitélio da mucosa intestinal, com lesões significativas que ocasionaram perda na capacidade de digestão e absorção de alimento e, obviamente, grandes perdas de desempenho das aves e prejuízos econômicos. Sendo assim, houve necessidade em se desenvolver vacinas vivas mais seguras e com a mesma eficiência de cepas virulentas. Atualmente existe no mercado vacinas com cepas atenuadas, que tiveram sua virulência reduzida, gerando imunidade protetora, porém com ausência de quadros clínicos ao hospedeiro.

O local de eleição para vacina contra coccidiose são os incubatórios de aves, já que o controle de vacinação, mão de obra, equipamentos são muito mais fáceis de serem conduzidos do que por exemplo a realização nas granjas de frangos de corte. Segundo Kawazoe (2009), para o sucesso da utilização das vacinas atenuadas é imprescindível que o processo da vacinação seja conduzido de forma correta, permitindo assim, que as aves recebam oocistos viáveis e de forma uniforme.

Dessa forma, é fundamental implantação de controle no processo de vacinação no incubatório para garantir ótima vacinação. Um dos pontos de controle

é a correta diluição e preparo das doses de vacina. A melhor via de administração para coccidiose é o spray grosso (200 micras) no primeiro dia de vida das aves no incubatório, essa é geralmente realizada com vacinadoras do tipo Cabine (controle de doses, pressão, entre outros) que vacinam caixas de aproximadamente 100 pintainhos por vez. Dessa maneira, é possível ótima ingestão de oocistos vacinais para formação de imunidade precoce e efetiva contra o protozoário.

Já existe no mercado brasileiro, vacina com adjuvante para vacina atenuada de coccidiose, utilizado com o objetivo de modular a resposta imune celular contra a coccidiose, pois ele pode aumentar níveis de citocinas IL-2 e INF- γ , essenciais para desenvolvimento de imunidade celular mais forte e prolongada contra a coccidiose.

Clark & Augustine (2003) ressaltam que a exposição adequada das aves as *Eimerias* vão além do momento da aplicação da vacina e, se estende as primeiras semanas de vida da ave. Nesse período, é fundamental o manejo adequado da cama do aviário, pois nessa fase ocorre a “reciclagem” dos oocistos, isto é, a eliminação e re-ingestão de oocistos vacinais das fezes, desencadeando, dessa forma, uma re-infecção na ave. Este processo é indispensável para o desenvolvimento da imunidade.

Existem vacinas no mercado que foram atenuadas por um processo de atenuação para uso precoce. As cepas submetidas a esse processo apresentam características como potencial reprodutivo reduzido em comparação com as cepas originais, sofrem menos esquizogonia durante a replicação nos enterócitos (causando, assim, menos lesões) e, por fim, seu período de pré-patência (intervalo de tempo entre inoculações e eliminação) é mais curto do que o das cepas originais. Portanto, esse sistema de atenuação oferece: menos impacto sobre a mucosa intestinal e início precoce da imunidade.

Vacinas vivas atenuadas, por sua vez, baseiam-se em cepas de oocistos de baixa virulência atenuados, incapazes de proliferar a patologia, porém suficientes para prover resposta imunitária no animal. A vantagem deste modelo de vacina é sua boa resposta imunitária em baixas dosagens, além de poder reduzir o uso de coccidiostáticos pela rotação com períodos de vacinação (ALLEN; FETTERER, 2002). Uma ferramenta na prevenção da coccidiose em frangos de corte é o uso de rotação entre a vacina e anticoccidiano. Um método que pode ser utilizado é a vacinação de 2 a 3 ciclos de frango de corte seguidos, objetivando a colonização de cepas vacinais sensíveis aos anticoccidianos no lugar de cepas selvagens. Após o uso da vacina é possível retorno de um programa com anticoccidianos por aproximadamente 6 meses e muitas vezes os resultados zootécnicos são melhores, devido a ação eficiente dos anticoccidianos as cepas vacinais. Dessa forma, a vacinação pode ser alternada com drogas anticoccidiais na alimentação dentro dos programas de rotação.

Jeffers (1986) sugeriu que ciclos alternados de imunização e quimioterapia podem fornecer controle a longo prazo da coccidiose e Chapman (1994b) demonstrou posteriormente que a sensibilidade à monensina poderia ser restaurada após o uso de uma vacina viva na produção comercial de frangos de corte. Observações semelhantes foram feitas para a droga sintética diclazuril (MATHIS & BROUSSARD, 2006). Vários programas envolvendo alternância de vacinação com uso de drogas têm, portanto, proposto com o objetivo de alcançar um desenvolvimento sustentável controle de coccidiose (CHAPMAN, 2000).

Segundo Dardi et al, (2019), as vacinas atenuadas contra coccidiose são capazes de restabelecer a sensibilidade das cepas de campo de *Eimeria* frente aos anticoccidianos convencionais.

É imprescindível o controle da Coccidiose na produção de carne de frango, seja com uso de medicamentos anticoccidianos na ração ou vacinas vivas com oocistos atenuados, associados com programas sanitários (desinfecção), já que essa enfermidade onera os custos em relação aos prejuízos nos resultados zootécnicos. As empresas do setor avícola devem avaliar e monitorar o melhor programa contra essa enfermidade, levando em consideração cada realidade, sustentabilidade, produtividade e qualidade do produto final.

REFERÊNCIAS

ABDELAZIZ, I. A. **Overdosing of the ionophore anticoccidial semduramicin induces unrecoverable performance depression associated with striated muscle lesions.** Global Veterinaria, Egypt, v. 6, n. 6, p. 567-574, 2011.

ADORNO, F. C. **Situação das coccidiose aviária dos últimos 5 meses, nos**

ALBINO, Luiz Fernando Teixeira; TAVERNARI, Fernando de Castro. **Produção e Manejo de Frango de Corte.** Viçosa. Editora UFV, 2010.

ALLEN P.C.; FETTERER R.H. **Recent advances in biology and immunobiology of Eimeria species and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry.** *Clinical Microbiology Review.* v.15, n.1, p.58-65, 2002.

ANDRADE, R. C. **Liderança e Qualidade - Uso de agentes anticoccidianos para frangos de corte.** Boletim Informativo Vaccinar, Ano 2 No 25. Vaccinar Nutrição Animal, 2004.

BACK, A, - **Manual de Doenças das aves**, 3º edição atualizada e ilustrada. Capítulo 70, página 276.

CARDOZO S. P.; YAMAMURA, M. Y. **Identificação de espécies de *Eimeria* sp e avaliação do escore de lesões intestinais entre frangos vacinados e tratados com anticoccidiano, produzidos no sistema colonial/caipira.** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 27, n. 2, p. 261-270, 2006.

Chapman HD.; Rathinam T. **Sensitivity of field isolates of *Eimeria* to monensin in the turkey.** *Avian Diseases* 2007. 51(1):954-957.

CLARK, R. S.; AUGUSTINE, P. **Coccidiosis in turkeys: disease.** *World Poultry – Turkey Special*, p. 14-17, 2003.

Dardi¹, M. De Gussem², K. Van Mullem², H. Van Meirhaeghe², N. Vandenbussche³, M. Pagès², J. Rubio¹ **Avaliação zootécnica e econômica do uso de uma vacina viva anticoccidiana em rodízio com produtos anticoccidianos em frangos: Resultados de um conjunto de estudos de campo realizados na Bélgica e nos Países Baixos** (2019).

DINIZ, G. K. **Uso de salinomicina e senduramicina em diferentes concentrações sobre o desempenho e controle da eimeriose em frangos de corte.** 2008. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, 2008.

ENGBERG, R. M.; HEDEMANN, M. S.; LESER, T. D.; et al. **Effect of zincobacitracin and salinomycin on intestinal microflora and performance of broilers.** *Poultry Science*, v. 79, p. 1311–1319. 2000 **estados de SP e MG.** 2010.

FACTA, Sao Paulo. 2009. p. 837-858.

FEDDERN, V.; BACILA, D. M.; CARON, L. **Uso racional de anticoccidianos na avicultura e estratégias para minimizar seu uso na produção animal.** *Avicultura Industrial*, Ano 107, n. 6, p. 16-22, 2016.

FERNANDO, M.A.; ROSE, M.E; MILLARD, B.J. ***Eimeria* spp. of domestic fowl: the migration of sporozoites intra-and extra-enterically.** *Journal Parasitology*, v. 73, n. 3, p.561-567, 1987.

GARDNER, S. L.; UPTON, S. J.; LAMBERT, C. R. JORDAN, O. C. **Redescription of *Eimeria escomeli* (Rastegaieff, 1930) from *Myrmecophaga tridactyla*, and a first report from Bolivia.** *Journal of the Helminthological Society of Washington*, v.58, n.1, p.16-18, 1991.

JOHNSON WT. **Coccidiosis of the chicken with special reference to species.** *Bulletin of oregon Agriculture Experimental Station* 1930, 353:325-333.

KAWAZOE U. **Coccidiose In Doença das Aves;** Campinas, FACTA, 2000:p391-405.

KAWAZOE, U. Coccidiose. In: BERCHIERI JUNIOR, SILVA, E. N.; DI FABIO, J.;

LILLEHOJ, H. S., DALLOUL, R. A., MIN, W. 2003. **Enhancing intestinal immunity to coccidiosis.** *World Poult.* 19 (coccidiosis 4): 18-21.

LOVATO.M; GAZONI.G **Livro doenças das aves, capítulo 5 – Coccidiose –** pagina 243. São Paulo, 2018.

Lucius, R. e Loos-Frank, B. **Parasitologia: Fundamentos para Biólogos, Medicamentos e Medicina Veterinária,** Spectrum Academic Publishing House, Berlim, Heidelberg, 1997.

MACDOUGALD, L. R. Coccidiosis. In: SAIF, Y. M.; BARNES, H. J.; GLISSON, J. R.; MACDOUGALD, L. R.; SWAYNE, D. E. **Diseases of Poultry**. 11. ed. Ames: Iowa State Press, 2003. p. 974-985.

MARTINS, G. F.; BOGADO, A. L. G.; GUIMARÃES JÚNIOR, J. S.; GARCIA, J. L. **Uso de vacinas no controle da coccidiose aviária**. Semina: Ciências Agrárias, v. 33, n. 3, p. 1166-1167, 2012.

MYLLYNIEMI, A. **Development of microbiological methods for the detection and identification of antimicrobial residues in meat**. 2004. 87f. *Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki*.

RAMBOZZI L. et al. **Effect of the granulometric characteristics of monensin sodium on controlling experimental coccidiosis in broiler chickens** Rev. Bras. Parasitol. Vet. v. 21, n. 1, p. 60-64, 2012.

RAMOS, L. S. N.; LOPES, J. B.; SILVA, S. M. M. S. **Desempenho e histomorfometriaintestinal de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade recebendo melhoradores decrescimento**. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 40, n. 8, p. 1738-1744, 2011.

REIS, J.; NOBREGA, P. **Doença das aves**. São Paulo: Instituto Biológico de São Paulo, 1936. 468 p.

ROSE, M E, AND HESKETH, P (1979). **Imumunity to coccidiosis: T-lymphocyte or B-lymphocyte animals, infect.immun**, 26, 630-7.

SCHIMIDT, A - Universidade Uniquímica: **Conheça o papel dos anticoccidianos** Saúde Animal - 28-Nov-2007 10:31 - Atualizado em 20/04/2016 Uniquímica

SCHNITZLER, B.E. e SHIRLEY, M. W. **Immunological aspects of infections with *Eimeria maxima*: a short review**. Avian Pathology, v. 28, p.537-543, 1999.

SESTI, L.; ZUANAZE, M. F. editores, **Doenças das aves**. 2a edicao. Campinas,

SHARMAN, P. A. et al. **Chasing the golden egg: vaccination against poultry coccidiosis**. Parasite Immunology, v. 32, p. 590–598, 2010.

Shirley MW. **A reappraisal of the taxonomic status of eimeira mivati edgat and seibold 1964, by enzyme elecctytophoresis and cross- immunity tests**. Parasitology 1979, 78:221-237.

TOLEDO, G. A.; ALMEIDA, J. D.; ALMEIDA, K. S.; FREITAS, F. L. **Coccidiosis in broiler chickens raised in the Araguaína region, State of Tocantins, Brazil**. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal, v. 20, n. 3, p. 249-252, 2011.

TOMASI, P. H. D. **Avaliação de vacinas contra a coccidiose e a utilização de peptídeos em frangos de corte**. 2006. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

TYZZER EE. Coccidiosis in Gallinaceous Birds. American Journal of Hygiene 1929; 10:269-383.

UNIÃO EUROPÉIA. Parlamento Europeu e Conselho. Regulamento (CE) n. 1831, de 22 de Setembro de 2003. **Relativo aos aditivos destinados à alimentação animal**. Lex: Jornal Oficial da União Européia, [Documento on line]. Disponível em: http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/pt/oj/2003/l_268/l_26820031018pt00290043.pdf

VERMEULEN, A. N.; SCHAAP, D. C.; SCHETTERS, T. H. P. M. **Control of coccidiosis in chickens by vaccination**. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 100, n. 1-2, p. 13-20, 2001

WALDENSTEDT, L. et al. **Sporulation of *Eimeria maxima* Oocysts in Litter with Different Moisture Contents**. *Poultry Science*, v. 80, p. 1412–1415, 2001.

PODODERMATITE SÉPTICA COM ROTAÇÃO DE FALANGE DISTAL EM EQUINO – RELATO DE CASO

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 25/08/2020

Daniela Scantamburlo Denadai

UNESP – Campus de Araçatuba (FMVA)
Araçatuba – SP
<http://lattes.cnpq.br/6090420744886237>

Fernando Vissani Fernandes

UNESP – Campus de Araçatuba (FMVA)
Araçatuba – SP
<http://lattes.cnpq.br/2587163801589537>

Daniela Bernadete Rozza

UNESP – Campus de Araçatuba (FMVA)
Araçatuba – SP
<http://lattes.cnpq.br/9625372096858183>

Paulo Sergio Patto dos Santos

UNESP – Campus de Araçatuba (FMVA)
Araçatuba - SP
<http://lattes.cnpq.br/5331938962896664>

Juliana Regina Peiró

UNESP – Campus de Araçatuba (FMVA)
Araçatuba – SP
<http://lattes.cnpq.br/2976129874554698>

Flávia de Almeida Lucas

UNESP – Campus de Araçatuba (FMVA)
Araçatuba – SP
<http://lattes.cnpq.br/7411508425015407>

RESUMO: Relata-se o caso de uma égua atendida no Hospital Veterinário da FMVA/UNESP com claudicação no membro pélvico

direito (MPD) e com histórico prévio de tratamento para tétano e laminite nos membros torácicos. O animal possuía múltiplas escaras e uma ferida na faixa coronária do MPD com início de exungulação. A radiografia distal do MPD revelou rotação da terceira falange em 21,1° associado a osteíte podal. Foi realizado curativo na ferida coronária e antibioticoterapia sistêmica. Para controle da dor, fenilbutazona intravenosa e anestesia epidural com morfina. Devido ao seu grave estado clínico e sem sinais de melhora, foi indicada a eutanásia do animal. A necropsia confirmou necrose nos bulbos, ranilha e no coxim digital, além de rotação e osteólise da falange distal. Destaca-se a importância dos processos sépticos distais em equinos e a relevância de um diagnóstico precoce e tratamento correto para evitar complicações que podem comprometer a vida do animal.

PALAVRAS-CHAVE: Infecção bacteriana, cavalos, casco, osteíte podal.

SEPTIC PODODERMATITIS WITH ROTATION OF THE DISTAL PHALANX IN HORSE – CASE REPORT

ABSTRACT: We report the case of a mare attended in the Veterinary Hospital of FMVA/UNESP with lameness in the right pelvic limb (RPL) and with previous history of treatment for tetanus and laminitis in the thoracic limbs. The animal had multiple bedsores and a wound in the coronary band of the RPL with beginning of loss of hoof. The distal radiograph of RPL revealed rotation of the third phalange in 21,1° associated to pedal osteitis. A dressing was performed in the coronary wound and systemic antibiotic therapy.

For pain control, intravenous phenylbutazone and epidural anesthesia with morphine. Due to its serious clinical condition and without signs of improvement, euthanasia of the animal was indicated. Necropsy confirmed necrosis in the bulbs, frog and digital cushion, as well as rotation and osteolysis of the distal phalanx. It stands out the importance of distal septal processes in horses and the relevance of an early diagnosis and correct treatment to avoid complications that can compromise the animal's life.

KEYWORDS: Bacterial infection, horses, hoof, pedal osteitis.

INTRODUÇÃO

Processos sépticos distais estão entre as causas de claudicação mais frequentemente diagnosticadas na prática equina. Após a penetração das bactérias, a infecção se desenvolve na região da lâmina sensível, acumulando material purulento, que aumenta a pressão interna do casco, conduzindo à dor severa. Há possibilidade da infecção se estender ao longo da parede, podendo romper na faixa coronária ou então ao longo da sola, resultando em osteíte podal séptica (AUER e STICK, 2012).

RELATO DE CASO

Foi atendida uma égua Mangalarga no Hospital Veterinário “Luiz Quintiliano de Oliveira”, da Faculdade de Medicina Veterinária – Campus de Araçatuba (FMVA/UNESP), de 7 anos de idade, com queixa de claudicação do membro pélvico direito (MPD) há 10 dias. O médico veterinário responsável havia prescrito um tratamento sistêmico com Azium®, Pentabiótico® e Maxicam® por 4 dias, além de unguento e Bactrovet® tópico nas feridas. Também foi relatado um histórico prévio de tratamento para tétano e laminite nos membros torácicos há 6 meses.

O animal apresentava-se magro, com taquicardia (82 batimentos por minuto), taquipneia (70 movimentos por minuto), hipertermia (38,9°C), mucosas oral e ocular congestas e ressecadas. Também havia presença de áreas alopecicas e ulcerativas correspondentes à úlceras de pressão/decúbito, em protuberâncias ósseas: articulação úmero-rádio-ulnar direita (13,0 cm x 5,0 cm); região da tuberosidade ilíaca direita (9,0 cm x 6,0 cm); face lateral do membro pélvico direito (19,0 cm x 8,0 cm); articulação fêmuro-tíbio-patelar direita (16,0 cm x 4,0 cm); articulação úmero-rádio-ulnar esquerda (12 cm x 6,0 cm); tuberosidade da escápula esquerda (4,0 cm x 2,0 cm); tuberosidade ilíaca esquerda (7,0 cm x 5,0 cm); face lateral da região tibial do membro pélvico esquerdo (13,0 cm x 6,0 cm).

Destaca-se a presença de uma ferida na faixa coronária do MPD (Figura 1A) na porção dorsomedial, medindo 5x10 cm, drenando secreção piosanguinolenta através do desprendimento parcial da faixa coronária, evidenciando comunicação

com o meio externo, ou seja, início do processo de exungulação. A sola encontrava-se abaulada em região de pinça e com drenagem de secreção pela ranilha e talão (Figura 1B).

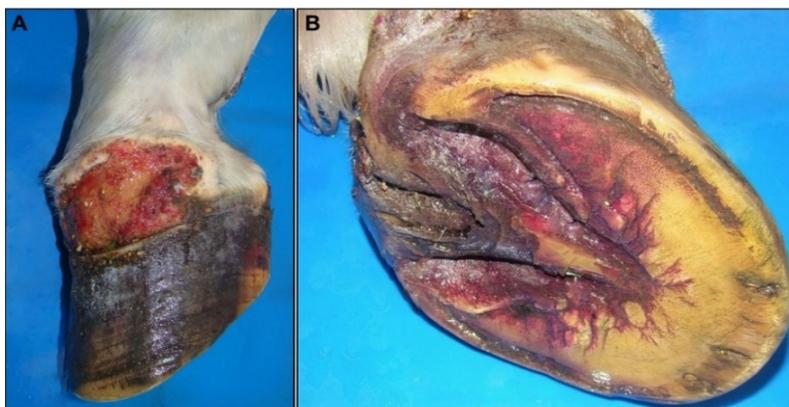


Figura 1: A- MPD com ferida em região coronária. B- Região do talão e da ranilha com área de necrose e sola abaulada na região de pinça.

O exame radiográfico distal do MPD (Figura 2A) revelou rotação plantar da falange distal em $21,1^\circ$ (mesurado de acordo com THRALL, 2002), associado a osteíte podal (irregularidade óssea da margem solear e presença de gás na região dorsal e plantar da terceira falange). Adicionalmente, periostite em superfície dorsal da falange média foi constatada.

O hemograma revelou uma leucocitose por neutrofilia ($17,89 \times 10^9/L$ leucócitos e $14,06 \times 10^9/L$ segmentados) e o perfil bioquímico lesão hepática, visto a hipoalbuminemia ($16,8 \text{ g/L}$) e aumentos de AST (416 U/L), GGT ($15,3 \text{ U/L}$) e bilirrubina indireta ($44,41 \mu\text{mol/L}$).

Foi realizada a limpeza da ferida coronária com água oxigenada e iodopolividona tópico, além de bandagem com atadura e esparadrapo. Antibioticoterapia sistêmica com ceftiofur (5 mg/Kg/IV/q24h) e gentamicina ($6,6 \text{ mg/Kg/IV/q24h}$) foi instituída, e para analgesia, feniilbutazona ($4,4 \text{ mg/Kg/IV/q24h}$) e anestesia epidural com morfina ($0,1 \text{ mg/Kg}$).

Durante as 24 horas de internamento o animal permaneceu alternando entre decúbito esternal e lateral com taquicardia, taquipnéia, hipomotilidade intestinal, hiporexia e hipodipsia. Deste modo, devido ao grave estado clínico do animal e sem sinais de melhora, foi indicada a eutanásia.

Na necropsia foi diagnosticada uma pododermatite necrosante com rotação de falange distal. Havia necrose extensa na região dos bulbos do talão, na ranilha

e de coxim digital do MPD. Ao corte observou-se rotação e osteólise da falange distal associada a conteúdo necrótico acastanhado fétido e destruição das lâminas (Figura 2B).

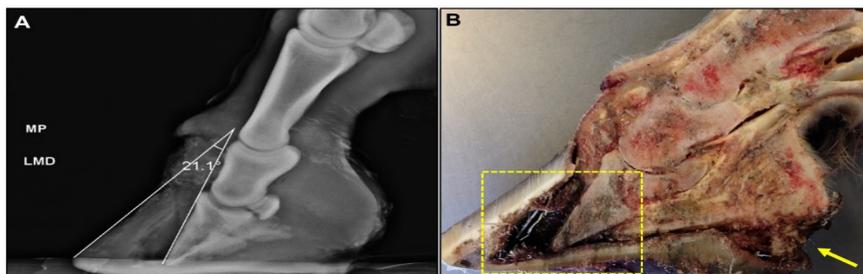


Figura 2: A- Projeção radiográfica latero-medial da região distal do MPD, exibindo 21,1° de rotação de falange distal e osteíte podal. B- Região distal do MPD ao corte, exibindo rotação e osteólise da falange distal (em destaque no retângulo amarelo) e área de necrose no coxim digital (seta amarela).

Macroscopicamente foi identificado fibrose capsular multifocal no fígado, que na microscopia foi caracterizado por uma hepatite periportal com infiltrado inflamatório mononuclear discreto. No estômago, nas regiões aglandular e do “*margo plicatus*”, havia úlceras multifocais.

DISCUSSÃO

As principais etiologias de infecções podais em equinos consistem na inserção de cravos erroneamente, ou por traumas com objetos pontiagudos, inseridos muito proximamente à lâmina sensível, que permite que as bactérias ao longo do casco induzam uma infecção. Um abscesso no casco pode se estender ao longo da parede dorsal e lateral do casco, em direção proximal, eventualmente romper na banda coronária, invadir estruturas articulares ou comprometer a falange distal, resultando em osteíte podal séptica (AUER e STICK, 2012).

Em consequência da necrose isquêmica do casco, pode haver o rebaixamento e a rotação da falange distal, ou seja, perda do paralelismo entre a face dorsal da falange com a muralha do casco, não havendo mais a relação de sustentação com o corium laminar. A rotação da falange distal ocorre em consequência da ação do tendão extensor digital comum, compressão da sola no sentido ventro-dorsal, e tração do tendão flexor digital profundo (THOMASSIAN, 2005).

O prognóstico é diretamente proporcional à gravidade e extensão do descolamento lamelar e tubular do casco. Cavalos com rotação acima de 15 graus possuem prognóstico ruim, sobretudo com o agravamento decorrente da infecção

podal. A eutanásia é recomendada por motivos humanitários, devido a incapacidade do animal de manter em pé ocasionada pela dor (POLLITT, 2008).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Processos sépticos distais possuem elevada importância na clínica de equinos, destacando-se a relevância de um diagnóstico precoce associado ao tratamento correto da pododermatite séptica, para evitar complicações que podem comprometer a vida do animal.

REFERÊNCIAS

AUER, J. A.; STICK, J. A. **Equine surgery**. Missouri: Elsevier, 4 ed., p. 1271-1274, 2012.

POLLITT, C. C. **Equine laminitis – Current Concepts**. Queensland: RIRDC, 100 p., 2008.

THRALL, D. E. **Veterinary diagnostic radiography**. Philadelphia: Saunders, 4 ed., p. 284-286, 2002.

THOMASSIAN, A. **Enfermidade dos cavalos**. São Paulo: Varela, 4 ed., p. 160-194, 2005.

CAPÍTULO 13

PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO PELO VÍRUS DA ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA EM CAPRINOS NO ESTADO DO MARANHÃO

Data de aceite: 01/12/2020

Ynady Ferreira Costa

Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão
São Luís, MA, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/6677273695427911>

Laudeci Pires Melo

Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão
São Luís, MA, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/0343549898994883>

Tânia Maria Duarte Silva

Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão
São Luís, MA, Brasil
<https://orcid.org/0000-0001-5456-4424>

Nancyleni Pinto Chaves Bezerra

Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI
São Luís, MA, Brasil
<https://orcid.org/0000-0003-3970-7524>

Daniel Praseres Chaves

Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI
São Luís, MA, Brasil
<https://orcid.org/0000-0002-5320-1469>

Adriana Prazeres Paixão

Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão
São Luís, MA, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/9251050234689040>

Cristian Alex Aquino Lima

BIONORTE
Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI
São Luís, MA, Brasil
<https://orcid.org/0000-0002-0815-1191>

Carla Janaina Rebouças Marques do Rosário

Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI
São Luís, MA, Brasil
<https://orcid.org/0000-0002-7682-8141>

Ferdinan Almeida Melo

Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI
São Luís, MA, Brasil
<https://orcid.org/0000-0001-6111-3672>

RESUMO: A Artrite Encefalite Caprina (AEC) é uma lentivirose causada pelo RNA vírus pertencente à família Retroviridae, subfamília Orthoretrovirinae e gênero *Lentivirus*. É uma doença de grande importância econômica, pois, o animal infectado torna-se portador persistente da enfermidade, acomete principalmente animais de alto valor zootécnico, ocorrendo desvalorização comercial de rebanhos infectados além de não haver tratamento e nem disponibilidade de vacina. Com isso o objetivo desse trabalho foi determinar a prevalência bem como os fatores de risco associados à infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina em caprinos no estado do Maranhão. Foram amostrados 390 caprinos de diferentes padrões raciais e idades variadas, procedentes de 39 propriedades

localizadas em municípios pertencentes às regiões leste, norte e oeste. O número de amostras coletadas foi o mesmo para todos os municípios e propriedades. Foi aplicado um questionário epidemiológico para obtenção de informações referentes às propriedades, animais estudados e fatores eventualmente associados à infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina. Foram analisadas as seguintes variáveis: tipo de ordenha, origem dos animais, criação em comum com ovinos, tipo de exploração, sistema de criação, raça, realização de quarentena, inseminação, compartilhamento de reprodutores com outras propriedades. Foram coletados 5mL de sangue através da punção da veia jugular para a pesquisa de anticorpos utilizando-se do Kit comercial para o teste de Micro Imunodifusão em gel de Ágar da Biovetech (Indústria e Comércio de Produtos Biotecnológicos LTDA – ME) de acordo com as instruções do fabricante. Para o estudo da associação entre a soropositividade e as variáveis analisadas, foi utilizado teste Exato de Fisher ou teste Qui-quadrado de independência, quando as condições para o teste Exato de Fischer não foram verificadas. O nível de significância utilizado foi de 5% (0,05) e intervalos com confiabilidade de 95%. Foi verificada uma soroprevalência de 7,69% (30/390) dos caprinos das regiões estudadas em 28,20% (11/39) das propriedades amostradas, destas 27,28% (3/11) eram produtoras de leite, 36,36% (4/11) de exploração mista e 36,36% (4/11) de animais cuja finalidade era produção de carne. A presença de caprinos reagentes nas regiões norte (76,67%) e leste (23,33%) do estado pode estar relacionada a uma maior concentração, nestas regiões, de animais com aptidão leiteira. Das regionais avaliadas, as cidades de São Luís, Caxias, Chapadinha e Itapecuru Mirim apresentaram animais reagentes. E, dos 13 municípios amostrados, 53,84% (7/13) evidenciaram pelo menos um animal com anticorpos anti-AEC. Estes dados indicam que a infecção pelo vírus da AEC está amplamente distribuída no estado. Os resultados obtidos demonstram que para o controle da infecção deve-se levar em conta as variáveis ordenha manual, origem dos animais de outros estados, criação em comum com ovinos, exploração leiteira, sistema de criação intensivo, raça e o compartilhamento de utensílios entre propriedades foram os principais fatores de risco associado à infecção pelo vírus da encefalite artrite caprina em caprinos do estado do Maranhão.

PALAVRAS-CHAVE: AEC, Maranhão, fatores de risco, prevalência.

PREVALENCE AND RISK FACTORS ASSOCIATED WITH INFECTION BY THE CAPRINE ENCEPHALITE AND ARTHRITIS VIRUS IN CAPRINES IN THE STATE OF MARANHÃO

ABSTRACT: Caprine Arthritis Encephalitis Virus (CAEV) is a lentivirus caused by the RNA virus belonging to the family Retroviridae, subfamily Orthoretrovirinae and genus *Lentivirus*. It is a disease of great economic importance, since the infected animal becomes a persistent carrier of the disease, affecting mainly animals of high zootechnical value, with commercial devaluation of infected herds occurring in addition to no treatment or availability of vaccine. Thus, the objective of this study was to determine the prevalence as well as the risk factors associated with infection by the caprine arthritis encephalitis virus in goats in the state of Maranhão. Were 390 goats of different racial patterns and varied ages were sampled, coming from

39 farms located in municipalities belonging to the east, north and west regions. The number of samples collected was the same for all municipalities and properties. An epidemiological questionnaire was applied to obtain information regarding properties, animals studied and factors possibly associated with infection by the caprine arthritis encephalitis virus. The following variables were analyzed: type of milking, origin of the animals, common breeding with sheep, type of holding, breeding system, breed, quarantine, insemination, sharing of breeders with other properties. Were collected 5mL of blood through puncture of the jugular vein for antibody testing using the Biovetech Agar Gel Micro Immunodiffusion test kit according to the instructions manufacturer. For the study of the association between seropositivity and the variables analyzed, Fisher's exact test or Chi-square test of independence was used, when the conditions for Fischer's exact test were not verified. The level of significance used was 5% (0.05) and intervals with 95% reliability. There was a seroprevalence of 7.69% (30/390) of goats in the studied regions in 28.20% (11/39) of the sampled properties, of these 27.28% (3/11) were milk producers, 36, 36% (4/11) of mixed exploitation and 36.36% (4/11) of animals whose purpose was meat production. The presence of reactive goats in the north (76.67%) and east (23.33%) regions of the state may be related to a higher concentration, in these regions, of animals with dairy aptitude. Of the evaluated regions, the cities of São Luís, Caxias, Chapadinha and Itapecuru Mirim presented reactive animals. And, of the 13 municipalities sampled, 53.84% (7/13) showed at least one animal with anti-CAE antibodies. These data indicate that infection with the CAE virus is widely distributed in the state. The results obtained demonstrate that for the control of the infection, the variables must be taken into account: manual milking, origin of animals from other states, common breeding with sheep, dairy farming, intensive farming system, breed and the sharing of utensils between properties were the main risk factors associated with infection by the caprine arthritis encephalitis virus in goats in the state of Maranhão.

KEYWORDS: CAEV, Maranhão, risk factors, prevalence.

INTRODUÇÃO

A Artrite Encefalite Caprina (AEC) é uma lentivirose que acomete caprinos de diferentes idades, raça e sexo (Castro & Melo 2001), causada pelo RNA vírus pertencente à família Retroviridae, subfamília Orthoretrovirinae e gênero *Lentivirus* (Al-Qudah et al. 2006). Caracteriza-se por longo período de incubação que pode variar de meses a anos, evolução assintomática ou sintomatologia progressiva e persistente, com o agravamento dos sintomas e morte do animal (Andrade et al. 2012).

Dentre as enfermidades de caprinos com maior disseminação pela falta de manejo adequado, destaca-se a AEC (Lara et al. 2005). A AEC é uma doença de grande importância econômica, pois, o animal infectado torna-se portador persistente da enfermidade, acomete principalmente animais de alto valor zootécnico, ocorrendo desvalorização comercial de rebanhos infectados além de não haver tratamento e

nem disponibilidade de vacina (Sampaio Júnior et al. 2011).

Nesse contexto, é essencial a preocupação com o estado sanitário dos rebanhos, uma vez que as exigências sanitárias para o comércio de animais e seus produtos têm aumentado significativamente (Castro & Melo 2001). Com isso o objetivo desse trabalho foi determinar a prevalência bem como os fatores de risco associados à infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina em caprinos no estado do Maranhão.

MATERIAL E MÉTODOS

Projeto aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual do Maranhão – CEEA/UEMA, sob protocolo nº 030/2012. Para delimitação da área de estudo, levou-se em consideração a divisão do estado em regiões de acordo com o Serviço de Defesa Agropecuária do Estado do Maranhão (AGED-MA).

A pesquisa foi realizada em 13 municípios tendo como critério o maior contingente de caprinos e/ou regiões com animais de melhor padrão zootécnico. Para a determinação do tamanho da amostra levou-se em consideração a prevalência de 18%, encontrada por Silva et al. (2012) no estado de Pernambuco, com um nível de confiança de 95% ($Z=1,96$) e uma variação de erro de 4%. Assim foram amostrados 390 caprinos de diferentes padrões raciais e idades variadas, procedentes de 39 propriedades localizadas em municípios pertencentes às regiões leste, norte e oeste. O número de amostras coletadas foi o mesmo para todos os municípios e propriedades.

Foi aplicado um questionário epidemiológico para obtenção de informações referentes às propriedades, animais estudados e fatores eventualmente associados à infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina. Foram analisadas as seguintes variáveis: tipo de ordenha, origem dos animais, criação em comum com ovinos, tipo de exploração, sistema de criação, raça, realização de quarentena, inseminação, compartilhamento de reprodutores com outras propriedades.

Foram coletados 5mL de sangue através da punção da veia jugular para a pesquisa de anticorpos utilizando-se do Kit comercial para o teste de Micro Imunodifusão em gel de Ágar da Biovetech (Indústria e Comércio de Produtos Biotecnológicos LTDA – ME) de acordo com as instruções do fabricante. Para o estudo da associação entre a soropositividade e as variáveis analisadas, foi utilizado teste Exato de Fisher ou teste Qui-quadrado de independência, quando as condições para o teste Exato de Fischer não foram verificadas. O nível de significância utilizado foi de 5% (0,05) e intervalos com confiabilidade de 95%. O programa utilizado para a obtenção da análise foi GraphPad Prism 5.0 (Prism Software, Irvine, CA, USA) e

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi verificada uma soroprevalência de 7,69% (30/390) dos caprinos das regiões estudadas em 28,20% (11/39) das propriedades amostradas, destas 27,28% (3/11) eram produtoras de leite, 36,36% (4/11) de exploração mista e 36,36% (4/11) de animais cuja finalidade era produção de carne. A presença de caprinos reagentes nas regiões norte (76,67%) e leste (23,33%) do estado pode está relacionada a uma maior concentração, nestas regiões, de animais com aptidão leiteira. Das regionais avaliadas, as cidades de São Luís, Caxias, Chapadinhos e Itapecuru Mirim apresentaram animais reagentes. E, dos 13 municípios amostrados, 53,84% (7/13) evidenciaram pelo menos um animal com anticorpos anti-AEC (Fig. 1).

Estes dados indicam que a infecção pelo vírus da AEC está amplamente distribuída no estado. A análise univariada demonstrou que as variáveis, ordenha manual, origem dos animais de outros estados, criação em comum com ovinos, exploração leiteira, sistema de criação intensivo e raça apresentaram associação estatística significativa ($P < 0,05$) para risco de ocorrência da infecção (Quadro 1). Quanto à variável manejo da ordenha verificou-se que as prevalências mais elevadas foram encontradas nos animais de propriedades que realizavam ordenha do tipo manual ($P < 0,05$).

Alves (1999) relatam que o leite contaminado com o vírus da AEC pode através de aerossóis, durante a ordenha manual contaminar as mãos do ordenhador, toalhas e outros fômites, aumentando assim, o risco de transmissão do vírus da artrite encefalite caprina. A variável origem dos animais foi associada à soropositividade ($P < 0,05$) para o vírus da AEC no presente estudo. A maior prevalência observada nos animais adquiridos de outros estados mostra que provavelmente, o vírus foi introduzido no estado do Maranhão através do comércio de caprinos, sem as devidas medidas de prevenção, corroborando com Bandeira et al. (2009) que também consideram o comércio de animais um importante fator de risco para a disseminação da infecção entre rebanhos.

Propriedades que criam concomitantemente caprinos e ovinos demonstraram que a presença desta última espécie pode ser um fator de risco ($P < 0,05$) para a infecção para AEC, uma vez que os ovinos são susceptíveis à infecção, tanto natural como experimental, por este vírus. É possível que esta espécie tenha um importante papel na epidemiologia dessa infecção, cabendo aos ovinos a susceptibilidade de se tornarem infectados assintomáticos (Pisoni et al. 2007).

Com relação ao tipo de exploração verificou-se um maior percentual de animais reagentes para a exploração leiteira, criados sob o sistema intensivo. No que

se refere à raça, os animais da raça Saanen foram os que apresentaram uma maior prevalência para a enfermidade ($P < 0,05$). Classicamente, têm-se estabelecido que a doença ocorra com maior frequência no rebanho leiteiro refinado (raças leiteiras) por ser manejado de forma mais intensiva quando comparado aos rebanhos criados de forma extensiva. O sistema de criação intensivo origina lotação exagerada das criações, além de ser submetido a manipulações tecnológicas, que mal aplicadas facilitam a transmissão horizontal ou vertical da doença (Mendes et al. 2011).

A falta de conhecimento de técnicas de manejo adequado por parte dos criadores sobre a artrite encefalite caprina, pode aumentar a probabilidade da disseminação da infecção entre os rebanhos, o que reforça a necessidade da implantação de programas de controle para esta doença.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstram que para o controle da infecção deve-se levar em conta as variáveis ordenha manual, origem dos animais de outros estados, criação em comum com ovinos, exploração leiteira, sistema de criação intensivo, raça e o compartilhamento de utensílios entre propriedades foram os principais fatores de risco associado à infecção pelo vírus da encefalite artrite caprina em caprinos do estado do Maranhão.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão – FAPEMA.

REFERÊNCIAS

- Al-Qudah K., Al-Majali A.M. & Ismail X.B. 2006. Epidemiological studies on caprine arthritis-encephalitis virus infection in Jordan. *Small Rumin. Res.* 66(1/3):181-186.
- Alves A.J.S., Gonçalves V.S.P., Figueiredo V.C.F., Lôbo J.R., Bahiense L., Amaku M., Ferreira F., Ferreira Neto J.S. & Dias R.A. 2009. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado da Bahia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.61, p.6-13.
- Andrade J.S.L., Azevedo S.S., Teles J.A.A., Higino S.S.S. & Azevedo E.O. 2012. Ocorrência e fatores de risco associado à infecção por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos e ovinos do semiárido paraibano. *Pesq. Vet. Bras.* 32(2):116-120.
- Bandeira D.A., Castro R.S., Azevedo E.O., Melo L.S.S. & Melo C.B. 2009. Seroprevalence of caprine arthritis encephalitis virus in goats in the Cariri region, Paraíba state, Brazil. *Vet. Journal* 180:399-401.

Castro R.S. & Melo L.E.H. 2001. Cae e Maedi-Visna: importância na saúde e produtividade de caprinos e ovinos e a necessidade de seu controle no Nordeste Brasileiro. *Ciênc. Vet. Tróp.*, Recife, 4(2):315-320.

Lara M.C.C.S.H., Birgel Júnior E.H., Fernandes M.A. & Birgel E.H. 2003. Infecção experimental do vírus da artrite-encefalite dos caprinos em cabritos. *Arqs Inst. Biológico*, São Paulo, 70(1):51-54.

Mendes E.I., Melo L.E.H., Tenório T.G.S., Sá L.M., Souto R.J.C., Fernandes A.C.C., Sandes H.M.M. & Silva T.I.B. 2011. Intercorrência entre leucose enzoótica e tuberculose em bovinos leiteiros do Estado de Pernambuco. *Arqs Inst. Biológico*, São Paulo, 78(1):1-8.

Pisoni G., Bertoni G., Puricelli M., Maccalli M. & Moroni P. 2007. Demonstration of coinfection with and recombination by caprine arthritis-encephalitis virus and maedi-visna virus in naturally infected goats. *J. Virol.* 81(10):4948-4955.

Sampaio Júnior A., Batista M.C.S., Cruz M.S.P., Silva R.A.B., Bona Nascimento C. & Werneck G.L. 2011. Prevalência da infecção por lentivírus de pequenos ruminantes em caprinos em Teresina, Piauí. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.63, n.3, p.757-760.

Silva J.G., Araújo P.B., Souza V.M.A., Silva Jr L.C., Alencar S.P., Nascimento S.A., Monteiro V.L.C., Castro R.S. & Coelho M.C.O.C. 2012. Soroprevalência de Lentivírus em caprinos leiteiros. *Med. Vet.* 6:9-12.

Variáveis		Artrite Encefalite Caprina (CAE)								
		Reagentes		Não Reagentes		Total		OR	IC 95%	P
		N	%	N	%	N	%			
Tipo de ordenha	Manual	21	5,38	101	25,90	122	31,28	5.98	2.65;13.50	0.00*
	Não ordenha	9	2,31	259	66,41	268	68,72			
Origem dos animais	Região	2	0,51	128	32,82	130	33,33	10.46		0.00**
	Estado	6	1,54	54	13,85	60	15,38			
	Outros	22	5,64	178	45,64	200	51,28			
	Estados									
Criação em comum com ovinos	Sim	9	2,31	199	51,03	208	53,33	0.34	015;077	0.01*
	Não	21	5,38	161	41,28	182	46,67			
Inseminação artificial	Sim	3	0,77	73	18,72	76	19,49	0.43	0.12;1.48	0.23*
	Não	27	6,92	287	73,59	314	80,51			
Tipo de exploração	Corte	5	1,28	245	62,82	250	64,10	70.44		0.00**
	Leite	16	4,10	24	6,15	40	10,26			
	Mista	9	2,31	91	23,33	100	25,64			

Sistema de criação	Intensivo	17	4,36	23	5,90	40	10,26	78,72	0.00**	
	Semi-intensivo	10	2,56	150	38,46	160	41,03			
	Extensivo	3	0,77	187	47,95	190	48,72			
Raça	Anglo Nubiano	9	2,31	71	18,21	80	20,51	73,19	0.00**	
	Saanen	16	4,10	24	6,15	40	10,26			
	SRD	5	1,28	265	67,95	270	69,23			
Realiza quarentena	Sim	14	3,59	214	54,87	228	58,46	1,67	0,79;3,53	0,18*
	Não	16	4,10	146	37,44	162	41,54			
Compartilha reprodutor	Sim	11	2,82	111	28,46	122	31,28	1,29	0,59;2,82	0,54*
	Não	19	4,87	249	63,85	268	68,72			

P<0,05 = estatisticamente significativo. P>0,05 = não estatisticamente significativo.

*Teste de Fisher, **Teste de Qui-quadrado.

Quadro 1. Fatores de risco para o vírus da Artrite Encefalite Caprina em caprinos de municípios no Estado do Maranhão.

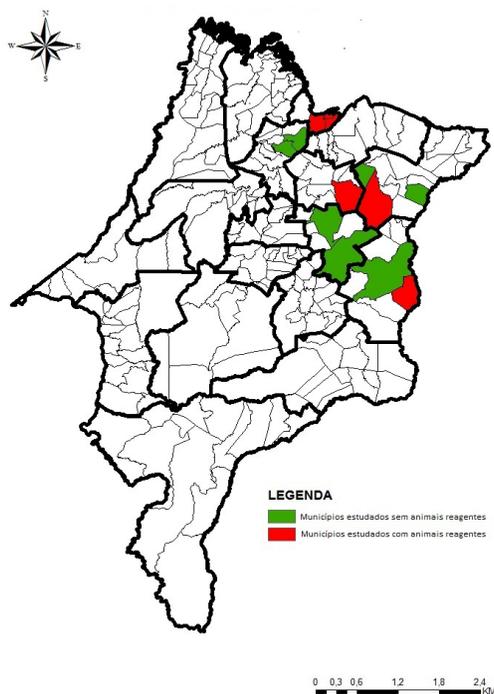


Figura 1. Municípios do Estado do Maranhão onde foi realizada a pesquisa em caprinos para detecção de anticorpos contra o vírus da Artrite Encefalite Caprina (AEC).

Fonte: AGED/MA.

CAPÍTULO 14

PRINCIPAIS AGENTES MICROBIANOS DA PIOMETRA CANINA

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 04/09/2020

Camila Falasca

Universidade de Marília
Marília - São Paulo, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/4598382113595276>

Amanda Stephanie da Silva Buchud

Universidade de Marília
Marília - São Paulo, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/1102373294636540>

Rômulo Francis Stangari Lot

Universidade de Marília
Marília - São Paulo, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/5914445400208066>

RESUMO: A piometra canina é uma afecção recorrente em cadelas adultas e tem como causa o estímulo inadequado de hormônios. Estudos apontam a *Escherichia coli* como agente mais isolado. Com isso, o objetivo desta pesquisa foi determinar os agentes mais frequentes e sua sensibilidade aos antimicrobianos, realizado no setor de patologia clínica do hospital veterinário da Universidade de Marília, entre Maio a Novembro de 2018. Fez-se o uso de 20 cadelas, sem raça definida, com idades de 4 a 15 anos, analisadas em ágar sangue, ágar macConkey e série bioquímica, a fim de diferenciar os agentes bacterianos. Em seguida, os sofreram testes antimicrobianos em ágar müeller hinton e discos de antibióticos. Os resultados determinados por porcentagem tiveram 80% dos pacientes como

positivos, deste os mais isolados procederam em 15% de *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* e *Streptococcus agalactiae*, com uma resistência aos antibióticos de 58,3%. Os dados citados demonstram diversidade entre os agentes bacterianos, e alta resistência da parte dos antibióticos, podendo isso ser explicada devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos e assim gerando uma linhagem multirresistentes de bactérias em cães.

PALAVRAS-CHAVE: Bactérias; antimicrobianos; prevalência; sensibilidade; resistência.

MAIN MICROBIAL AGENTS OF THE CANINE PIOMETRA

ABSTRACT: Canine pyometra is a recurrent condition in adult female dogs and is caused by inadequate hormone stimulation. Studies point to *Escherichia coli* as the most isolated agent. Thereby, the objective of this research was to determine the most frequent agents and their sensitivity to antimicrobials, carried out in the clinical pathology sector of the veterinary hospital of the University of Marília, between May and November 2018. Twenty bitches, mixed breed, aged 4 to 15 years, were analysed in blood agar, macConkey agar and biochemical series, in order to differentiate bacterial agents. Then, the microorganisms underwent antimicrobial tests on müeller hinton agar and antibiotic disks. The results displayed that 80% of the patients were positive and 15% showed *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* and *Streptococcus agalactiae*, with an antibiotic resistance of 58.3%. The cited data demonstrate diversity among bacterial agents, and high resistance on the part

of antibiotics, which can be explained due to the indiscriminate use of antimicrobials and thus generating a multi-resistant strain of bacteria in dogs.

KEYWORDS: Bacteria; antimicrobials; prevalence; sensitivity; resistance.

INTRODUÇÃO

A piometra é um processo inflamatório comum em cadelas, caracterizada pelo acúmulo de secreção purulenta no lúmen do útero (SILVA, 2009). Esta patologia é associada a repetidas e prolongadas respostas ao estrógeno durante o estro, seguida por intervalos de dominância da progesterona, ocasionando mudanças no endométrio (SMITH, 2006). Podendo ela ocorrer de duas formas, cérvix aberta ou cérvix fechada.

Diagnósticos de piometra aberta demonstram secreção vaginal sanguinolenta ou mucopurulenta em abundância. Todavia, na piometra fechada ocorre uma distensão e sensibilidade dolorosa do abdômen, com ausência de secreção vaginal (DE BOSSCHERE et al., 2001).

As bactérias *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas aeruginosa* e *Streptococcus* spp., são isoladas com maior frequência devido ao fato de pertencerem a flora vaginal normal (SILVA, 2009; WEISS et al., 2004; COGGAN et al., 2004). Nos países desenvolvidos a taxa de mortalidade pode chegar aos 4% (SHARIF, 2013), enquanto nos países subdesenvolvidos as taxas de mortalidade são mais altas (BASANTI, 2013).

O objetivo do presente trabalho consta na determinação dos agentes mais frequentes causadores da piometra canina e determinar a sensibilidade dos mesmos aos antimicrobianos testados.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no setor de patologia clínica do hospital veterinário da Universidade de Marília - Marília/SP, durante o período de Maio a Novembro de 2018. Fez-se o uso de 20 cadelas, sem raça definida, com idades entre 4 a 15 anos, dentre eles dois com 4 anos, três com 6 anos, quatro com 9 anos, quatro com 10 anos, dois com 11 anos, dois com 12 anos, dois com 13 anos e um com 15 anos, diagnosticadas com base em exames complementares.

A coleta do material ocorreu após o procedimento cirúrgico, com o útero depositado em uma bandeja estéril e lavado com álcool a 70%. O líquido intra-uterino foi aspirado com uma seringa de 3 ml estéril e imediatamente levado ao laboratório para análise.

Estas amostras foram semeadas em Agar-Sangue e Agar-Macconkey. Em seguida, as mesmas foram incubadas em condições de aerobiose a 37°C em até

48 horas. Após o crescimento das colônias, realizou-se o preparo das lâminas e coloração de gram, para identificação do material, com isto, realizou-se os testes bioquímicos, para determinar especificações do diagnóstico. Com a identificação da bactéria, procedeu-se o antibiograma com a semeadura do BHI em Ágar Müller Hinton e a deposição de discos de antibióticos, organizados sobre a placa com uma pinça estéril. Por fim, a placa foi incubação em temperatura de 37°C por 24 horas, formando então o desenho do halo ao redor do disco. Esta linha de medição foi analisada e comparada com as medidas internacionais “National Committee for Clinical Laboratory Standards”, interpretando e classificando o resultado de forma resistente, intermediário ou sensível.

Em teste foram utilizados os antibióticos: ampicilina (10mcg), amoxicilina associada a ácido clavulânico (30mcg), azitromicina (15mcg), cefalexina (30mcg), cefalotina (30mcg), ciprofloxacina (5mcg), doxiciclina (30mcg), enrofloxacina (5mcg), eritromicina (15mcg), gentamicina (10mcg) e trimetropina associada à sulfametoxazol (25mcg).

Todas as técnicas realizadas para isolamento, identificação e determinação do antibiograma foram determinadas conforme as literaturas estudadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que 80% das amostras desenvolveram crescimento de agentes microbianos, enquanto 20% obteve negatividade. Dentro os 80%, 15% foram de *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* e *Streptococcus agalactiae*, 10% *Salmonella* sp. e de 5% *Burkholderia pseudomallei*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Ainda, determinou-se a resposta dos antibióticos testados sobre os agentes isolados (Tabela 1).

ANTIBIÓTICOS	RESISTENTE	INTERMEDIÁRIO	SENSÍVEL
Ampicilina	75%	-	25%
Amox + Ácido Clavulânico	87,5%	-	12,5%
Azitromicina	87,5%	-	12,5%
Cefalexina	37,5%	12,5%	50%
Cefalotina	43,75%	18,75%	37,5%
Ciprofloxacina	25%	6,25%	68,75%
Cloranfenicol	18,75%	-	81,25%
Enrofloxacina	87,5%	-	12,5%
Eritromicina	93,75%	-	6,25%

Gentamicina	6,25%	6,25%	87,5%
Trimetropina + Sulfametoxazol	93,75%	-	6,25%
Tetraciclina	43,74%	-	56,25%

Tabela 1: Resultados obtidos a partir dos antibióticos testados.

No presente estudo, a idade atingida variou de 4 a 15 anos, dentre elas as mais predispostas foram com 9 a 10 anos, corroborando com SILVA (2009) que cita até 10 anos.

Identificou-se crescimento bacteriano de 80% (16/20) das amostras analisadas, com isolamento de nove cepas, sendo 55% gram-negativas e 45% gram-positivos. O percentual isolado corrobora com os estudos de OLIVEIRA et al. (2016), que cita 88,1% de isolamento bacteriano, com percentual de 64,6% gram-negativas e 35,4% gram-positivas. Os 20% com ausência de crescimento bacteriano podem ainda ser associados com OLIVEIRA et al. (2016), que demonstra em seu estudo cerca de 11,9% de resultados negativos, corroborando também com MEDEIROS (2015) que cita 14,29% sem crescimento, todos estes justificados em literatura pelo uso prévio de antimicrobianos ou por haver hiperplasia endometrial cística, que da origem a hematometra ou hidrometra.

Em relação às infecções simples, observou-se uma predominância das bactérias *Enterobacter aerogenes* (15%), *Escherichia coli* (15%) e *Streptococcus agalactiae* (15%), este dado discorda de OLIVEIRA et al. (2016) e MEDEIROS (2015) que cita a *Escherichia coli* como a mais frequente, com isolamento de 40,5%. Já as demais bactérias correlacionam-se com estudos de WEISS et al. (2004), COSTA et al. (2007) e COGGAN et al. (2008) que citam os mesmos agentes como menos isoladas em secreções uterinas. Todas estas isoladas são consideradas bactérias naturais da microbiota vaginal, e assim, justificando sua presença em infecções por ocorrer em via ascender através da cérvix dilatada para o útero durante o pro-estro ou estro (SILVA, 2009).

Em relação aos antibióticos verificamos uma resistência de 58,3%, a qual discorda de VOLPATO et al. (2014) que cita a prevalência de sensibilidade em 66,6%. Enquanto os que possuem alta resistência discorda citado, que demonstra tais resultados com sensibilidade (VOLPATO et al., 2014).

CONCLUSÃO

O presente estudo demonstra resultados de grande diversidade dos agentes bacterianos e uma alta resistência da parte dos antibióticos, tal fato é relacionado ao uso indiscriminado de antimicrobianos em subdoses, superdoses e descontinuidade das terapias passadas, que desta forma, causa uma seletividade por parte das

bactérias e torna a linhagem mais multirresistentes em cães.

REFERÊNCIA

Basanti J, Roa K.S., Reddy K.C.S., Raghavender K.B.P. **Physiological and haematological parameters of bitches affected with pyometra**. Veterinary World. Veterinayworld 2013; 6:409-412.

Costa R.G., Alves N.D., Nobrega R.M., Carvalho C.G., Queiroz I.V., Costa T.H.M. et al. **Identificação dos principais microrganismos anaeróbios envolvidos em piometras de cadelas**. Acta Scientiae Veterinariae;2007;35(2):650-651.

Coggan J.A., Melville P.A., Oliveira C.M., Faustino M., Moreno A.M., Benites N.R. **Microbiological and histopathological aspects of canine pyometra**. Brazilian Journal of Microbiology 2008; 39:477-483.

Coggan J.A., Oliveira C.M., Faustino M., Moreno A.M., Von Sydow A.C., Melville P.A. et al. **Microbiological study of intrauterine secretion from bitches with pyometra and research of virulence factors of Escherichia coli isolates**. Arquivos do Instituto de Biologia 2004; 71:1-749.

De Bosschere, Ducarelle H.R., Vermeirsch H., Van Den Broeck W. **Cystic endometrial hiperplasia-pyometracomplex in the bitch: should the two entities be disconnected**. Theriogenology 2001; 55:1509-1519.

Medeiros L.K.G. **Estudo Microbiológico de Cadelas Submetidas a Ovário-Histerectomia: Análise da Antissepsia com ou sem Banho Prévio e Identificação de Bactérias Causadoras de Piometra** [Dissertação de Mestrado]. Patos: Universidade Federal de Campina Grande; 2015.

Oliveira F.S., Paz L.N., Mota T.M., Oriá A.P., Silva M.C.A., Pinna M.H. **Perfil de resistência de isolados de Escherichia coli a partir de piometra canina**. Ciência Animal Brasileira 2016; 17(4).

Oliveira F.S., Paz L.N., Mota T.M., Oriá A.P., Silva M.C.A., Pinna M.H. **Perfil de resistência de isolados de Escherichia coli a partir de piometra canina**. Ciência Animal Brasileira 2016; 17(4):615-621.

Silva E.E.P. **Piometra canina**. [Dissertação de Mestrado]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Univerdidade “Julio de Mesquita Filho”; 2009.

Smith F.O. **Canine pyometra**. Theriogenology 2006; 66:610–612.

Sharif H., Hagman R., Wang L., Eriksson S. **Elevation of serum thymidine kinase 1 in a bacterial infection: Canine piometra**. Theriogenology 2013; 79:17-23.

Volpato R., Araujo M.S., Tsunemi M.H., Listoni F.J.P., Ribeiro M.G., Lopes M.D. **Caracterização microbiológica e perfil de resistência das bactérias isoladas do útero de cadelas com piometra aberta e fechada**. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias 2014; 109 (591-592):100-104.

Weiss R.R., Calomeno M.A., Sousa R.S., Briersdorf S.M., Muradás P. **Avaliação histopatológica, hormonal e bacteriológica da piometra na cadela.** Archives of Veterinary Science 2004; 9(2):81-87.

PROBLEMAS RESPIRATÓRIOS ASSOCIADOS À EFICÁCIA DO ÁCIDO PERACÉTICO DIAGNOSTICADOS EM CÃES E GATOS

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 04/09/2020

Ester Antonia Bianchet

Universidade do Oeste de Santa Catarina
UNOESC
Iraceminha – Santa Catarina
<http://lattes.cnpq.br/0626911584138909>

Fernanda Canelo Bandiera

Universidade do Oeste de Santa Catarina
UNOESC
São Miguel do Oeste – Santa Catarina
<http://lattes.cnpq.br/7598971469098688>

Daniele Cristine Beuron

Universidade do Oeste de Santa Catarina
UNOESC
São Miguel do Oeste – Santa Catarina
<http://lattes.cnpq.br/6958350573582558>

RESUMO: A infecção hospitalar (IH) é um grave problema de saúde pública e está entre as principais causas de morbidade e mortalidade, acarretando em aumento no tempo de hospitalização e, conseqüentemente, gerando elevados custos adicionais para o tratamento dos doentes. O processo de desinfecção envolve a ação de agentes químicos que são permitidos pelo Ministério da Saúde, controlados por legislação específica através da Portaria nº 15 - MS de 1988. Entre outros, são indicados alguns aldeídos, compostos fenólicos, quaternários de amônia, compostos orgânicos liberadores de cloro ativo, iodo e derivados, álcoois, glicóis e biguanidas

(BASSO, 2009). O experimento foi realizado no Laboratório de Microbiologia (LAMIVET) do Curso de Medicina Veterinária Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC - Unidade de São Miguel do Oeste) – Análises microbiológicas. Foi explorada a possibilidade de identificação de patógeno envolvido ou responsável por problemas respiratórios em cães e gatos, isolados de tubos endotraqueais. As amostras foram coletadas de tubos endotraqueais submetidas a diferentes tratamentos. Tratamento 1 - um grupo controle (tubo novo, esterilizado pelo fabricante). Tratamento 2 - Lavagem com água e sabão. Tratamento 3 - Os tubos foram submetidos à imersão em ácido peracético (rotina da CLINIVET). A lavagem e esterilização dos tubos foram realizadas na Central de Esterilização da CLINIVET – UNOESC pela técnica em enfermagem responsável, utilizando o mesmo protocolo adotado rotineiramente, posteriormente os dados foram tabulados. Os resultados revelaram diferença significativa ($P>0,005$) na quantidade de unidades formadoras de colônias (UFC), por mililitro, entre os tubos lavados apenas com água e sabão ($0,89\pm 0,38$ log) e aqueles com imersão em ácido peracético ($0,27\pm 0,51$ log).

PALAVRAS CHAVE: Ácido peracético, tubos endotraqueais, infecções respiratórias hospitalares.

BREATHING PROBLEMS ASSOCIATED WITH THE EFFECTIVENESS OF PERACETIC ACID DIAGNOSED IN DOGS AND CATS

ABSTRACT: Hospital infection (HI) is a serious public health problem and is a major cause of morbidity and mortality, leading to an increase in hospitalization time and, consequently, generating high additional costs for the treatment of patients. The disinfection process involves the action of chemical agents that are allowed by the Ministry of Health controlled by specific legislation through concierge nº 15 - MS of 1988. Among others, some aldehydes, phenolic compounds, ammonium quaternaries, organic liberating compounds of active chlorine, iodine and derivatives, alcohols, glycols and biguanides (BASSO, 2009). The experiment was carried out at the Laboratory of Microbiology (LAMIVET) of the Veterinary Medicine Course at the University of the West of Santa Catarina (UNOESC - São Miguel do Oeste Unit) - Microbiological analyzes. The possibility of identifying pathogen involved or responsible for respiratory problems in dogs and cats isolated from endotracheal tubes was explored. Samples were collected from endotracheal tubes submitted to different treatments. Treatment 1 - a control group (new tube, sterilized by the manufacturer). Treatment 2 - Wash with soap and water. Treatment 3 - The tubes were immersed in peracetic acid (CLINIVET routine). The tubes were sterilized and sterilized at the Sterilization Center of CLINIVET - UNOESC for the responsible nursing technique, using the same protocol routinely adopted, after which the data were tabulated. The results showed a significant difference ($P > 0.005$) in the number of colony forming units (CFU) per milliliter between tubes washed with soap and water alone (0.89 ± 0.38 log) and those with peracetic acid immersion ($0, 27 \pm 0.5$ log).

KEYWORDS: Peracetic acid. endotracheal tubes. hospital respiratory infections.

INTRODUÇÃO

A hospitalização de animais doentes aumenta muito o risco de ocorrência de infecções. O médico veterinário tem obrigação de minimizar o risco de danos adicionais que podem ser subsequentes às suas intervenções e isso inclui minimizar a exposição dos pacientes a agentes infecciosos que podem levar à infecção nosocomial, considerando que, em alguns casos, o agente infeccioso pode ser zoonótico (ANDRADE, 2000).

A infecção hospitalar (IH) é um grave problema de saúde pública e está entre as principais causas de morbidade e mortalidade, acarretando no aumento do tempo de hospitalização e, conseqüentemente, gerando elevados custos adicionais para o tratamento dos doentes. O processo de desinfecção envolve a ação de agentes químicos que são permitidos pelo Ministério da Saúde, controlados por legislação específica através da Portaria nº 15 - MS de 1988. Entre outros, são indicados alguns aldeídos, compostos fenólicos, quaternários de amônia, compostos orgânicos liberadores de cloro ativo, iodo e derivados, álcoois, glicóis e biguanidas (BASSO, 2009).

Segundo Medeiros et al. (2003) apesar dos grandes avanços em todas as áreas da cirurgia o controle da infecção ainda é um grande desafio, sendo que a profilaxia pode ser considerada o maior aliado do cirurgião para manter a infecção sob controle. Esses autores afirmam, também, que a infecção cirúrgica é uma entidade clínica e envolve vários fatores, para reduzir e controlar sua incidência é necessário aplicar medidas preventivas, educacionais e de controle epidemiológico. Portanto, é de suma importância que o ambiente hospitalar e seus utensílios, equipamentos, instrumentais sejam esterilizados e que seja feita a desinfecção correta para evitar problemas como a disseminação de doenças zoonóticas ou que causem nos animais problemas respiratórios entre outros, em função da má desinfecção ou inexistência de tais procedimentos.

Segundo SERVIN et al., (2011) o tubo endotraqueal (TET) é muito utilizado na área médica em pacientes que necessitam de ventilação mecânica (VM). Essa ocorrência pode corresponder a um curto período de tempo como, por exemplo, em anestésias gerais, ou ainda por período mais prolongado, como nos pacientes que necessitam de VM nas unidades de terapia intensiva (UTI). Na medicina veterinária, os equipamentos inalatórios não são todos descartáveis ou trocados entre uma anestesia e outra como em humanos, com isso, a chance de contaminação é maior, visto que é um ambiente úmido, quente e pode ter resíduos orgânicos (secreções, sangue), em alguma porção, tornando esse espaço próprio para a proliferação de bactérias ou fungos (GOLLO et al. 2015).

Depara-se com grande dificuldade de esterilização dos tubos, segundo GOLLO et al (2015), por serem compostos frágeis, alguns métodos de desinfecção e esterilização acabam por reduzir a vida útil desses aparelhos. Como os tubos não podem ser esterilizados, pois não podem ser aquecidos a altas temperaturas, um dos métodos utilizados para desinfecção é através da utilização de ácido peracético.

O ácido peracético foi inserido no mercado internacional em 1995, como um agente desinfetante ou esterilizante, sendo utilizado amplamente e principalmente em indústrias alimentícias, bem como no tratamento de água. Possui em sua composição além de ácido peracético, ácido acético e dióxido de hidrogênio. Em sua decomposição deixa como subprodutos: água, ácido acético e oxigênio (FRANCARO, 2005).

Para Francaro (2005), o ácido peracético é considerado um potente microbicida, de rápida atividade contra bactérias vegetativas, esporos bacterianos, fungos e vírus. Já utilizado em áreas hospitalares para esterilização de hemodializadores e desinfecção de alto nível.

Embora numerosos agentes infecciosos possam causar pneumonia intersticial, a maioria dos casos é de origem bacteriana e os microrganismos causadores mais comuns são: *Bordetella bronchiseptica*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*

spp., *Pseudomonas* spp., *Pasteurella* spp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp.. O vírus da cinomose e o vírus da influenza canina também são importantes patógenos causadores da pneumonia (ERLES et al. 2004; PAVELSKI et al.2012).

Já em um estudo desenvolvido por BASSO et al (2009) as bactérias isoladas do lavado broncoalveolar foram: *Haemophilus aphrophilus*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosas* e *Proteus mirabilis*. Em um estudo realizado por GOLLO et al (2015), em amostras logo após o procedimento de anestesia, observou-se contaminação por *Staphylococcus* spp. (responsável por maior parte da contaminação) e *Candida* spp, Já na segunda coleta, quarenta e oito horas após a última anestesia realizada (48 horas), o *Staphylococcus* spp., se sobressaiu, mostrou -se, assim, resistente a longo prazo.

Apesar dos grandes avanços em todas as áreas da cirurgia, o controle da infecção continua sendo um grande desafio. É cada vez mais atual a ideia de que a profilaxia é a maior aliada do cirurgião, fazendo-se necessário um grande esforço para manter a infecção sob control, dentro dos padrões aceitáveis e preconizados pelas instituições nacionais e internacionais que lidam com o problema. (PEREIRA et al., 1996). O presente trabalho tem o objetivo de quantificar, isolar e identificar a presença de microrganismos considerados patógenos presentes em amostras oriundas de tubos endotraqueais em cães e gatos, correlacionando com a eficácia da desinfecção do ácido peracético.

MATERIAS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Microbiologia (LAMIVET) do Curso de Medicina Veterinária Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC - Unidade de São Miguel do Oeste) – Análises microbiológicas. Foi explorada a possibilidade de identificação de patógeno envolvido ou responsável por problemas respiratórios em cães e gatos, isolados de tubos endotraqueais. As amostras foram coletadas de tubos endotraqueais submetidas a diferentes tratamentos. Tratamento 1 (T1) - um grupo controle (tubo novo, esterilizado pelo fabricante). Tratamento 2 (T2) - Lavagem com água e sabão. Tratamento 3 (T3) - Os tubos foram submetidos à imersão em ácido peracético (rotina da CLINIVET). A lavagem e esterilização dos tubos foram realizadas na Central de Esterilização da CLINIVET – UNOESC pela técnica em enfermagem responsável, utilizando o mesmo protocolo adotado rotineiramente. O protocolo consiste em imergir completamente o tubo em ácido peracético 0,15% por 20 minutos, enxaguar e secar com compressas e ar quente. Após os tratamentos, foram coletadas amostras com auxílio de swab para cada tubo. O meio de coleta utilizado foi solução salina a 12%. Foram tubos endotraqueais

constituídos de PVC (Rüsch®, Teleflex Medical Company).

O preparo das amostras para análise microbiológica para identificação do agente consistiu em realizar as sementeiras nos meios específicos para cada microrganismo estudado; para a família *Enterobacteriaceae* utilizou-se o ágar MacConkey-sorbitol (MCS) (Himedia); e o meio Sabouraud Dextrose Agar (SDA) foi utilizado para identificação de fungos filamentosos e leveduras a 28 °C, após 48 horas para leveduras, e após 120 horas de incubação para fungos filamentosos. A identificação dos gêneros *Staphylococcus* spp., foi realizada no meio de cultura Sal manitol (himedia), *Streptococcus* spp., *cândida spp.*; e demais microrganismos foram realizadas no meio Blood Ágar Base (BAB) acrescido sangue de carneiro (5 a 10%), meio enriquecido não seletivo, sendo ambas realizadas duplicadas, as placas incubadas, a 37°C por 48 horas

Para a contagem do número de colônias foi utilizado o meio de cultura Plate Count Agar (PCA) (Himedia), triplicatas de cada amostra, ambas incubadas a 37°C por, 24 horas, utilizando diluição seriada, com água peptonada 1%. Todas as contagens foram feitas em unidades formadoras de colônias (UFC/ml), sendo essas posteriormente transformadas em Log 10. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com medidas repetidas no tempo, utilizando o procedimento Mixed. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade dos erros, à análise de variância univariada e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade. Sendo o coeficiente de variação estabilizado pela transformação dos valores para log UFC/ml. As análises foram conduzidas com auxílio do pacote estatístico SAS (SAS, 1997)

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados da cultura bacteriana quantitativa revelaram diferença significativa ($P > 0,005$) na quantidade de unidades formadoras de colônias (UFC), por mililitro, entre os tubos lavados apenas com água e sabão ($0,89 \pm 0,38$ log) e aqueles com imersão em ácido peracético ($0,27 \pm 0,51$ log) (Tabela 1). A contagem média de UFC mL⁻¹ encontrada nas amostras dos tubos lavados apenas com água e sabão (3,6 log), mostra que esse método realizado isoladamente não é eficiente, resultados estão de acordo com os autores ARIAS et al. (2013) que consideram valores acima de $1,7 \times 10^3$ UFC mL⁻¹ (3,2 log) como crescimento bacteriano clinicamente relevante. O risco pra infecção de sítio cirúrgico é considerado elevado quando a contaminação exceder 105 microrganismos por grama de tecido (OWENS et al., 2008). O risco de infecção correlaciona-se com a quantidade de inóculo microbiano, a sua virulência e varia inversamente com a resistência do paciente (NICHOLSON et al. 2002).

	Controle (T1)	Água com sabão(T2)	Acido Peracético (T3)	Log
Amostra 1	0,21x 10 ²	0,70x 10 ³	0,30x 10 ³	3,8
amostra 2	0,33x 10 ¹	0,80x 10 ²	0,34x 10 ³	5,2
Amostra 3	0,25x 10 ¹	0,32x 10 ¹	0,46x 10 ²	4,3
Amostra 4	0	0,18x 10 ²	0,39x 10 ²	2,8
Amostra 5	0	0,50x 10 ³	0,30x 10 ¹	3,3
Amostra 6	0	0,79x 10 ³	0,34x 10 ¹	4,2
Amostra 7	0,25 x 10 ²	0,32 x 10 ²	0,59x 10 ²	4,7
Amostra 8	0,33x 10 ¹	0,18x 10 ²	0,47x 10 ²	5,2
Amostra 9	0,12x 10 ¹	0,70x 10 ²	0,30x 10 ²	3,4
Amostra 10	0	0,79x 10 ¹	0,34x 10 ¹	5,6
Amostra 11	0,25x 10 ¹	0,32* x 10 ²	0	3,4
Amostra 12	0	0,18x 10 ²	0,44x 10 ²	3,8
Amostra 13	0	0,70* x 10 ²	0,30x 10 ¹	5,8
Amostra 14	0,15 x 10 ²	0,79x 10 ²	0,34 x 10 ²	2,6
Amostra 15	0,1x 10 ³	0,32x 10 ²	0	4,8
Amostra 16	0,24x 10 ³	0,70x 10 ³	0,30x 10 ¹	3,2
Amostra 17	0,11x 10 ³	0,79x 10 ³	0,34x 10 ¹	4,3

CPP: contagem padrão em placa *P<0,01

Tabela 1 - Resultado da contagem bacteriana em placa(CPP), das amostras de tubos endotraqueais, submetidos a diferentes tratamentos.

Fonte: BIANCHET, 2019

As bactérias isoladas em T2 (água e sabão) foram semelhantes àquelas encontradas nas infecções nosocomiais ou hospitalares de cães, constatando-se porcentagens de *Escherichia coli* (T2: 25%), *Staphylococcus aureus* (T2: 18,8%), *Klebsiella pneumoniae* (T2: 25%) e *Candida* sp. (T2: 12,5%) (Tabela 2). HAWKINS (2002) relatou esses microrganismos como agentes presentes nas infecções respiratórias de cães, semelhantemente aos isolados de aspirado transtraqueal realizados por ANGUS et al. (1997).

No entanto, diferem na ordem de maior expressão, pois para os últimos autores as bactérias da família *Enterobacteriaceae* foram isoladas mais comumente ao passo que os *Staphylococcus* sp. tiveram menor significância. Assim como *K. pneumoniae* e *Candida* sp. Essa variação em relação à literatura atribui-se, possivelmente, à existência de diferença regional dos agentes envolvidos nas enfermidades respiratórias de cães. Uma ampla variedade de bactérias pode resultar, por exemplo, em pneumonia, presumivelmente como invasores oportunistas. Os isolados mais comuns são: *Escherichia coli*, *Pasteurella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* e *Klebsiella* (ETTINGER e FELDMAN, 1997). Em um estudo realizado por GOLLO et al (2015), em amostras logo após o procedimento de anestesia, observou-se contaminação por *Staphylococcus* spp. (responsável por maior parte da contaminação) e *Candida* spp.,. Já, na segunda coleta, quarenta

e oito horas após a última anestesia realizada (48 horas), o *Staphylococcus* spp. sobressaiu-se, mostrou - se resistente a longo prazo.

Os *Staphylococcus* compreendem bactérias Gram positivas, catalase positivas em sua grande maioria são anaeróbicos facultativos, são microrganismos cosmopolitas, e são agentes comensais na pele tanto de animais, quanto humanos. Dessa forma, a contaminação do aparelho pode ser decorrente do paciente, como também do anestesista. Podem ser encontradas membranas mucosas do trato superior e inferior do trato urogenital e agentes transitórios no trato digestivo. Por serem bactérias patogênicas, frequentemente, causam lesões supurativas e a presença de pequenos traumas ou imunossupressão podem predispor o desenvolvimento de infecções (GOLLO et al.,2015; QUINN, 2005).

O gênero *Cândida* é composto por leveduras, que vivem como comensais na microbiota de homens e animais, dessa forma esse gênero não causa nenhum dano aos seus hospedeiros. Todavia podem se tornar patogênicos devido a distúrbios nas proteções física, química e imunológica. O isolamento de espécies de *Cândida* a partir da microbiota de animais saudáveis, em especial os cães, é pouco relatado. Sabe-se, que espécies do gênero habitam sítios como tubo digestivo, mucosas e pele de variados animais. No entanto, em Medicina Veterinária, são fatores predisponentes a infecções por *Cândida*, a idade, presença de doenças autoimunes, diabetes mellitus, uso de corticosteroide, antibioticoterapia, cateterismo venoso e urinário e administração de nutrição parenteral (GOLLO et al.,2015; BRITO et al., 2009).

Os agentes isolados da região traqueobrônquica são relacionados ao meio ambiente, sendo frequentemente inalados e encontrados compondo a microbiota do trato respiratório anterior de ruminantes saudáveis (VOGEL et al. 2001, GRIFFIN et al. 2010; BENESI et al 2013). A esse respeito, o conhecimento contínuo e atualizado das bactérias responsáveis pela infecção do aparelho respiratório adquirida na população canina do Brasil é importante, não só porque tem um aumento nas resistências aos antimicrobianos, mas também porque possibilita o acompanhamento mais fidedigno da situação nacional desses agentes. Nos tubos que receberam tratamento com ácido peracético, ou testados antes de serem utilizados o crescimento foi negativo ou insignificante do ponto de vista clínico, o que já era esperado. O ácido peracético foi inserido no mercado internacional em 1995, como um agente desinfetante ou esterilizante, sendo utilizado amplamente e principalmente em indústrias alimentícias, bem como no tratamento de água. Possui em sua composição além de ácido peracético, ácido acético e dióxido de hidrogênio. Em sua decomposição deixa como subprodutos: água, ácido acético e oxigênio (FRANCARO, 2005).

Tratamentos	<i>E. coli</i> (n=17) %	<i>S. aureus</i> (n=17) %	<i>K. pneumoniae</i> (n=17)	Cândida sp.(n=17) %	Negativo (n=17) %
T1 – Controle	0,3	0	0	0,4	99,3
T2 –Água e sabão	25	18,8	25	12,5	18,7
T2–Ácid. Peracético	0	0,2	0	0,3	99,5

P>0,005.

Tabela 2 – Resultado da cultura bacterina de amostras de tubos endotraqueais, submetidos a diferentes tratamentos

Fonte: BIANCHET,2019.

O ácido peracético, também pode ser chamado de ácido peroxiacético (PAA), segundo CERETTA (2008), é considerado um forte agente oxidante e desinfetante, está comercialmente disponível na forma de uma mistura de equilíbrio quaternário, que contém ácido acético e peróxido de hidrogênio, PAA e água.

Para FRANCARO (2005), o ácido peracético é considerado um potente microbicida, de rápida atividade contra bactérias vegetativas, esporos bacterianos, fungos e vírus. Já utilizado em áreas hospitalares para esterilização de hemodializadores e desinfecção de alto nível.

A eficiência de desinfecção utilizando o ácido peracético frente a microrganismos pode ser demonstrada da seguinte maneira geral: Bactérias > vírus > Esporos bacterianos > cistos protozoários. (LIBERTI e NOTARNICOLA, 1999; RUDD e HOPKINSON, 1989; CERETTA, 2008).

CONCLUSÃO

Com a contagem padrão em placa foi possível observar diferenças significativas (P>0,005) na quantidade de unidades formadoras de colônias (UFC), por mililitro, entre os tubos lavados apenas com água e sabão (0,89±0,38 log) e aqueles com imersão em ácido peracético (0,27±0,51 log), demonstrando, assim, que o método de lavagem apenas com água e sabão não é eficiente, uma vez que possibilita o crescimento bacteriano clínico relevante para infecções em sítios cirúrgicos. Nas bactérias isoladas em T2 (água e sabão) os resultados foram semelhantes àqueles encontrados nas infecções nosocomiais ou hospitalares de cães, constatando-se porcentagens de *Escherichia coli* (T2: 25%) *Staphylococcus aureus* (T2: 18,8%) *Klebsiella pneumoniae* (T2: 25%) e *Candida* sp. (T2: 12,5%). Porém o risco de infecções respiratórias em cães e gatos está relacionado com a quantidade de inóculo microbiano, a sua virulência e depende da resistência do

paciente.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, D.; ANGERAMI, E. L. S.; PADOVANI, C. R. **Condição microbiológica dos leitos hospitalares antes e depois de sua limpeza.** Revista de Saúde Pública, São Paulo, v. 34, n. 2, p.163-9, abr. 2000.
- ARIAS, M.V. B; AIELLO,G.; BATTAGALLIA, L DE A.; FREITAS, J.C.DE. **Estudo da ocorrência de infecção hospitalar em cães e gatos em um centro cirúrgico veterinário universitário.** Pesq. Vet . Brasil, volume 33, no. 6 Rio de Janeiro. 2013.
- ANGUS, J. C.; JANG, S. S.; HIRSH, D. C. **Microbiological study of transtracheal aspirates from dogs with suspected lower respiratory tract disease: 264 cases (1989-1995).** Journal American Veterinary Medical Association, v. 210, n. 1, p. 55-58, 1997.
- BASSO, P. C; RAISER, A.G.; BRUN M.V.; SANTOS, L.R.; MULLER, D.C DE M.; TRINDADE, A,B. **Identificação bacteriana e sensibilidade antimicrobiana do fluido de lavagem traqueobrônquica de cães sadios e doentes.** Ciência Animal Brasileira, v. 10, n. 3, p. 947-954, jul./set.2009.
- BENESI, F.J.; G. BERTAGNON,G.H.; WACHHOLZ,L; Marta L.R. LEAL, M.L. R.; FERNANDES,R.W.; BENITES,R.N.; MELVILLE, A.P. **Microbiota bacteriana e citologia da região traqueobrônquica de bezerras no período neonatal.** Pesq. Vet. Bras. 33(6):700-704, junho 2013
- BRITO, E. H. S., FONTENELLE, R. O. S., BRILHANTE, R. S. N., CORDEIRO, R. A., SIDRIM, J. J. C. e ROCHA, M. F. G. **Candidiose em Medicina Veterinária: Um enfoque micológico, clínico e terapêutico.** Ciência Rural, Santa Maria, v.39, n9, p2655-2664, dez, 2009.
- CERETTA RENAN ANTONIO. **Avaliação da eficiência do ácido peracético na esterilização de equipamentos odontológicos.** Dissertação (Mestre) Universidade do Extremo Sul Catarinense Criciúma (SC), fevereiro de 2008.
- ERLES, K.; DUBOVI, E.J.; BROOKS, H.W.; *et al.* Longitudinal study of viruses associated with canine infectious respiratory disease. **Journal of Clinical Microbiology**, v.42, n.10, p.4524–4529, 2004.
- ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C.; **Tratado de Medicina Interna Veterinária;** Manole; 4ª ed.; Vol. 1; Cap. 89; São Paulo; p. 1101 – 1136; 1997.
- FRACARO GISELE BAGGIO. **Influência na imersão em desinfetante a base de ácido peracético sobre as propriedades de um compósito odontológico de uso direto.** / GISELE BAGGIO FRACARO -2005, Porto Alegre.58F.il., p. 28-32.
- GOLLO, A,K; VIANA, M,L; CADURI,T,M; DALLA ROSA,S,K.;DA CRUZ,F,S,F. **Contaminação por Staphylococcus sp. E Candida sp.em aparelho de anestesia inalatória veterinário.** 2015.p.1-5.

GRIFFIN D., CHENGAPPA M.M., KUSZAK J. & SCOTT MCVEY D. **Bacterial pathogens of the bovine respiratory disease complex.** Vet. Clin. North Am., Food. Anim. Pract. 26:381-394.2010.

HAWKINS, E.C. **Appropriate use of antimicrobials in respiratory tract infections** Proceedings... Prague: ACVIM, 2002.

LIBERTI AND NOTARNICOLA; L. Liberti and M. Notarnicola. **Advanced treatment and disinfection for municipal wastewater reuse in agriculture.** Water Sci. Technol, 40:235-245, 1999.

MEDEIROS, A. da C. et. al., **Infecção hospitalar em pacientes cirúrgicos de hospital veterinário.** Acta Cirúrgica Brasileira, São Paulo, v.18, 2003.

NICHOLSON M., BEAL M., SHOFRER F. & BROWN D.C. **Epidemiologic evaluation of postoperative wound infection in clean-contaminated wounds: a retrospective study of 239 dogs and cats.** Vet. Surg. 31:577-581. 2002.

OWENS, K.N., SANTOS, F., ROBERTS, B., LINBO, T., COFFIN, A.B., KNISELY, A.J., SIMON, J.A., RUBEL, E.W., and RAIBLE, D.W. **Identification of genetic and chemical modulators of zebrafish mechanosensory hair cell death.** 2008.

PAVELSKI, M.;DORNBUSCH, P. T.; RIBAS,C. R.; MORAES, P. F.; CAPRIGLIONE, L. G.; DORNBUSCH, P.T. **Avaliação do lavado broncoalveolar em cães de abrigo acometidos por pneumonia.** Archives of Veterinary Science. v.17, n.3, p.50-56, 2012. P.2-7.

PEREIRA, M. S; MORIYA, T. M.; GIR, E. et. al., **Infecção hospitalar nos hospitais escola: Uma análise sobre seu controle,** Revista Latino-Americana de Enfermagem. Ribeirão Preto, v. 4, n. 1, p. 45-62, jan. 1996.

QUINN, P.J., **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas/** P. J. Quinn, B. K. Markey, M. E. Carter, W. J. Donnelly e F. C. Leonard; trad. Lúcia Helena Niederaues Weiss e Rita Denise Niederaues Weiss. – Porto Alegre: Artmed, 2005.

RUDD LM; HOPKINSON T. **Comparison of disinfection techniques for sewage and sewage effluents.** J. Inst. Water Environ. Manag, p.612-618, 1989.

SERVIN, S.O. N; BARRETO, G. MARTINS L.C.; MOREIRA, M.M.; Luciana MEIRELLES, L.; NETO, J.A.C.; JÚNIOR, J.H. Z; TINCANI, A.J. **Tube Endotraqueal Atraumático para Ventilação Mecânica.** Rev Bras Anestesiol., 61: 3: 311-319, artigo científico 2011.

VOGEL G., NICOLET J., MARTIG J., TSCHUDI P. & MEYLAN M. **Pneumonia in calves: Characterization of the bacterial spectrum and the resistance patterns to antimicrobial drugs.** Schweiz. Arch. Tierheilkd. 143(7):341-50.2001.

CAPÍTULO 16

PSEUDO-HERMAFRODITA MASCULINO NA ESPÉCIE SUÍNA (*SUS SCROFA DOMESTICUS*)

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 04/09/2020

Carla Fredrichsen Moya

Universidade Estadual do Centro-Oeste
UNICENTRO, campus de CEDETEG
Guarapuava – PR
<http://lattes.cnpq.br/8017623096370725>

Willian Daniel Pavan

Universidade Estadual do Centro-Oeste
UNICENTRO, campus de CEDETEG
Guarapuava – PR
<http://lattes.cnpq.br/4580871979368021>

Milena Pontarolo Machado

Universidade Estadual do Centro-Oeste
UNICENTRO, campus de CEDETEG
Guarapuava – PR
<http://lattes.cnpq.br/0596622174305181>

Polyana Caroline Pissinato Esquerdo Amaro Pedroso

Universidade Estadual do Centro-Oeste
UNICENTRO, campus de CEDETEG
Guarapuava – PR
<http://lattes.cnpq.br/0283000412353030>

Jayme Augusto Peres

Universidade Estadual do Centro-Oeste
UNICENTRO, campus de CEDETEG
Guarapuava – PR
<http://lattes.cnpq.br/3501830648806376>

RESUMO: A principal anormalidade sexual que ocorre em suínos é o pseudo-hermafroditismo masculino, sendo que essa enfermidade se

caracteriza por possuir somente um tipo de tecido gonadal que apresenta concordância com o sexo cromossômico, porém os órgãos sexuais acessórios, em geral, possuem características do sexo oposto. O objetivo do presente trabalho foi relatar a ocorrência de um caso de pseudo-hermafroditismo masculino em um suíno atendido na Clínica Escola de Veterinária da Universidade Estadual do Centro-Oeste - UNICENTRO. O proprietário trouxe para consulta um leitão, mestiço, com 45 dias de idade, 10 kg de peso vivo, que apresentava genitália externa alterada. Na inspeção do genital externo, observou-se ausência de gônadas em escroto, vulva rudimentar com presença de clitóris proeminente. O proprietário autorizou a eutanásia do animal, após o procedimento realizou-se a necropsia do leitão e foram colhidas amostras do sistema genital para análise microscópica. O exame histopatológico classificou as gônadas encontradas como testículos, associados aos achados macroscópicos, como a presença genitália interna feminina (vagina, cérvix e útero) e genitália externa feminina (vulva e clitóris evidente), além do escroto, permitindo a classificação do animal em questão como pseudo-hermafrodita masculino.

PALAVRAS-CHAVE: Intersexo, reprodução, suíno.

MALE PSEUDO-HERMAPHRODITE IN THE SWINE SPECIES (*SUS SCROFA DOMESTICUS*)

ABSTRACT: The main sexual abnormality that occurs in pigs is male pseudo-hermaphroditism,

and this disease is characterized by having only one type of gonadal tissue that is in agreement with chromosomal sex, but accessory sexual organs, in general, have sex characteristics opposite. The aim of the present study was to report the occurrence of a case of male pseudo-hermaphroditism in a pig treated at the Veterinary School Clinic of the State University of the Midwest - UNICENTRO. The owner brought for consultation a piglet, mestizo, 45 days old, 10 kg live weight, who had altered external genitalia. On inspection of the external genital, there was an absence of gonads in the scrotum, a rudimentary vulva with the presence of a prominent clitoris. The owner authorized euthanasia of the animal, after the procedure, the pig's necropsy was performed and samples of the genital system were collected for microscopic analysis. Histopathological examination classified the gonads found as testicles, associated with macroscopic findings, such as the presence of female internal genitalia (vagina, cervix and uterus) and female external genitalia (vulva and clitoris evident), in addition to the scrotum, allowing the classification of the animal in question as male pseudo-hermaphrodite.

KEYWORDS: Intersex, reproduction, swine.

1 | INTRODUÇÃO

Anormalidades na diferenciação sexual ocorrem em várias espécies, incluindo os suínos. Na diferenciação sexual estão envolvidos três eventos, a determinação do sexo cromossômico, o desenvolvimento do sexo gonadal e do sexo fenotípico. O primeiro evento determina-se na fertilização, no qual o oócito X é fertilizado por um espermatozoide, cujo cromossomo pode ser X ou Y. A presença do cromossomo Y é o fator determinante do desenvolvimento gonadal masculino, no qual está presente o gene SRY responsável pela diferenciação da gônada masculina. O sexo genético XX não possui o gene, e a gônada diferencia-se em ovário. A ação da testosterona, no macho, determina o sexo fenotípico, enquanto que no sexo feminino, a ausência deste hormônio determina as características femininas (DOMENICE *et al.*, 2002; TICIANELLI *et al.*, 2011).

A intersexualidade é considerada uma enfermidade congênita rara nos animais domésticos (SCHLAFER; MILLER, 2007). Os intersexos podem ser classificados como hermafroditas verdadeiros, pseudo-hermafroditas masculino ou feminino, em que há divergência entre o sexo genético e o fenotípico. O pseudo-hermafrodita masculino é mais comum em suínos, e possuem apenas um tipo de tecido gonadal (testículos), sendo que o sexo cromossômico e gonadal são iguais, porém os órgãos sexuais acessórios apresentam características do sexo feminino (CORCINI *et al.*, 2009; TICIANELLI *et al.*, 2011). De acordo com Hunt e Greve (1996), fenotipicamente, esses animais possuem uma vulva voltada dorsalmente e a abertura dos lábios vulvares revela um clitóris proeminente.

O pseudo-hermafrodita masculino pode ocorrer quando há, durante a vida

fetal, uma incapacidade dos testículos em produzirem quantidade suficiente de testosterona, bem como do hormônio anti-mulleriano para atuar no desenvolvimento normal, ou ainda uma incapacidade dos tecidos fetais em responderem a tais substâncias produzidas pelos testículos (ROSNINA *et al.*, 2004; TICIANELLI *et al.*, 2011).

Alteração no desenvolvimento do sistema reprodutor (intersexos e criptorquidia) é o grupo mais comum de anomalias congênitas encontradas em suínos domésticos, acarretando prejuízos no sistema de produção, uma vez que, animais intersexos representam um perda substancial para a indústria por meio do aumento dos custos de criação (medicamentos e cirurgia) e degradação da carcaça (odor de macho inteiro), além de que esses indivíduos são inférteis (HALINA *et al.* 1984; TICIANELLI *et al.*, 2011).

Este trabalho tem como objetivo relatar a ocorrência de um caso de pseudohermafroditismo macho em um suíno atendido na Clínica Escola de Veterinária da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO).

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Foi atendido na clínica escola veterinária da UNICENTRO, um leitão, mestiço, com 45 dias de idade, 10 kg de peso vivo, que apresentava genitália externa alterada. Na anamnese constatou-se que esse animal era oriundo de uma ninhada de 15 filhotes, sendo apenas esse com a anomalia genital detectada. A progenitora tinha dois anos de idade, este era o segundo parto da mesma, o acasalamento ocorreu com um macho de dois anos e meio não parente da mesma, não havendo a possibilidade de consanguinidade. O parto foi normal, com expulsão dos anexos fetais e sobrevivência dos 15 conceptos. Os animais machos da propriedade eram submetidos à orquiectomia, ainda filhotes para posterior engorda e abate. Durante a avaliação do leitão em questão, observou-se que o mesmo apesar de possuir escroto com ausência de testículos em seu interior e tinha também uma vulva com clitóris evidente, por essa razão foi trazido para atendimento.

Ao exame clínico o leitão apresentava frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura corporal dentro do padrão para a espécie, mucosa ocular e oral normocoradas, sem desconforto a palpação abdominal. Na inspeção do genital externo, observou-se ausência de gônadas em escroto, vulva rudimentar com presença de clitóris proeminente.

O proprietário autorizou a eutanásia do animal. Após o procedimento realizou-se a necropsia e fragmentos da gônada e possível epidídimo foram colhidos e encaminhados ao serviço de patologia veterinária da UNICENTRO, para realização de exame histopatológico. As amostras foram processadas, incluídas em parafina e

cortadas em micrótomo rotativo, obtendo-se cortes de 3 μm , que foram distendidos sobre lâminas histológicas e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE). Depois da montagem, as lâminas foram observadas em microscópio óptico no aumento de 400x e 1000x para análise do tipo de tecido gonadal presente.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo Halina *et al.* (1984), a apresentação de uma genitália externa feminina é uma característica corriqueira dos pseudo-hermafroditas masculinos. Na inspeção da genitália externa do animal foi verificada presença de vulva rudimentar, com o clitóris proeminente, além do escroto. Macroscopicamente, o genital interno era composto por vagina, cérvix, útero (dividido em corpo e cornos uterinos) e gônadas, além de uma estrutura tubular semelhante ao epidídimo (Figura 1).

Esses achados corroboram com os descritos por Corcini *et al.* (2009), uma vez que, macroscopicamente foi verificada a presença de vagina e útero, ambos com morfologia normal. As gônadas tinham aspectos morfológicos compatíveis com testículos, no entanto, Corcini *et al.* (2009) relataram a presença de epidídimo e do plexo pampiniforme em ambas as gônadas, e nos achados macroscópicos do presente caso foi analisado apenas a presença de uma estrutura tubular que se assemelhava ao epidídimo, sendo confirmado por meio do exame histopatológico, não estando presente o plexo pampiniforme.

Microscopicamente, a gônada foi classificada como testículo com presença de túbulos seminíferos, porém sem a presença de espermatogênese por ser um animal ainda muito jovem, outro fato a ser considerado, é que os testículos intracavitários, possuem falha no processo de termorregulação, dessa forma a espermatogênese não ocorreria quando o animal entrasse na puberdade. A estrutura tubular localizada junto ao testículo foi caracterizada como epidídimo, com presença de túbulos epididimários (Figura 2).

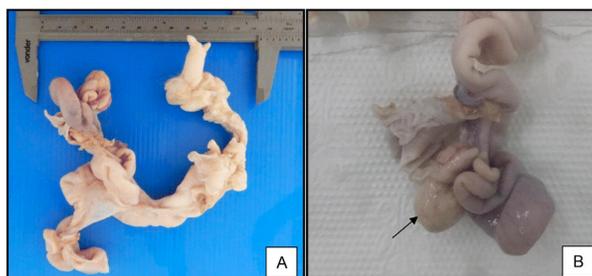


Figura 1 – Sistema genital do leitão, aspecto macroscópico. (A) vulva rudimentar com clitóris proeminente, vagina, cérvix, útero, estrutura tubular semelhante ao epidídimo e gônadas. (B) Destaque para extremidade de um dos cornos uterinos e gônada (seta preta).

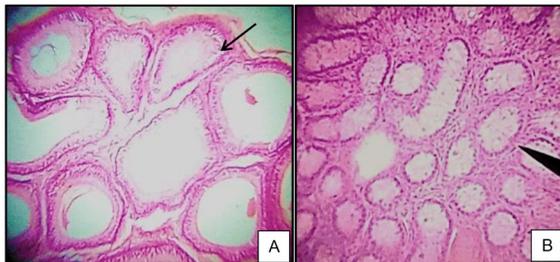


Figura 2 – Fotomicrografia de cortes histológicos (A) destaque para a presença de túbulos epididimários (seta preta) e (B) presença de túbulos seminíferos caracterizando a gônada como testículo. HE, 400x.

A intersexualidade, na maioria dos casos, é caracterizada na linha de abate, o que seria o ponto inicial para a descrição anatômica, assim como sua dissecação para confirmação histológica, a qual pode definir o tipo específico da anormalidade reprodutiva (CORCINI *et al.*, 2009; HALINA *et al.* 1984; TICIANELLI *et al.*, 2011). No caso relatado, o proprietário observou a alteração na genitália externa do animal logo nas primeiras de vida durante o manejo dos animais, por se tratar de uma criação rural e não uma granja comercial, na qual normalmente essa alteração passa despercebida até a linha de abate.

Os pseudo-hermafroditas possuem apenas um tipo de tecido gonadal, a genitália e as características secundárias são do sexo oposto (FANTONI *et al.*, 2012). Com base no resultado do exame histopatológico e na inspeção macroscópica do genital, o animal do presente relato foi classificado como pseudo-hermafrodita masculino, corroborando com o descrito por Fantoni *et al.* (2012), uma vez que o animal apresentava testículos e genitália externa feminina, além do escroto.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que o presente trabalho colaborou com a divulgação de um caso de pseudo-hermafrodita masculino na espécie suína, proporcionando maiores detalhes, como imagens histológicas da gônada, além de esclarecimentos sobre um assunto ainda carente de estudos e publicações.

REFERÊNCIAS

CORCINI, C.; LEON, P.; RAMBO, G.; SANTOS, E.; JUNIOR, A.S.V.; MOREIRA, F.; FERNANDES, C.V.; LUCIA JR, T. Um caso de pseudo-hermafrodita masculino em um suíno. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.3, n.3, p.163-165, 2009.

DOMENICE, S.; COSTA, E.; CORRÊA, R.; MENDONÇA, B. Aspectos Moleculares da determinação e diferenciação sexual. **Arquivo Brasileiro Endocrinologia e Metabologia**, v.46, n.4, p.433-443, 2002.

FANTONI, M.; SILVA, B.; FERREIRA, L.; VALLE, G.; RACHID, M. Pseudo-hermafroditismo masculino em cadela. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.3, p.763-765, 2012.

HALINA, W.; BARRALES, D.; PARTLOW, G.; FISHER, K. Intersexes in Swine: A Problem in Descriptive Anatomy. **Canadian Journal Comparative Medicine**, v.48, p.313-321, 1984.

HUNTER, R.H.; GREVE, T. Intersexuality in pigs: clinical, physiological and practical considerations. **Acta Veterinaria Scandinava**, v.37, n.1, p.1-12, 1996.

ROSNINA Y.; JUINUDEEN, M.R.; HAFEZ, E.S.E. Genética da falha reprodutiva. In: HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. (Eds.) **Reprodução Animal**. 7 ed., São Paulo: Manole, 2004, p.314-317.

SCHLAFER, D.H.; MILLER, R.B. Pathology of the genital system of the nongravid female. In: GRANT MAXIE, M. (Ed.), **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**, 5.ed. Edinburgh: Saunders Elsevier, 2007. v.3, p.431-444.

TICIANELLI, J.; OLIVEIRA, B.; ZOGNO, B.; ARRUDA, R.; CELEGHINI, E. Intersexo e outras anomalias do desenvolvimento do aparelho reprodutor nos animais domésticos e o auxílio da citogenética para o diagnóstico. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, n.1, p.26-32, 2011.

RABDOMIOSSARCOMA EMBRIONÁRIO EM VESÍCULA URINÁRIA DE CÃO COM OITO MESES DE IDADE – RELATO DE CASO

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 04/09/2020

Marcos Piazzolo

Universidade Federal do Paraná - Setor
Palotina
Palotina - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/8338819267666104>

Olicies da Cunha

Universidade Federal do Paraná - Setor
Palotina
Palotina - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/5084780496738690>

RESUMO: Rbdomiossarcoma é uma neoplasia de musculatura esquelética rara em cães e gatos. Infiltrativo, crescimento rápido e difuso, causas e fatores predisponentes são desconhecidos e geralmente acomete cães com menos de dois anos de idade. O objetivo desse trabalho foi relatar o atendimento de cão com rbdomiossarcoma em vesícula urinária. Foi atendido em clínica veterinária particular, na cidade de Cascavel no Paraná, um cão da raça Golden Retriever, macho castrado, oito meses de idade, 34 quilos, com histórico de hematúria, progredindo para disúria e posterior anúria. Solicitado exame ultrassonográfico de cavidade abdominal revelou massa de aspecto heterogêneo e irregular, intraluminal, em região caudo-ventral de vesícula urinária medindo, aproximadamente, 6,6 x 3,37cm, sem outras alterações em demais órgãos. Procedido sondagem para esvaziamento

vesical foi constatado urina com grande quantidade de debris celulares e hematúria. Após ciência e autorização do proprietário foi procedido cistotomia exploratória onde foi constatado massa multilobulada, irregular, friável, com áreas hemorrágicas, pontos sugestivos de necrose, pedunculada em região de trígono vesical, sem afetar abertura de ureteres e uretra. No ato cirúrgico foi retirada toda massa neoplásica e encaminhada ao exame de histopatologia que revelou-se tratar de rbdomiossarcoma embrionário vesical. O paciente permaneceu internado por 72 horas com sonda vesical fixa. Na ocasião da alta médica foi receitado anti-inflamatório, quimioterápico oral piroxicam 10mg a cada 24 horas por dez dias. No décimo dia pós-operatório, ao exame ultrassonográfico, observou-se massa neoplásica no mesmo local medindo 2,5 x 3,1cm. Proprietário optou pela eutanásia do paciente.

PALAVRAS-CHAVE: Rbdomiossarcoma, neoplasia juvenil, vesícula urinária

EMBRYONARY RHABDOMYOSARCOMA IN EIGHT MONTHS AGE DOG URINARY BLADDER - CASE REPORT

ABSTRACT: Rhabdomyosarcoma is a rare neoplasm of skeletal muscle in dogs and cats. Infiltrative, rapid and diffuse growth, causes and predisposing factors are unknown and generally affects dogs under two years old. The aim of this work was to report the treatment of a dog with rhabdomyosarcoma in the urinary bladder. In a private veterinary clinic, in the city of Cascavel, Paraná, a 8-months-old male Golden Retriever dog was attended, castrated,

weighing 34 kilos, with a history of hematuria progressing to dysuria and later anuria. An ultrasound examination of the abdominal cavity was requested and revealed a heterogeneous and irregular mass, intraluminal, in the caudoventral region of the urinary bladder measuring approximately 6.6 x 8.3 cm, no changes in other organs. Bladder catheterization was performed for empty and found urine with a large amount of cellular debris and hematuria. After knowledge and authorization from the owners, an exploratory cystotomy was performed, in which a multilobulated, irregular, friable mass was found, with hemorrhagic areas, necrosis suggestive points, pedunculated in the region of the bladder triangle, no affecting the opening of the ureters and urethra. During surgery, all neoplastic masses were removed and sent for histopathology examination, which proved to be a bladder embryonic rhabdomyosarcoma. The patient remained hospitalized for 72 hours with a fixed bladder catheter. At the time of medical discharge, anti-inflammatory drugs, oral chemotherapy piroxicam 10mg were prescribed every 24 hours for ten days. On the tenth postoperative day, on ultrasound examination, a neoplastic mass was observed in the same location, measuring 2.5 x 3.1 cm. Owner opted for patient euthanasia.

KEYWORDS: Rhabdomyosarcoma, juvenile neoplasia, urinary bladder.

1 | INTRODUÇÃO

Rabdomiossarcoma embrionário de vesícula urinária é um tumor de tecido mole de origem mesenquimal e ocorre no sistema urinário inferior (vesícula urinária e uretra) e acredita-se que sua origem seja das células mioblásticas da transição urogenital. Considerada uma neoplasia rara sua ocorrência está ligada a cães jovens de raças grandes, normalmente em animais com menos de 18 meses de idade sugerindo uma origem embrionária (CARVALHO, 2016).

Macroscopicamente o rabdomiossarcoma é descrito como uma massa em formato de cacho de uva, com numerosas projeções de tamanhos que variam de 4 a 18 cm de diâmetro e essas protuberâncias projetam-se para o lúmen vesical, ocasionalmente acontecem metástases em linfonodos regionais. Histologicamente os rabdomiossarcomas são caracterizados por apresentarem células fusiformes, citoplasma eosinofílico alongado, com estriamento cruzado típico de musculatura esquelética e entremeadas a elas encontram-se células pleomórficas (ZACHARY *et al.*, 2012).

Os principais sinais clínicos associados ao rabdomiossarcoma de vesícula urinária incluem a hematúria, disúria, obstrução urinária, hidroureter, hidronefrose e osteopatia hipertrófica (ZACHARY *et al.*, 2012).

A suspeita de acometimento por essa neoplasia se dá baseado no histórico do paciente, sinais clínicos e exames de imagens como: imagens radiográficas, exame ultrassonográfico, tomografia computadorizada, ressonância magnética além de biopsia aspirativa por agulha fina. A demonstração do filamento intermediário

desmina através de técnicas de imunohistoquímica e microscopia eletrônica são úteis na confirmação do diagnóstico de rabdomyosarcoma (KUWAMURA *et al.*, 1998; CASERTO, 2013).

O tratamento baseia-se na remoção cirúrgica da massa tumoral pela técnica de cistectomia parcial (dependendo da extensão tumoral e comprometimento da vesícula urinária) e quimioterapia sistêmica com vincristina, ciclofosfamida ou carboplatina (DALECK *et al.*, 2008; FOSSUM, 2014).

2 | RELATO DE CASO

Foi atendido em clínica veterinária particular, na cidade de Cascavel no Paraná, um cão da raça Golden Retriever, macho, castrado, oito meses de idade, 34 quilos, com histórico de hematúria, disuria e posterior anúria. Durante a consulta o paciente manteve-se ativo referindo desconforto e dor apenas quando houve palpação da região hipogástrica/púbica.

Por se tratar de desordem de origem urinária foi solicitado exame ultrassonográfico abdominal afim de observar possíveis alterações em vias urinárias ou qualquer outras alterações visíveis através de tal exame. As imagens ultrassonográficas vesicais evidenciaram estrutura com aspecto de massa de densidade heterogênea, multilobulada e de contornos irregulares em região de trígono vesical intraluminal medindo 6,16 cm em seu maior eixo por 3,37 cm (Figura 1).

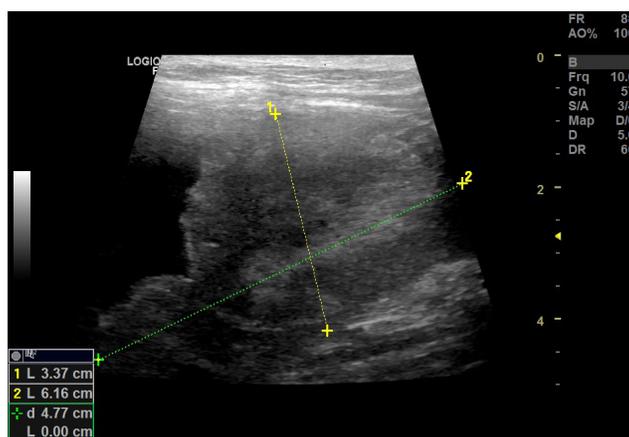


Figura 1: imagem ultrassonográfica vesical demonstrando massa de aspecto irregular em região de trígono vesical e suas medidas.

Procedida sondagem vesical para coleta de material para urinálise e esvaziamento para conforto do paciente, o mesmo foi encaminhado para internamento e observação. Na urinálise foi constatada sedimento formado por grande quantidade de debris celulares e hemácias. Exames hematológicos foram solicitados e como resultado mostraram discreta leucocitose por neutrofilia sem outras alterações em perfil de enzimas renais e hepáticas.

Por se tratar de suspeita de neoplasia foi solicitado ao proprietário autorização para realização de biópsia aspirativa por agulha fina guiada por ultrassom para exame citológico ao qual foi negado, autorizando cistotomia exploratória.

Na cistotomia exploratória foi constatada massa multilobulada, de superfície irregular, friável, com áreas hemorrágicas, pntos sugestivos de necrose e pedunculada em região de trígono vesical, no entanto sem afetar abertura de ureteres e uretra (figura 2).



Figura 2: massa neoplásica intraluminal em vesícula urinária.

No ato cirúrgico foi realizada a remoção de toda massa neoplásica que foi acondicionada em frasco contendo formol tamponado a 10% e encaminhada para exame histopatológico que revelou se tratar de rbdomiossarcoma embrionário vesical.

Após procedimento cirúrgico o paciente permaneceu em internamento monitorado por 72 horas recebendo fluidoterapia intravenosa constituída de solução ringer com lactato além de medicação analgésica, anti-inflamatória não esteroidal e terapia antimicrobiana. Permaneceu todo o período de internamento com sonda

uretral fixa para monitoramento urinário.

Decorridas as primeiras 72 horas de internamento monitorado o paciente foi liberado para casa com receita de anti-inflamatório quimioterápico por via oral (piroxicam) na dose 10mg a cada 24 horas durante dez dias quando ocorreu o a consulta de retorno. No décimo dia foi solicitado exame ultrassonográfico de vesícula urinária onde observou-se duas pequenas massas neoplásicas na mesma região da anterior. Proprietário decidiu pela eutanásia do paciente após nova obstrução uretral.

3 | CONCLUSÃO

Por se tratar de neoplasia maligna de alto grau invasivo, grande poder infiltrativo e crescimento rápido o rabdomyossarcoma embrionário deve ser considerado diagnóstico diferencial em qualquer sinal de desordem de vesícula urinária de cães jovens de raças gigantes, pois apesar de rara essa neoplasia tem prognóstico ruim, afetando rapidamente a qualidade e a expectativa de vida dos cães acometidos.

REFERÊNCIAS

CARVALHO, M. B. et al. Neoplasias do Sistema Urinário. In: DALECK, C. R.; NARDI, A. B. D. **Oncologia em Cães e Gatos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016. Cap. 37, p. 461-477.

CASERTO, B. G. A comparative review of canine and human rhabdomyosarcoma emphasis an classification and pathogenesis. **Veterinary Pathology**, V. 50,5. 2013.

DALECK, C. R. et al. **Neoplasias do sistema urinário**. São Paulo: Roca, 2008.

FOSSUM, T.W. **Cirurgia de pequenos animais**. 4ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. 1640p.

KUWAMURA, M. et al. Urinary bladder rhabdomyosarcoma (sarcoma botryoides) in a young Newfoundland dog. **Journal of Veterinary Medical Science**, Vol. 60, p 619 a 621.

ZACHARY, J. F., MACGAVIN, D. M. **Bases da Patologia em Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 3669 p.

RELATO DE EXPERIÊNCIA DE TIMPANISMO GASOSO EM NOVILHA DA UNIDADE DIDÁTICA DE BOVINOCULTURA DE LEITE DA UNICENTRO

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 05/10/2020

Bruna Rafaela Buss

Universidade Estadual do Centro-Oeste
Guarapuava - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/4599862423503462>

Bruna Los

Universidade Estadual do Centro-Oeste
Guarapuava - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/2243363543710780>

Gabriel Vinicius Bet Flores

Universidade Estadual do Centro-Oeste
Guarapuava – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/6072037935349835>

Mariane Roepke

Universidade Estadual do Centro-Oeste
Guarapuava – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/2099885598404335>

Helcya Mime Ishiy Hulse

Universidade Estadual do Centro-Oeste
Guarapuava – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/8438037073357514>

RESUMO: Os problemas digestivos em bovinos são frequentes, sendo o timpanismo gasoso de grande destaque. A ulceração de abomaso é comum em bovinos jovens e adultos, e a compactação de abomaso, mais comum em bovinos de corte. O objetivo deste trabalho foi relatar um caso de timpanismo gasoso em bezerra Jersey devido a úlcera abomasal na

UDBL – UNICENTRO, além de demonstrar a importância do manejo preventivo, diagnóstico precoce e instituição de tratamento adequado. Uma bezerra da UDBL, raça Jersey, 11 meses de idade, pesando 160kg, apresentou histórico de abdômen distendido do lado esquerdo e intensa salivação. Na realização da percussão notou-se presença de ping metálico. O rúmen estava vazio, mas cheio de gases. Com relação aos sinais apresentados, iniciou-se tratamento para timpanismo gasoso, com descompressão do rúmen com sonda esofágica e hidratação direta no rúmen suplementada com cálcio, fluidoterapia e transfaunação. Houve melhora no dia, porém o quadro era recorrente e suspeitou-se de deslocamento de abomaso. Realizou-se laparotomia exploratória e ruminotomia, onde o omaso e rumén estavam repletos e distendidos, com grande quantidade de conteúdo ressecado. Com isso, além do timpanismo gasoso, também havia compactação do omaso. Foi dada continuidade ao tratamento, repetiu-se a transfaunação, e foi realizado trocaterização duas vezes ao dia, além da medicação. O animal veio a óbito. Foi realizado exame necroscópico e constatado que o animal apresentava compactação do omaso consequente a úlcera em região de transição omaso/abomaso. Por fim, a causa da morte, segundo este exame, foi choque endotoxêmico.

PALAVRAS-CHAVE: Problemas digestivos; ruminantes; prevenção; necropsia.

EXPERIENCE REPORT OF GASEOUS TYMPANISM HEIRL OF THE UNICENTRO MILK BOVINOCULTURE TEACHING UNIT

ABSTRACT: Digestive problems in cattle are frequent, with gaseous tympanism of great prominence. The abomasum ulceration is common in young and adult cattle, and abomasum impaction is more common in beef cattle. The objective of the work was report a case of gaseous tympanism in a Jersey heifer because of a abomasal ulcer at UDBL - UNICENTRO, in addition to demonstrating the importance of preventive management, early diagnosis and institution of adequate treatment. A UDBL's 11-month-old Jersey calf from, weighing 160kg, had a history of distended abdomen on the left side and intense salivation. In the performance of the percussion, the presence of metallic ping was noted. The rumen was empty, but full of gases. Regarding the signs presented, treatment was started for gas tympanism, with rumen decompression with esophageal tube and direct hydration in the rumen supplemented with calcium, fluid therapy and transfaunation. There was an improvement on the day, but the condition was recurrent and an abomasum displacement was suspected. Exploratory laparotomy and ruminotomy were performed, where the omasum and rumen were full and distended, with a large amount of dry content. Therewith, in addition to gaseous tympanism, there was also compaction of the omasum. The treatment was continued, the transfaunation was repeated, and trochanterization was performed twice a day, in addition to medication. The animal died. A necroscopic examination was carried out and it was found that the animal presented compression of the omasum resulting from an ulcer in the transition region of the omasum/abomasum. Finally, the cause of death, according to this exam, was endotoxemic shock.

KEYWORDS: Digestive problems; ruminants; prevention; necropsy.

1 | INTRODUÇÃO/CONTEXTO DA AÇÃO

A extensão integra a tríade universitária (extensão, pesquisa e ensino), sendo um complemento para o acadêmico, dando a oportunidade de por em prática o que se aprende em sala de aula, permitindo a troca de conhecimentos e contribuindo com a sociedade. Nesse contexto, existe a Unidade Didática de Bovinocultura de Leite (UDBL) da Unicentro, projeto vinculado ao Produterra A&V Consultoria Júnior, empresa júnior que presta serviços e desenvolve atividades com produtores da região de Guarapuava, no Paraná. Por se tratar de unidade didática, os alunos têm a oportunidade de enfrentar diversas situações rotineiras em uma fazenda leiteira, permitindo o desenvolvimento de práticas nos mais diversos manejos, bem como na área de clínica de ruminantes, o que também auxilia no momento de interação com os produtores da região. Frente a isso, esse trabalho tem por objetivo relatar o caso de uma bezerra acometida por distúrbio do sistema digestório, ocorrido na UDBL.

Os rebanhos leiteiros vêm sofrendo diversas alterações, genéticas e de manejo, sempre com o objetivo de aumentar a produtividade. Porém, sabe-se que

conforme se seleciona animais mais produtivos, conseqüentemente aumenta a susceptibilidade a doenças, incluindo os distúrbios metabólicos e digestivos, que acabam impactando negativamente na economia da propriedade, bem como no bem-estar dos animais. Com isso, torna-se extremamente necessário que o médico veterinário conheça as principais enfermidades que acometem os ruminantes, a fim de tomar a decisão correta quanto a conduta diagnóstica e terapêutica a ser instituída (CÂMARA et al., 2010; SANTANA NETO et al., 2014).

A categoria mais jovem representa a parcela mais vulnerável do rebanho, principalmente quando ocorre falhas na transferência de imunidade passiva, através da má colostragem, ou quando se adota manejos inadequados a essa fase. Isso reflete em uma maior taxa de mortalidade de bezerros, trazendo grandes prejuízos econômicos para a propriedade. Além disso, os animais jovens têm papel importante na disseminação de patógenos dentro do rebanho (ASSIS-BRASIL et al., 2013). Ao nascer, os ruminantes apresentam o trato digestório semelhante ao de animais monogástricos, por conta do baixo desenvolvimento anatômico do rúmen e do retículo, órgãos que devem passar por modificações para atingir as características do sistema digestório de um ruminante adulto. Além disso, os bezerros também apresentam limitações fisiológicas, como a produção nula ou reduzida de enzimas digestivas (com exceção da enzima lactase) e a supressão imunológica, que ocorre em consequência à eventos endócrinos decorrentes da gestação. Devido a isso, o manejo nutricional inadequado, bem como infecções bacterianas, pode acarretar em distúrbios digestivos severos nesses animais (CHASE; HURLEY; REBER, 2008; CORTESE, 2009; SOARES, 2013).

Dentre as doenças, o timpanismo gasoso tem grande destaque, por ser facilmente reconhecido pelos produtores e ser uma das principais causas de óbito dentro dos rebanhos. Ocorre devido a falhas no processo de eructação, acarretando acúmulo excessivo de gás dentro do rúmen, resultando em distensão. A etiologia é multifatorial, e os principais sinais clínicos manifestam-se através da distensão ruminal, visível através da fossa paralombar esquerda, e sinais de dor, como tentativa de chute no abdômen ventral e vocalização (ANDREWS et al., 2004). Outra enfermidade que acomete o sistema digestivo dos ruminantes são as ulcerações de abomaso, sendo comum em bovinos jovens e adultos, causando frequente hemorragias agudas, indigestões e, quando há perfuração, peritonite focal dolorosa ou até mesmo peritonite difusa com morte rápida (RADOSTITS et al., 2006). Não se sabe qual a etiologia das úlceras abomasais, porém especula-se sobre abrasões devido ingestão de materiais grosseiros, destruição tecidual devido a colonização por microrganismos patogênicos, deficiência de micro minerais (ainda não identificados), e até mesmo estresse (PERES, 2002). Por fim, existem as impactações de abomaso, distúrbio baixa ocorrência nos rebanhos bovinos, sendo

mais frequente em bovinos de corte do que de leite. Sua etiologia está relacionada com a ingestão de grandes quantidades de alimentos fibrosos, areia ou cascalho, que acabam se acumulando próximo ao piloro. Com o avanço do quadro, a impactação pode alcançar o rúmen, cessando o processo de ruminação e instalando um quadro de constipação (ANDREWS et al., 2004).

2 I DETALHAMENTO DAS ATIVIDADES E/OU DA METODOLOGIA

Uma fêmea bovina da UDBL, chamada Prenda, raça Jersey, com 11 meses de idade, pesando 160kg, apresentou apatia, inapetência há alguns dias, distensão do abdômen no lado esquerdo e intensa salivação. O animal foi encaminhado para a CEVET (Clínica Escola de Veterinária) com suspeita de corpo estranho esofágico. Antes do exame físico, foi passado sonda esofágica e colocado cinco litros de água morna com sessenta mililitros de Acetil tributílic acetato (Blo-trol®), via oral, medicamento indicado para empanzinamento de ruminantes.

No exame físico geral, realizado conforme Feitosa (2004), o animal apresentava escore de condição corporal 3,0, apático, encontrava-se em decúbito esternal, as mucosas congestas, frequência respiratória 22 respirações por minuto, frequência cardíaca 50 batimentos por minuto, temperatura retal de 38,5°C, nenhum movimento ruminal em um intervalo de 5 minutos, e o linfonodo pré-escapular direito encontrava-se aumentado. A pelagem apresentava-se sem brilho e arrepiada, e não havia presença de ectoparasitas. Ainda, visualizou-se diarreia e sialorreia intensa.

Na avaliação do sistema digestório, o abomaso aparentava estar deslocado para a esquerda, devido ao rúmen distendido. Na realização da percussão havia presença do som de “ping metálico” na região. O rúmen estava cheio de gases, com perda da estratificação, evidenciada pelo teste do balotamento. Havia presença de gases em alça intestinal e o ceco apresentava motilidade aumentada. Apresentou dor à palpação ventral direita do abdômen.

No exame do sistema cardiovascular, havia pulso na jugular era evidente, forte, rítmico e regular. No sistema respiratório observou-se secreção em traqueia, tosse, presença de saliva nas narinas. A amplitude da respiração era curta e superficial e o animal apresentava cansaço fácil e dispneia após exercício forçado.

Realizou-se hemograma, por meio do qual constatou-se leucocitose (16.710 M/uL) por eosinofilia (334 M/uL) e linfocitose (10.360 M/uL), com desvio à esquerda regenerativo (bastonetes 2.005 M/uL), além de trombocitose (839.000 mm³).

A suspeita inicial foi de timpanismo gasoso, descartando corpo estranho no esôfago. Iniciou-se o tratamento, realizando descompressão do rúmen com sonda esofágica, colocação de 5L de água morna suplementada com 60mL de Ruminol®, 260mL de cálcio, e fluidoterapia intravenosa com Ringer Lactato. Durante a

sondagem, houve retorno de grande quantidade de líquido transparente e gás. Foi realizada transfaunação com 2L de líquido ruminal de outro animal saudável mais 5L de *Drench®* (suplemento mineral e energético).

Como não houve melhora significativa do animal, suspeitou-se de deslocamento do abomaso. Alguns dias depois o animal foi submetido à laparotomia exploratória e ruminotomia. No protocolo anestésico, utilizou-se sedação com xilazina, associado ao bloqueio local em L invertido na região do flanco, com lidocaína. Na laparotomia exploratória, ao inspecionar as alças intestinais, foi verificado ausência de movimentos e congestão vascular. O omaso estava repleto, e o rumém distendido. Foi observado grande quantidade de conteúdo ressecado, que foi retirado e, logo em seguida, colocado pasto verde. Havia ausência de obstruções em esfíncteres (cárdia e piloro).

Houve complicação no trans-operatório, devido à queda de conteúdo ruminal na cavidade abdominal. Realizou-se a limpeza com uma preparação de 1L de solução fisiológica NaCl 0,9% suplementada com 60mL de gentamicina associado a heparina. No pós operatório, foi prescrito sulfametoxazol mais trimetoprim por 7 dias e flunixin meglumine por 3 dias, além da limpeza da ferida cirúrgica, ducha fria diária por 20 minutos, caminhada leve e alimentação forçada.

Durante o procedimento cirúrgico foi visto que, além do timpanismo gasoso, também havia compactação do omaso. Com isso deu-se continuidade à transfaunação e trocaterização duas vezes ao dia, para alívio do timpanismo.

Após seis dias, o animal veio a óbito. Na necropsia, os achados foram: peritonite fibrinosa difusa, úlcera em região de transição entre omaso/abomaso, espuma em esôfago consequente ao processo de timpanismo espumoso com congestão esofágica, indicando processo formado em vida, hemorragia em mucosa do intestino grosso, edema e enfisema pulmonar com pneumonia em lobos pulmonares cranial direito, esquerdo e médio, nefrose renal bilateral e hipóxia, consequente a endotoxemia.

Com o auxílio do exame necroscópico, foi permitido fechar o diagnóstico: o animal apresentava compactação do omaso consequente a úlcera em região de transição omaso/abomaso. Por fim a causa da morte foi choque endotoxêmico.

3 I APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS, ANÁLISE E DISCUSSÃO

As raças que mais predisõem a essas disfunções são as leiteiras de alta produção (CÂMARA *et al.*, 2012), diferente do caso relatado, por se tratar de uma bezerra. As suspeitas da causa coincidem com relatos de Blikslager *et al.* (1995), que são ingestão de forragem de baixa qualidade e disfunção abomasal.

As queixas apresentadas, como apatia, inapetência, distensão abdominal

esquerda e intensa salivação são sinais típicos de timpanismo gasoso (PAGANI, 2008). A sialorreia e dilatação do ceco também foram citadas por Silva *et al.* (2014), e neste caso a bezerra havia apresentado estes sinais. O deslocamento de abomaso é a consequência do grande volume do rúmen e o “ping” metálico é um achado importante para esse diagnóstico (RADOSTITS *et al.*, 2002).

As alterações do sistema respiratório ocorrem pela presença de sialorreia e pela compressão feita pelo rúmen sobre os órgãos respiratórios, que são sempre relatados em casos de timpanismo gasoso (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

O tratamento foi semelhante ao relatado em outros casos de timpanismo gasoso como descrito por Coutinho *et al.* (2009). Houve reposição de eletrólitos e o reequilíbrio da flora gastrointestinal como citado por Carnesella (2010). A colocação direta do alimento nos compartimentos no momento da ruminotomia, bem como o fornecimento de dieta com fibras de qualidade, afim de estimular a motilidade também é relatado por Coutinho *et al.*, (2009).

A compactação de omaso foi diagnosticada após a laparotomia. A causa mais provável seria a ingestão de alimentos grosseiros e pouca ingestão de água (BORGES *et al.*, 2007). Na realização da necropsia observou-se peritonite fibrinosa difusa, o que é comum quando há úlcera de abomaso com processos erosivos. Úlceras entre omaso e abomaso também foram encontradas e são causadas geralmente em animais que sofrem estresse (manejo incorreto), pico de produção de leite, parto, puerpério e doenças concomitantes, como deslocamento de abomaso (JENSEN *et al.*, 1976). Acredita-se que, no caso relatado, o manejo incorreto e o estresse foram as principais causas. A pneumonia, encontrada durante a necropsia, justifica os sinais clínicos respiratórios. Borstnez *et al.* (2016), relatam que essa é uma doença comum em animais jovens.

A endotoxemia, causa da morte do animal, deu-se pelos distúrbios que estavam ocorrendo, como a pneumonia, a compactação do omaso, úlcera e o timpanismo. Segundo Patrício (2012), a endotoxemia é comum em bovinos, e usualmente está relacionado com febre, anorexia e atonia ruminal, igual nota-se neste caso.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

O timpanismo é uma enfermidade que acontece com bastante frequência e que pode acarretar prejuízos a propriedade e levar o animal a óbito. Preventivamente, é importante ter manejo nutricional correto e menor nível de estresse para que os animais possam viver em bem estar e diminuir a ocorrência de doenças no rebanho. Com a experiência prática vivenciada na UDBL pelos estudantes, pode-se entender melhor a importância dos ensinamentos ministradas em sala de aula, facilitando o

aprendizado e também podendo repassar essa experiência aos produtores atendidos pelo PRODUTERRA. Em setembro está sendo organizado o V Dia de Campo em Bovinocultura de Leite, cujo um dos temas abordados será o timpanismo.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Fundação Araucária pelas bolsas concedidas, aos colegas extensionistas da UDBL e participantes do PRODUTERRA pelo companheirismo e comprometimento, e aos professores que sempre estão à disposição e nos tratam com tanto carinho.

REFERÊNCIAS

- ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. H.; BOYD, H.; EDDY, R. G. **Bovine medicine: diseases and husbandry of cattle**. 2. Ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2004, 1232 p.
- ASSIS-BRASIL, N. D.; MARCOLONGO-PEREIRA, C.; HINNAH, F. L.; LADEIRA, S. R. L.; SALLIS, E. S. V.; GRECCO, F. B.; SCHILD, A. L. **Enfermidades diagnosticadas em bezerros na região sul do Rio Grande do Sul**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 33, n. 4, p. 423-430, 2013.
- BORGES, G. B. O. **Úlcera de abomaso em vacas leiteiras: revisão de literatura e apresentação de artigo científica**. 2013. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Faculdade De Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2013.
- BORGES, J. R. J.; CUNHA, P. H. J.; MOSCARDINI, A. R. C.; TORTELLY, R.; FRANCO, G. L.; SILVA, L. A. F. **Compactação de abomaso em bovinos leiteiros: descrição de cinco casos**. Ciência Anim. Bras., v.8, n.4, p.859-864, 2007.
- BORSTNEZ, K. K.; PHILIPPE, M. G.; BORGES, V.; BIANCHI, I.; LENOCH, C. Y.; SILVEIRA, M. F.; SCHWEGLER, E. **Broncopneumonia intersticial em vaca – relato de caso**. In: PRIMEIRA SEMANA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 2016, Araquari. Instituto Federal Catarinense, 2016.
- CÂMARA, A. C. L.; AFONSO, J. A. B.; COSTA, N. A.; MENDONÇA, C. L.; SOUZA, M. I.; BORGES, J. R. J. **Fatores de risco, achados clínicos, laboratoriais e avaliação terapêutica em 36 bovinos com deslocamento de abomaso**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 30, n. 5, p. 453-464, 2010.
- CÂMARA, A. C. L.; XIMENES, F. H. B.; MOSCARDINI, A. R. C.; CASTRO, M. B.; GODOY, R. F.; BORGES, J. R. J. **Vólvulo abomasal em dois bezerros**. Veterinária e Zootecnia, v. 16, n. 3, p.459- 464, 2009.
- CARNESELLA, S. **Omentopexia pelo flanco direito como técnica cirúrgica para correção de deslocamento de abomaso a esquerda**. 2010. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
- CHASE, C. C. L.; HURLEY, D. J.; REBER, A. J. **Neonatal Immune Development in the Calf and its Impact n Vaccine Response**. Veterinarian Clinics in Food Animals, v. 24, p. 87-104, 2008.

CORTESE, V. S. **Neonatal Immunology**. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, v. 25, n. 1, p. 221-227, 2009.

COUTINHO, L. T.; AFONSO, J. A. B.; COSTA, N. A.; MENDONÇA, C. L.; FARIA, P. A. R.; SOARES, P. C. **Avaliação da conduta terapêutica em casos de timpanismo espumoso em bovinos**. *Ciência Animal Brasileira*, v. 10, n. 1, p. 288-293, 2009.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de Anatomia Veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010, 856 p.

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. **Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido**. 6. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2016, 824 p.

MARQUES, A. L. A.; AGUIAR, G. M. N.; LIRA, M. A. A.; MIRANDA NETO, E. G.; AZEVEDO, S. S.; SIMÕES, S. V. D. **Enfermidades do sistema digestório de bovinos da região semiárida do Brasil**. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 38, n. 3, p. 407-416, 2018.

MOTTA, R. G.; MOTTA, I. G.; BOTELHO, A. C. F. A.; GHELLER, J. M.; SOUZA, A. M.; BALDIN, T.; MOMO, R.; SCHREIBER, J.; BARBOSA, L. C.; RIBEIRO, M. G. **Deslocamento de abomaso à esquerda em bovino - relato de caso**. *Atas de Saúde Ambiental*, v. 2, n. 3, 2014.

OLIVEIRA, P. C. L.; SAMPAIO, R. L.; LACERDA, M. S.; ALVARENGA, R. R.; ESPINOZA, M. F. **Coccidiose entérica, associada à encefalopatia, em vaca gir adulta (relato de caso)**. *Ciência Animal Brasileira*, v. 10, n. 1, p.322-329, 2009.

PAGANI, J. A. B. **Timpanismo em ruminantes**. *Revista Científica Eletônica De Medicina Veterinária*, v. 6, n. 10, 2008.

PATRÍCIO, A. M. P. C. **As Principais Afecções Gástricas dos Bovinos**. 2012. 107 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, 2012.

PERES, J. R. **Úlceras abomasais em bezerros**. 2002. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/artigos/producao/ulceras-abomasais-em-bezerros-16705n.aspx>. Acesso em: 11 jun. 2019.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10. Ed. Elsevier, 2006, 2065 p.

REZENDE, E. H. C. **Coccidiose em bovinos**. 2019. Disponível em: <https://jasaudeanimal.com.br/blog/coccidiose-em-bovinos/>. Acesso em: 11 Jun. 2019.

SANTANA NETO, J. A.; OLIVEIRA, V. S.; SANTOS, A. C. P.; VALENÇA, R. L. **Distúrbios metabólicos em ruminantes – uma revisão**. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, v.8, n.4, p. 157–186, 2014.

SILVA, R. J.; SILVA, J. A. B. A.; COSTA, N. A.; MENDONÇA, C. L. **Dilatação do ceco em bezerros: relato de casos**. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 21, n. 2, p. 76-81, 2014.

SOARES, M. C. **Diarreia e acidose metabólica em bezerros leiteiros: efeito da composição do concentrado inicial e avaliação de probiótico**. 2013. 171 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

SCHWANNOMA MALIGNO CANINO EM MEMBRO PÉLVICO – RELATO DE CASO

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 04/09/2020

Gabriela Carvalho Monteiro

União Metropolitana para o Desenvolvimento da Educação e Cultura (UNIME)
Lauro de Freitas – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/4159978790453524>

Juliano Jácomo Mendes Silotti

União Metropolitana para o Desenvolvimento da Educação e Cultura (UNIME)
Lauro de Freitas – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/6664246474481370>

Juliana Gomes Braga

União Metropolitana para o Desenvolvimento da Educação e Cultura (UNIME)
Lauro de Freitas – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/5947078469658039>

Marcus Vinícius Lima David

União Metropolitana para o Desenvolvimento da Educação e Cultura (UNIME)
Lauro de Freitas – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/0126305271069013>

Cinthia Oliveira de Araújo Barreto

União Metropolitana para o Desenvolvimento da Educação e Cultura (UNIME)
Lauro de Freitas – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/2043884760850155>

Marília Carneiro de Araújo Machado

União Metropolitana para o Desenvolvimento da Educação e Cultura (UNIME)
Lauro de Freitas – Bahia
<http://lattes.cnpq.br/3161833356358881>

RESUMO: Tumores de nervos periféricos são pouco frequentes em cães e gatos. Originam-se das células de schwann e sua associação com outras células perineurais. O schwannoma maligno é a neoplasia de bainha de nervos periféricos mais comum. O objetivo deste trabalho foi relatar um caso de schwannoma maligno em região subcutânea de joelho do membro pélvico direito de cadela de 13 anos de idade. Concluiu-se que, devido ao seu difícil diagnóstico anatomopatológico, é necessário auxílio de análise imunohistoquímica e que o tempo de sobrevida atingido aliado à ausência de metástase foram resultados satisfatórios considerada a conduta de exérese do tumor em relação à amputação do membro.

PALAVRAS-CHAVE: Neoplasia; mielina; imunohistoquímica; nervos periféricos.

CANINE MALIGNANT SCHWANNOMA IN PELVIC MEMBER – CASE REPORT

ABSTRACT: Peripheral nerve tumors are uncommon in dogs and cats. They originate from schwann cells and their association with other perineural cells. Malignant schwannoma is the most common peripheral nerve sheath neoplasm. The objective of the study was to report a case of malignant schwannoma in the subcutaneous region of right pelvic member's knee of a 13 years old dog. It was concluded that due to its difficult anatomopathological diagnosis immunohistochemical analysis is necessary and the survival time achieved along with the absence of metastasis were satisfactory results, taking into account the conduct of tumor excision compared

to limb amputation.

KEYWORDS: Neoplasm; myelin; immunohistochemistry, peripheral nerves.

1 | INTRODUÇÃO

Tumores de nervos periféricos são considerados pouco frequentes em cães e gatos, com poucos relatos na literatura (ARAÚJO et al., 2008). Possuem incidência de 0,5% em cães (DA CRUZ et al., 2015) e os animais mais acometidos são principalmente de médio a grande porte, com idade entre cinco a 12 anos, sem predisposição racial e sexual (ARAÚJO et al., 2008; RAMOS et al., 2014; BORDINI et al., 2018).

Os tumores de bainha nervosa são originados das células de schwann ou da associação destas com fibroblastos e outras células perineurais (DA SILVA et al., 2012; DA CRUZ et al., 2015; BORDINI et al., 2018). Embora a nomenclatura dessas afecções ainda seja controversa (ARAÚJO et al., 2008; COELHO et al., 2011), são considerados schwannoma ou neurilemoma benigno ou maligno, neoplasias compostas apenas de células de schwann e neurofibromas, formados por tecido conjuntivo em torno do feixe nervoso e células de schwann (ARAÚJO et al., 2008; COELHO et al., 2011; BORDINI et al., 2018).

O schwannoma benigno é pouco invasivo, com crescimento progressivo e lento, e as metástases são raras (COELHO et al., 2011; DA CRUZ et al., 2015). Esta neoplasia se apresenta geralmente na forma de nódulo aderido, arredondado, firme ou gelatinoso, de coloração branca a acizentada e circunscrito (DA SILVA et al., 2012; RAMOS et al., 2014). De acordo com Araújo e colaboradores (2008), o schwannoma maligno, a forma mais comum de neoplasia de nervos periféricos, é macroscopicamente semelhante aos benignos, no entanto, de caráter invasivo, e pode fazer metástase (DA SILVA et al., 2012).

Os schwannomas são encontrados em nervos periféricos do plexo braquial (o mais acometido), raízes nervosas torácicas e lombossacras (ARAÚJO et al., 2008; DA CRUZ., 2015). Podem se manifestar, raramente, em nervos cranianos, principalmente no trigêmio (DA CRUZ et al., 2015; BORDINI et al., 2018), tendo sido descritos em região cervical, membros torácicos, cabeça, tórax e membros pélvicos (ARAÚJO et al., 2008). A manifestação clínica desta neoplasia depende de quais nervos são atingidos, porém os sinais mais identificados são claudicação crônica, atrofia muscular, sinal de raiz e dor não responsiva a medicamentos (ARAÚJO et al., 2008). Há também déficit neurológico e propriocepção alterados, quando ocorre invasão de células neoplásicas à medula espinhal (DA CRUZ et al., 2015).

Deve-se considerar como diagnósticos diferenciais outras neoplasias mesenquimais, tais como hemangiopericitoma, leiomiossarcoma, histiocitoma e

fibrossarcoma. O diagnóstico definitivo se dá por meio da análise histopatológica, frequentemente associado ao exame imunohistoquímico, já que estes tumores possuem características microscópicas semelhantes (DA SILVA et al., 2012).

O tratamento cirúrgico é de escolha, visto que, devido a sua natureza mesenquimal, é pouco responsivo à quimioterapia (RAMOS et al., 2014). Uma vez realizada excisão do tumor, é alta a chance de recidiva (COELHO et al., 2011). Desta forma, é imprescindível o diagnóstico precoce associado à cirurgia (DA SILVA et al., 2012).

Portanto, este estudo teve por objetivo relatar um caso de schwannoma maligno em região subcutânea de joelho do membro pélvico direito de cadela de 13 anos de idade.

2 | RELATO DE CASO

Deu entrada no setor de Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais da Clínica Veterinária – UNIME, uma cadela da raça Poodle, castrada, de 13 anos de idade, com peso de 7,2 kg e queixa de aumento de volume em membro pélvico direito (MPD), há cerca de 4 meses. O tutor não relatou claudicação, porém afirmou que o animal apresentava dificuldade de descer e subir escadas. Ao exame físico, os linfonodos pré-escapulares estavam reativos; na ausculta cardiopulmonar, havia presença de sopro, sem estertor pulmonar. Ao exame físico em MPD, na região do joelho, notou-se nódulo subcutâneo que media cerca de três centímetros, de consistência macia, pendular, não aderido e não ulcerado.

Foram solicitados hemograma, perfil bioquímico sérico (alanina aminotransferase, ureia e creatinina, proteínas totais e frações), radiografia torácica em incidências latero-lateral esquerda, direita e ventro-dorsal, ultrassonografia abdominal (USG), eletrocardiograma, além de citologia aspirativa. Foi aplicado prometazina (0,4mg/kg) por via subcutânea antes da realização de citologia aspirativa, devido à suspeita de mastocitoma.

O exame citopatológico foi sugestivo de neoplasia mesenquimal. A radiografia de tórax não demonstrou alterações em parênquima pulmonar. No entanto, a USG denotou fígado com dimensões aumentadas, relação e definição córtico-medular renais diminuídas, porém, sem imagens compatíveis com metástase à distância. O hemograma demonstrou leucopenia por linfopenia e demais bioquímicos dentro da referência para a espécie.

Foi recomendado nodulectomia, para posterior análise histopatológica. Como medicação pré-anestésica, utilizou-se morfina (0,2mg/kg) por via intramuscular; para indução, propofol (5mg/kg) e midazolam (0,3mg/kg) por via intravenosa; manutenção com isoflurano, além de bloqueio infiltrativo com lidocaína com

vasoconstritor (7mg/kg) e bupivacaína (2,5mg/kg). Foram administrados meloxicam (0,2mg/kg), cefalotina (30mg/kg) e dipirona (30mg/kg) por via intravenosa e tramadol (2mg/kg) por via intramuscular.

Foi realizada incisão cutânea elíptica com margens de 2 cm ao redor do nódulo, divulsionamento de tecido subcutâneo e hemostasia com fio ácido poliglicólico nº 2-0, utilizando padrão cushing para rafia do subcutâneo e dermorrafia com fio nylon nº 3-0 em padrão simples separado. A amostra foi enviada para análise histopatológica.

No pós-operatório, foi prescrito cefalexina (30mg/kg) e ranitidina (2mg/kg), a cada 12 horas, durante sete dias; meloxicam (0,1mg/kg) a cada 24 horas, durante três dias e dipirona (25 mg/kg), a cada oito horas, durante cinco dias. Todas as medicações por via oral. Curativo local com clorexidina 1% a cada 24 horas, durante dez dias.

O laudo histopatológico foi compatível com Schwannoma maligno. Foi solicitada análise imunohistoquímica para conclusão diagnóstica e definição do prognóstico, a qual foi positiva para marcadores CD56 (molécula de adesão de células neurais e neuroendócrinas) e NSE (enolase neurônio-específica) e negativa para GFAP e S100 nas células neoplásicas (Figura 1). Desta forma, foi firmado o diagnóstico de neoplasia maligna de nervo periférico (schawnnoma maligno).

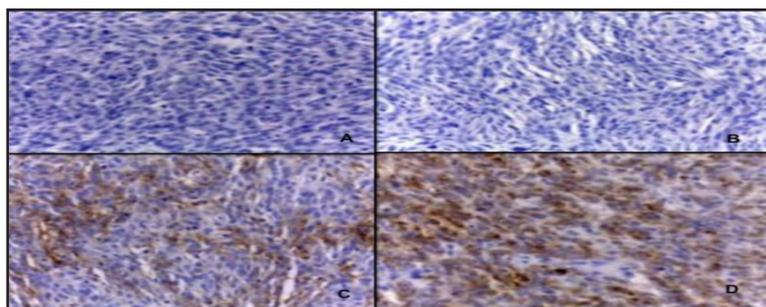


Figura 1: Schwannoma maligno em canino. Fotomicrografia de imunohistoquímica de marcadores: GFAP - negativo (A); S100 – negativo (B); CD56 – positivo (C); NSE – positivo (D)

No retorno, a ferida cirúrgica se apresentava cicatrizada, sem deiscência de pontos ou secreção. Até o presente momento, o animal não apresentou recidiva local e metástase à distância, com sobrevida global de 10 meses.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente relato, a análise histopatológica evidenciou presença de proliferação neoplásica pouco delimitada, em paliçada, em concordância com o descrito por Bordini e colaboradores (2018), em que células fusiformes dispostas paralelamente ou em paliçada constituem padrão histológico clássico Antoni A, o qual é característico do schwannoma clássico. O laudo histopatológico também indicou presença de necrose e hemorragia, compatível com achados de Patnaik e colaboradores (2002).

Chijiwa, Uchida e Tateyama (2004) referiram que a marcação imunohistoquímica desta neoplasia é variável: assim, a imunexpressão de GFAP e S100 pode variar de ausente a forte, o que auxilia na elucidação do prognóstico. A marcação por GFAP é mais comum em schwannomas benignos em cães e a negatividade para S100 pode sustentar o diagnóstico de malignidade, como observado neste relato.

Em estudo, Da Cruz e colaboradores (2015) relataram schwannoma em tórax, de aproximadamente cinco centímetros, firme e aderido ao subcutâneo, em fêmea sem raça definida, de 11 anos de idade e grande porte. No presente relato, o animal descrito foi um cão de pequeno porte, da raça Poodle, de idade superior à referida, o que contrapõe o descrito por Araújo e colaboradores (2008) e Ramos e colaboradores (2014), em relação às características dos animais acometidos.

Em comparação ao descrito pela literatura, existe uma diferença em relação à localização do tumor, cujo local mais comum é no plexo braquial e região cervical (RAMOS et al., 2014). Contudo, este tipo histológico foi observado em cão da raça poodle de cinco anos de idade em articulação femurotibiopatelar direita conforme descrito por Silva e colaboradores (2007). A claudicação, manifestação clínica mais comum deste tumor, não foi observada neste relato, diferente do relatado por Araújo e colaboradores (2008).

No estudo de Da Cruz e colaboradores (2015) e Araújo e colaboradores (2008), não foram encontradas alterações em exames de imagem que sugerissem metástase à distância, tal como no presente caso, em concordância com Coelho e colaboradores (2011), que descreveram a ocorrência de metástase em schwannoma como rara.

Seu prognóstico é desfavorável, já que, por se tratar de neoplasia mesenquimal, tem pouca resposta ao tratamento quimioterápico e, quando realizada exérese do tumor, há recidiva em 72% dos casos (RAMOS et al., 2014; BORDINI et al., 2018). Contudo, neste estudo, com estabelecimento de tratamento por remoção cirúrgica com amplas margens, sem realização de terapia adjuvante, foi possível a obtenção de bons resultados, visto que, com 10 meses de sobrevida até o presente

momento, o animal não apresentou indícios de recidiva.

Foi realizado acompanhamento para seguimento do animal por exames de imagem, os quais demonstraram ausência de metástase, resultado também encontrado por Ramos e colaboradores (2014), que em 12 meses de pós-operatório não identificaram recidivas. Nestes dois estudos, o prognóstico favorável pode ser atribuído à localização da neoplasia distalmente à medula espinhal.

Em estudo retrospectivo com 16 cães diagnosticados com neoplasia de bainha de nervos periféricos, foi realizado tratamento apenas com exérese do tumor, de forma a preservar o membro. Van Stee e colaboradores (2017) concluíram que esta conduta proporcionou sobrevida comparável àquela obtida por amputação do membro. O mesmo procedimento foi realizado neste estudo, o que demonstrou resultado satisfatório.

4 | CONCLUSÃO

O diagnóstico anatomopatológico de tumores malignos de bainha de nervos periférico é difícil. É necessário o auxílio de análises, como a imuno-histoquímica. O tempo de sobrevida atingido aliado à ausência de metástase foram resultados satisfatórios considerada a conduta de exérese do tumor em relação à amputação do membro.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Clínica Veterinária da UNIME e aos seus aprimorandos em Medicina Veterinária nas áreas de Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais e Anestesiologia Veterinária.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, B. M. et al. Schwannoma do plexo braquial em cão. **Medicina Veterinária**, Recife, v. 2, n. 4, p. 45-49, out- dez, 2008.
- BORDINI, C. G. G. et al. Tumor maligno da bainha perineural retrobulbar e intracraniano em cão: relato de caso. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, Belo Horizonte, v. 70, n. 5, p. 1355-1361, out, 2018.
- CHIJIWA, K.; UCHIDA, K.; TATEYAMA, S. Immunohistochemical evaluation of canine peripheral nerve sheath tumors and other soft tissue sarcomas. **Veterinary Pathology**, Miyazaki, v. 41, n. 4, p. 307-318, july, 2004.
- COELHO, H. E. et al. Ocorrência de Schwannoma na vulva de uma vaca. **PUBVET**, Londrina, v. 5, p. 1251-1257, out, 2011.

DA CRUZ, T.P.P.S. et al. schwannoma maligno cutâneo em canino. **Acta Veterinaria Brasilica**, Cuiabá, v.9, n.2, p.185-189, 2015.

DA SILVA, E.O et al. Tumor maligno da bainha de nervo periférico envolvendo raízes nervosas do terceiro segmento medular lombar em um cão. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina. 2397-2402, nov-dez, 2012.

PATNAIK, A. K. et al. Malignant nerve-sheath tumor with divergent and glandular differentiation in a dog: case report. **Veterinary Pathology**, New York, v. 39, n. 3, p. 406- 409, may, 2002.

RAMOS, L.M.P.D et al. Schwannoma cutâneo em cão boxer – relato de caso. **Science And Animal Health**, Ituverava, v. 2, n. 1, p. 80-90, jan-jun, 2014.

SILVA, C.M.O. et al. Tumor maligno da bainha de nervo periférico em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n.3, p. 679-684, jun, 2007.

VAN STEE, L. et al. Compartmental resection of peripheral nerve tumours with limb preservation in 16 dogs (1995–2011). **The Veterinary Journal**, Utrecht, v. 226, p. 40-45, july, 2017.

SINDROME NEUROLÓGICA DA ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA

Data de aceite: 01/12/2020

Dâmaris Oliveira Bezerra do Nascimento

Agência de Defesa Sanitária Agrosilvopastoril
do Estado de Rondônia (IDARON)

Marco Antonio de Andrade Belo

Universidade Brasil
Descalvado/SP, Brasil

RESUMO: A encefalopatia espongiforme bovina (EEB), comumente conhecida como doença da vaca louca, é uma doença neurodegenerativa do gado. Os sinais clínicos incluem comportamento anormal, dificuldade para caminhar e perda de peso. No curso da doença, os bovinos se tornam incapazes de se mover e o tempo entre a infecção e o início dos sinais clínicos esta geralmente entre quatro a cinco anos. Enquanto, o tempo entre o início dos sinais clínicos e a morte dos animais compreende geralmente um período de semanas a meses. Acredita-se que a disseminação para seres humanos resulte em uma variante da doença de Creutzfeldt – Jakob (vCJD). É considerada um tipo de encefalopatia espongiforme transmissível (EET) com grande importância econômica e sanitária.

PALAVRAS-CHAVE: Encefalopatias, vigilância epidemiológica, sistema nervoso central.

NEUROLOGICAL SYNDROME OF BOVINE SPONGIFORM ENCEPHALOPATHY

ABSTRACT: Bovine spongiform encephalopathy

(BSE), commonly known as mad cow disease, is a neurodegenerative disease of bovines. Clinical signs include abnormal behavior, difficulty walking and weight loss. In the course of the disease, bovines become unable to move and the time between infection and the onset of clinical signs is usually between four to five years. Meanwhile, the time between the onset of clinical signs and the death of the animals generally comprises a period of weeks to months. The spread to humans is believed to result in a variant of Creutzfeldt - Jakob disease (vCJD). It is considered a type of transmissible spongiform encephalopathy (TSE) with great economic and health importance.

KEYWORDS: Encephalopathies, epidemiological surveillance, central nervous system.

A Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB) é mundialmente conhecida como “doença da vaca louca”, e teve sua primeira descrição em 1986 no Reino Unido, sendo classificada como uma Encefalopatia Espongiforme Transmissível (EET). Apesar da descoberta em 1986, a EEB ficou muito conhecida na década de 90 como resultado da grande quantidade de casos e sua associação à nova variante da doença de Creutzfeldt-Jakob. Os países com casos de EEB entraram em crise sanitária e impacto econômico sem precedentes (BARROS et al., 2006; HAMIR et al., 2015).

No Reino Unido, de 1986 a 2015, mais de 184.000 bovinos foram diagnosticados com o pico de novos casos ocorrendo em 1993 (CASALONE & HOPE, 2018). Alguns milhares

de casos adicionais foram relatados em outras regiões do mundo. Acredita-se que alguns milhões de bovinos com a condição provavelmente entraram no suprimento de alimentos durante o surto (CASALONE & HOPE, 2018).

A Encefalopatia Espongiforme Bovina difere das EET que acomete os ovinos, tendo em vista que nesta o agente pode estar espalhado pelos tecidos linfóides, já nos bovinos é pouco comum a ocorrência do agente fora do tecido neuronal (SMITH, 2006).

1 | EPIDEMIOLOGIA

Os primeiros registros da doença datam de 1986, no Reino Unido, onde foram registrados o maior número de casos de EEB. Desde 1986, aproximadamente, 185 mil bovinos foram acometidos no globo. Há relatos de casos em outros países da Europa e também em países fora da Europa, porém, em menor número. A disseminação da doença aconteceu principalmente pela importação de farinha de carne e osso contaminada do Reino Unido e pela importação de animais da Inglaterra (ANDERSON et al., 1996; BARRROS & MARQUES, 2003; BARROS et al., 2006; HAMIR et al., 2015).

No Brasil, foram relatados dois casos de EEB na sua forma atípica, considerada a forma esporádica e espontânea da doença e não está relacionada à ingestão de alimentos contaminados. Os animais não entraram na cadeia alimentar (BRASIL, 2012; 2014).

A transmissão da EEB tem relação com a dieta a base de proteína de origem animal, contaminada pelo agente, principalmente a farinha de carne e osso. Cogita-se que, inicialmente, a infecção pode ter ocorrido devido à incorporação de ovinos acometidos pelo Scrapie ou bovinos afetados pela forma esporádica da doença na produção de ração para bovino. A epidemia foi gerada pelo uso de tecidos animais contaminados na produção de ração para ruminantes (BARRROS & MARQUES, 2003; BARROS et al., 2006; SMITH 2006; WELLS et al., 2007; HAMIR et al., 2015).

A doença não possui preferência por raça, sexo, faixa etária ou questões relacionadas ao manejo dos animais, no entanto, a maior parte dos casos ocorreu em bovinos de raça leiteira entre 3 e 6 anos de idade, que, presume-se, ter ocorrido devido ao maior tempo de vida do animal, quando comparado com bovinos de corte, e também ao fato de que há um maior uso de concentrado na dieta de animais destinados a produção de leite (BARRROS & MARQUES, 2003; BARROS et al., 2006; SMITH 2006; HAMIR et al., 2015).

A importância da EEB em saúde pública se dá pelo fato de que a doença pode ser transmitida ao ser humano por meio da ingestão da carne contaminada. A forma humana é a nova variante da doença de Creutzfeldt-Jakob que se

diferencia da primeira, principalmente na idade da população atingida, acometendo, principalmente, pessoas jovens, que consumiram carne contaminada de animais com EEB (TREVITT & SINGH, 2003).

Os agentes priônicos causadores da EET são altamente resistentes ao calor (1 hora a 360° C de calor seco), substâncias químicas, como éter e formalina 20%, além de radiação ultravioleta. Não geram resposta inflamatória nem imune, não há resposta humoral, pois os príons não são antígenos (BARRROS & MARQUES, 2003; BARROS et al., 2006).

2 | SINAIS CLÍNICOS EM ANIMAIS

O período de incubação pode variar entre 2 a 8 anos, com média de 5 anos. A degeneração do Sistema Nervoso Central pode causar alterações, tais como queda na produção de leite, perda de peso, discretas alterações comportamentais, podendo ficar apreensivo, hiperativo, dar coices durante a ordenha, se isolar (ANDERSON et al., 1996; NATHANSON et al., 1997).

Nos sinais nervosos mais presentes observa-se nervosismo, medo ou agressividade, postura anormal, andar rígido, incoordenação, hipermetria, ataxia dos membros pélvicos progredindo para os membros torácicos, e dificuldade para se levantar. O animal pode se relutar em passar por obstáculos, hiperestesia ao contato, apresentar medo exagerado como respostas aos estímulos visuais, sonoros e táteis, bruxismo, reflexo de Flehmen e lamber o focinho com frequência. O animal entra em decúbito permanente e progride ao óbito (NATHANSON et al., 1997; BARROS et al., 2006; HAMIR et al., 2015).

O tempo entre o início da manifestação clínica e o óbito pode variar de 2 semanas até 6 meses, variando os sinais clínicos de acordo com a região do cérebro afetada (NATHANSON et al., 1997; BARROS et al., 2006; HAMIR et al., 2015).

3 | TRANSMISSÃO

Até o momento não há evidências que a EEB possa ser transmitida verticalmente, no entanto, estudos indicam que a prole de bovinos com EEB têm maior possibilidade de desenvolver a doença, mas não são considerados como risco para manutenção endêmica (OIE, 2010).

A EEB pode ser transmitida aos bovinos por meio da exposição parenteral e oral a tecidos cerebrais contaminados, tendo sido detectada alta infectividade no tecido linfóide do íleo distal, medula óssea, gânglio trigêmeo, gânglios e nervos espinhais, medula, olhos, amídalas e cérebro. Estes tecidos e órgãos são nomeados Materiais de Risco Específico (MRE) para EEB, e as medidas de controle usadas internacionalmente têm a eliminação do MRE nos frigoríficos como um dos

principais pontos de atuação, não permitindo sua destinação às graxarias (BRASIL, 2005;2007; HAMIR et al., 2015; CASALONE & HOPE, 2018).

4 | DIAGNÓSTICO

Não há uma técnica de diagnóstico no animal vivo, o diagnóstico *post mortem* é feito através de exame microscópico do cérebro ou pela identificação da isoforma do príon. Há degeneração neuronal e vacuolização intraneuronal em regiões específicas do cérebro. No Brasil, as técnicas de diagnóstico realizadas são o exame histológico de cortes do tronco encefálico e imunohistoquímica, sendo realizados em laboratórios credenciados pelo MAPA (BARROS et al., 2006; SMITH, 2006; BRASIL, 2008).

O exame histológico consiste na análise das alterações histopatológicas no SNC. As alterações são neurodegenerativas caracterizadas por uma vacuolização espongiiforme. Os vacúolos, com aproximadamente 30 a 40 μm de diâmetro, são observados na substância cinzenta, especialmente ao nível do obex central. Já o imunohistoquímico faz uso de anticorpos antiproteína priônica, que se ligam especificamente ao PrP^c e PrP^{sc}, em apenas a um sítio da proteína destes. Faz-se uso de proteases para evidenciar a proteína priônica, sendo a PrP^c resistente à ação daquelas. É uma técnica de difícil execução e alto custo, porém, tem como vantagem a detecção de pequenas porções de príon e pode ser realizada em tecido autolizado (OIE, 2010).

5 | TRATAMENTO, CONTROLE E PROFILAXIA

Não há tratamento para Encefalopatia Espongiiforme Bovina, tão pouco vacinas que podem ser usadas na profilaxia. As ações voltadas para a prevenção da introdução da doença são baseadas em restrições quanto a importação de animais de países considerados de risco para EEB, bem como a não alimentação de ruminantes com proteína de origem animal. As atividades de vigilância epidemiológica têm grande importância na prevenção, identificação de possíveis casos e atuação no controle (BARROS et al., 2006; SMITH, 2006; BRASIL, 2008).

6 | LEGISLAÇÃO VOLTADA PARA VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DA EEB E MEDIDAS DE MITIGAÇÃO DE RISCO

A Encefalopatia Espongiiforme Bovina é uma doença com grande impacto econômico internacional, principalmente pelo fato de ser uma zoonose, transmitida a partir da ingestão de produtos cárneos com o agente priônico em sua composição. Os países que tiveram casos positivos da doença sofreram grande prejuízo

econômico. Como não há tratamento eficaz para as Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis, as medidas adotadas no controle dessas enfermidades têm suma importância (LUPI, 2003; TREVITT & SINGH, 2003).

A partir de 1997, através da Portaria Nº 516, a EEB e o scrapie foram incluídos na relação de doenças passíveis de aplicação de medidas de defesa sanitária animal. Tornaram-se doenças de notificação obrigatória a EEB, o scrapie e outras doenças com sintomatologia nervosa de caráter progressivo foram incluídas no sistema de vigilância da raiva dos herbívoros domésticos (BRASIL, 1997).

Segundo o Código Sanitário para Animais Terrestres, da OIE, os critérios para a classificação de risco referente à EEB para um país, zona ou compartimento, não são baseados apenas na avaliação do programa de vigilância, mas, também são considerados os resultados de uma avaliação de risco, que buscam identificar fatores associados à doença, conscientização da população na produção de bovinos e os exames laboratoriais realizados nas amostras coletadas pelo sistema de vigilância. De acordo com a avaliação desses critérios, o Brasil está classificado como risco insignificante para EEB (OIE, 2010,2015; BRASIL, 2014).

O objetivo do sistema de vigilância para EEB é de determinar se há ou não presença da doença no país, e, em caso positivo, monitorar a sua evolução. As medidas voltadas para mitigação de risco também têm grande importância (OIE, 2010).

Com a finalidade de realizar a vigilância da EEB, dividiu-se a população bovina susceptível da seguinte maneira:

- a. Bovinos com idade superior a 30 meses, manifestando comportamento ou sinais clínicos compatíveis com EEB;
- b. Bovinos acima de 30 meses de idade, encontrados “caídos”, impossibilitados de se levantar ou andar sem auxílio, bem como bovinos acima de 30 meses de idade destinados a abate de emergência ou condenados na inspeção *ante mortem*;
- c. Bovinos com idade superior a 30 meses, encontrados mortos nas propriedades, durante o transporte ou no frigorífico;
- d. Bovinos acima de 36 meses de idade, submetidos ao abate de rotina.

A OIE estabelece pontuação às amostras coletadas para exames laboratoriais. A pontuação é determinada de acordo com a subpopulação da qual tem origem a amostra e a faixa etária dos animais testados, conforme mostra a Tabela 1 (OIE, 2010), na qual pode-se verificar que a vigilância tem maior significância na subpopulação de bovinos com mais de 30 meses de idade e sinais neurológicos compatíveis com EEB. As demais investigações favorecem a avaliação da EEB em

um país, zona ou compartimento.

Idade	População amostrada			Suspeitos clínicos
	Abate de Rotina	Animais encontrados mortos	Animais submetidos ao abate de emergência	
≥ 1 e < 2 anos	0,01	0,2	0,4	N/A
≥ 2 e < 4 anos	0,1	0,2	0,4	260
≥ 4 e < 7 anos	0,2	0,9	1,6	750
≥ 7 e < 9 anos	0,1	0,4	0,7	220
≥ 9 anos	0,0	0,1	0,2	45

Tabela 1: Pontuação das amostras coletadas para diagnóstico de EEB, conforme subpopulação e faixa etária.

Fonte: OIE, 2010 adaptado pelo autor.

As atividades de vigilância epidemiológica a campo devem realizar a coleta e envio de amostra para diagnóstico de EETs nos casos em que (BRASIL, 2002):

- a. Ovinos e/ou caprinos ou bovídeos, com manifestação de sinais clínicos de alteração comportamental ou distúrbios nervosos com evolução sub-aguda, ou evolução clínica superior ou igual a 15 dias;
- b. Animal encontrado em decúbito sem causa definida;
- c. Animal com doença depauperante.

A coleta de material para diagnóstico das EETs é realizada em bovídeos com idade superior a 24 meses e ovinos ou caprinos com idade superior a 12 meses. Nos casos com suspeita de síndrome neurológica, com resultados negativos para raiva, o envio de amostra para diagnóstico de EEB é obrigatório para bovinos acima de 24 meses, bem como ovinos e caprinos acima de 12 meses (BRASIL, 2002).

Como medida de vigilância dentro dos estabelecimentos frigoríficos, deve-se realizar a remoção do tronco encefálico de todos os bovinos, ovinos e caprinos destinados ao abate de emergência, que chegaram mortos ou foram encontrados mortos no estabelecimento frigorífico. A amostra deve, então, ser destinada para realização de diagnóstico laboratorial para EETs (BRASIL, 2002).

No Brasil, é proibida a produção, comercialização e o uso de produtos na alimentação de ruminantes que em sua composição contenha proteínas e gorduras

de origem animal, incluindo cama de aviário e resíduo da criação de suídeos, excetuam-se os produtos lácteos, farinha de ossos calcinados (sem gorduras e proteína), gelatina e colágeno produzidos de couro e pele (BARROS et al., 2006; SMITH, 2006; BRASIL, 2004; 2008).

Como meio de controlar o fornecimento de proteína de origem animal para ruminantes, o serviço veterinário oficial realiza fiscalizações em estabelecimentos de criação de ruminantes, que produzem ração animal e graxarias. Nos casos de suspeita de fornecimento de proteína de origem animal, amostras do alimento são coletadas e enviadas para análise laboratorial (BRASIL, 2004; 2005; 2008).

Em março de 2004, através da Instrução Normativa Nº 07, o Ministério da Agricultura proibiu a importação de ruminantes, bem como seus produtos e subprodutos e produtos veterinários que utilizem restos de ruminantes em sua composição, quando estes tiverem origem em países com registro de casos autóctones de EEB, assim como países considerados de risco pela Secretaria de Defesa Agropecuária (BRASIL, 2004).

Para os casos em que houve a importação de ruminantes, antes da IN nº 07 de 2004 entrar em vigor, é proibido o abate destes animais, bem como o comércio e transferência para outra unidade produtiva sem autorização do serviço veterinário oficial. Havendo o óbito do animal em questão, a destruição ou enterro da carcaça só poderá ser realizado após comunicação e autorização prévia do serviço veterinário oficial, que, por sua vez, realizará a coleta do tronco encefálico e o seu envio para diagnóstico laboratorial de EEB (BRASIL, 2003).

O memorando nº 02, de 07 de abril de 2005 do CGI/DIPOA (Coordenação Geral de Inspeção/Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal), determina a remoção e destruição dos materiais considerados de risco específico para EEB, sendo eles; cérebro, olhos, amídalas, baço, medula espinhal e intestino, desde o duodeno até o reto, de bovinos, ovinos e caprinos de qualquer idade. O Material de Risco Específico (MRE) não pode ser utilizado como matéria prima na produção de farinha de carne e osso (BRASIL, 2005).

REFERÊNCIAS

ANDERSON RM, DONNELLY CA, FERGUSON NM, WOOLHOUSE MEJ, WATT CJ, UDY HJ, MAWHINNEY S, DUNSTAN SP, SOUTHWOOD TRE, WILESMITH JW, RYAN JBM, HOINVILLE LJ, HILLERTON JE, AUSTIN AR, WELLS GAH. Transmission dynamics and epidemiology of BSE in British cattle. *Nature*. 1996; 29:779-788.

BARROS CL, DRIEMEIER D, DUTRA IS, LEMOS RAA. Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil. 1a. Ed. Montes Claros: Vallée; 2006. 207 p.

BARROS CSL, MARQUES GHF. Procedimentos para o diagnóstico das doenças do sistema nervoso central de bovinos. Brasília: MAPA/DAS/DDA; 2003. 50 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil). Instrução Normativa nº 18 de 15 de fevereiro de 2002. Aprova as Normas a serem adotadas, visando incrementar à vigilância epidemiológica para detecção de Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis – EET – em ruminantes. Diário Oficial da União, Brasília, 18 de fev de 2002; Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil). Instrução Normativa nº 18 de 15 de dezembro de 2003. Proíbe o abate de bovino e bubalino importados de país onde houve ocorrência de caso autóctone da EEB ou de país considerado de risco para esta doença. Diário Oficial da União, Brasília, 24 de dez de 2003; Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Memorando Circular nº 02 – Remoção e destruição de materiais considerados potencialmente de risco para Encefalopatia Espongiforme Bovina – (BSE). Brasília: CGI/DIPOA; 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Saúde Animal. Ofício Circular nº 77 – Encaminha estudo sobre áreas de risco para encefalopatia espongiforme bovina – EEB no País. Brasília: DSA; 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Defesa Animal, Secretária de Defesa Agropecuária. Encefalopatia espongiforme bovina – EEB: doença da vaca louca. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 49 de 15 de setembro de 2008. Estabelece as seguintes categorias de risco para Encefalopatia Espongiforme Bovina - EEB: categoria I – países com risco insignificante para a EEB; categoria II – países com risco controlado para a EEB; categoria III – países com risco indeterminado ou não classificado para a EEB. Diário Oficial da União, Brasília, 16 de set 2008; Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 8 de 8 de março de 2004. Proíbe em todo o território nacional a produção, a comercialização e a utilização de produtos destinados à alimentação de ruminantes que contenham em sua composição proteínas e gorduras de origem animal. Diário Oficial da União, Brasília, 25 de mar 2004; Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 7 de 17 de março de 2004. Proíbe a importação de ruminantes, seus produtos e subprodutos destinados a quaisquer fins, e de produtos para uso veterinário que contenham em sua composição insumos oriundos de ruminantes, quando originários ou procedentes de países que registraram casos autóctones de EEB, e de outros países considerado de risco pela Secretaria de Defesa Agropecuária. Diário Oficial da União, Brasília, 18 de mar 2004; Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de colheita de amostras em produtos destinados à alimentação de ruminantes, em propriedades rurais - Manual técnico. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento [homepage na internet] Nota Oficial: Com relação à morte de uma fêmea bovina ocorrida no estado do Paraná, em 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento [homepage na internet] Entenda o caso de EEB no Mato Grosso.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº516, de 9 de dezembro de 1997. Declara o Brasil livre de encefalopatia espongiforme bovina, de acordo com o que estabelece o artigo 3.2.13.2 do Código Zoossanitário Internacional. Diário Oficial da União, Brasília, 11 de dez de 1997; Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e desenvolvimento. Brasil mantém status de risco insignificante para EEB 2014 [Internet]. Ministério da Agricultura, Pecuária e desenvolvimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/noticias/2014/05/brasil-mantem-status-de-risco-insignificante-para-eeb> (acessado em 10 mai 2015).

CASALONE, C; HOPE, J. Atypical and classic bovine spongiform encephalopathy. Handbook of Clinical Neurology. 153. pp. 121–134, 2018.

HAMIR AN, KEHRLI ME, KUNKLE RA, GREELEE JJ, NICHOLSON EM, RICHT JA, MILLER JM, CUTLIP RC. Experimental interspecies transmission studies of the transmissible spongiform encephalopathies to cattle: comparison to bovine spongiform encephalopathy in cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2015; 23(3): 407-420.

LUPI O. Doenças priônicas: avaliação dos riscos envolvidos na utilização de produtos de origem bovina. *An. Bras. Dermatol.* 2003; 78(1):7-18.

NATHANSON N, WILESMITH J, GRIOT C. Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE): Causes and Consequences of a Common Source Epidemic. *Am. J. Epidemiol.* 1997; 14(11): 959-969.

OIE. World organization for animal health. List of Bovine Spongiform Encephalopathy Risk Status of Member Countries. Resolução N°21, 83 GS/FR. Paris: OIE; 2015. <http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/official-disease-status/bse/list-of-bse-risk-status/> (acessado em 15 abr 2015).

OIE. World organization for animal health. Terrestrial Animal Health Code. Chapter 11.4. Bovine spongiform encephalopathy. World organization for animal health. http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahc/2010/chapitre_bse.pdf (acessado em 15 abr 2015).

SMITH MO. Doenças do sistema nervosa. In: Smith BP(ed). *Medicina Interna de Grandes Animais*. 3a. Ed. Barueri: Manole, 2006. P. 873-1018. 1728 p.

TREVITT CR, SINGH PN. Variant Creutzfeldt-Jacob disease: Pathology, epidemiology and public health implications. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003; 78(3):651-656.

WELLS GAH, KONOLD T, ARNOLD ME, AUSTIN AR, HAWKINS SAC, STACK M, SIMMONS MM, LEE YH, GAVIER-WIDÉN D, DAWSON M, WILESMITH JW. Bovine spongiform encephalopathy: the effect of oral exposure dose on attack rate and incubation period in cattle. *Journal of General Virology*. 2007; 88:1363-137.

TRATAMENTO DE FERIDA ABERTA EM EQUINO UTILIZANDO INFUSÃO DE *Stryphnodendron adstringens* ASSOCIADA A AÇÚCAR CRISTAL – RELATO DE CASO

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 18/09/2020

Patrícia Natalícia Mendes de Almeida

Faculdades Unidas do Norte de Minas –
FUNORTE
Montes Claros, Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/4751703303871784>

Henrique Fernandes Giovanoni

Médico Veterinário Autônomo
Montes Claros, Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/7051817554215506>

Rodrigo Fernandes Giovanoni

Médico Veterinário Autônomo
Montes Claros, Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/8585102861596745>

RESUMO: A equideocultura brasileira detém o maior rebanho da América Latina. Por ser uma espécie que possui comportamento explosivo, está predisposto a sofrer traumas e danos à integridade da pele. Associa-se a isso a dificuldade cicatricial própria desses animais. Nesse contexto, a cada dia surgem novas terapias com a finalidade de reduzir o período de cicatrização das feridas cutâneas, e que resultem na formação de um tecido que seja o mais semelhante possível ao tegumento saudável. O *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) é uma leguminosa nativa encontrada no cerrado brasileiro. Sua casca é espessa, tendo como princípio ativo mais importante o tanino, apresentando assim efeito adstringente e

cicatrizante. Desta forma, estudar criteriosamente e apresentar os efeitos cicatriciais do barbatimão torna-se mister para que essa planta possa ser mais conhecida e adotada largamente no tratamento de feridas abertas nas diversas espécies animais. Neste relato, foram descritos os procedimentos adotados ao longo de vinte e três semanas de tratamento de um equino que sofreu vasta lesão de pele e perda de tecido muscular, assim como a evolução da ferida e o quadro geral do animal. Após o acidente um médico veterinário foi chamado para suturar a pele, mas devido à gravidade do ferimento, a inflamação e o local não possuir boa cicatrização por se tratar de uma área com movimentação intensa, houve deiscência dos pontos; foi realizado a retirada das margens necrosadas da ferida, dando início ao tratamento de ferida aberta. Foram realizadas medições a cada sete dias para avaliar a velocidade de fechamento e a qualidade da cicatrização até o fechamento total da lesão. Na pele do equino deste relato, o *Stryphnodendron* spp. foi eficiente quando utilizado como cicatrizante e antisséptico, sendo que o processo foi mais acelerado nas seis primeiras semanas. Além disso, não houve formação de tecido de granulação exuberante.

PALAVRAS-CHAVE: Plantas medicinais. Barbatimão. Feridas de segunda intenção. Equinos.

OPEN WOUND TREATMENT IN EQUINE USING *Stryphnodendron adstringens* INFUSION ASSOCIATED WITH CRYSTAL SUGAR - CASE REPORT

ABSTRACT: The Brazilian equine culture has the largest herd of Latin America. Being a species that has explosive behavior, it is predisposed of suffering trauma and damage to skin integrity. It is associated to that the difficulty of healing of these animals. In this context, in each day arise new therapies with the purpose of reducing the healing time of skin wounds and resulting in the formation of a tissue which is as similar as possible to the integument healthy. The *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) is a native legume found in the Brazilian biome cerrado. Its bark is thick, being the tannin most important active ingredient, thus presenting astringent and healing effect. This way, study with care and present the scarring effects of barbatimão becomes mister so that this plant can be better known and widely adopted in the treatment of open wounds in several animal species. This report will describe the procedures adopted over twenty-three weeks of treatment of an equine that suffered extensive skin damage and loss of muscle tissue, as well as the evolution of the wound and the overall picture of the animal. After the accident a veterinarian was called to suture the skin, but because of the severity of the injury, inflammation, and the place does not have good healing because it is an area with intense movement, the points did not resist; It was performed the edges removal of necrotic wound, starting the treatment of open wound. Measurements were made every seven days to evaluate the closing speed and quality of healing until the total closure of the lesion. In the skin of the equine treated on this report, the *Stryphnodendron* spp . was effective when used as for healing and antiseptic, and the process was faster in the first six weeks. In addition, there was no exuberant granulation tissue formation.

KEYWORDS: Medicinal plants. Barbatimão. Wounds of second intention. Equines.

1 | INTRODUÇÃO

A equideocultura brasileira detém o maior rebanho da América Latina. No cenário mundial, o Brasil se apresenta como o terceiro maior produtor de equinos, sem distinção entre aptidões. Nesse contexto, o estado de Minas Gerais é o maior produtor em número de equídeos do país, sendo também o maior produtor de selas e acessórios de selaria, o segundo maior produtor de feno e o terceiro maior exportador de carne equina, atrás apenas dos estados de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul (BRASIL, 2020).

O equino é uma espécie que possui comportamento explosivo. Isso faz com que suas reações sejam bruscas e predisponham os animais a danos físicos e traumatismos, que são bastante frequentes nessa espécie. Além disso, as instalações e pastagens inadequadas também são fatores que favorecem a ocorrência de lesões (VIANA et al., 2014).

Devido a isso, a cicatrização de feridas em equinos é um processo que

merece atenção de proprietários e profissionais do setor de equideocultura. Segundo Oliveira e Dias (2012), o processo cicatricial possui fatores adversos que são classificados como locais e sistêmicos. Os elementos locais se relacionam principalmente ao movimento e à presença de corpos estranhos no interior da ferida, sendo os mesmos: tecido necrosado, resíduos, contaminação bacteriana e falta de oxigenação tecidual. Esses autores listam a infecção como a causa mais importante no retardo da cicatrização. Já os fatores sistêmicos estão relacionados ao estado nutricional, hipovolemia, hipotensão, hipóxia, hipotermia, infecção sistêmica, trauma e uso de medicamentos antiinflamatórios. Todos esses elementos atuam como barreiras para o desenvolvimento adequado de tecido de granulação e deposição de colágeno. (VIANA et al., 2014). A literatura científica cita, ainda, tratamentos incorretos e a tendência à cronicidade das lesões como outros problemas que dificultam o curso da cicatrização.

Conhecer as fases da cicatrização de uma ferida e as características de cada fase é essencial para instituir o tratamento mais conveniente, inclusive os fármacos que serão utilizados e em que áreas da lesão poderão ser aplicados (VIANA et al., 2014). A melhor forma de cicatrização de uma ferida cutânea é por primeira intenção, mediante sutura cirúrgica, o que deve ser realizado o mais rápido possível depois de ocorrida a lesão. Esse procedimento é limitado às feridas localizadas em regiões anatômicas que permitam excisão e adaptação das suas bordas. Por outro lado, feridas amplas e profundas normalmente não possibilitam o fechamento primário, devendo ocorrer a cicatrização por segunda intenção. Esse tipo de cicatrização ocorre de forma lenta, sendo susceptível a complicações como infecção e formação de tecido de granulação exuberante. Ainda nesse caso participam, ativamente, dois processos que são independentes: a contração e a reepitelização.

Nesse contexto, a cada dia surgem novas terapias com a finalidade de reduzir o período de cicatrização das feridas cutâneas, e que resultem na formação de um tecido que seja o mais semelhante possível ao tegumento saudável (SOUZA et al., 2014). Dentre elas, cita-se a fitoterapia.

O uso de plantas medicinais é descrito desde os primórdios da humanidade (OLIVEIRA, VANZELER e CHIG, 2014). O conhecimento das plantas e seus derivados é transmitido de geração a geração por pessoas com hábitos e culturas diferentes ou semelhantes entre si (FERREIRA, SILVA e SOUZA, 2013). A literatura sempre refere ao uso de fitoterápicos em diferentes enfermidades com diversas indicações terapêuticas, sendo alguns deles de uso consagrado e pertencentes à farmacopéia (MARTINS et al., 2003). Além disso, os fitoterápicos têm baixo custo e podem ser usados conjuntamente à medicina alopática, além de seu uso ser inclusive incentivado pela Organização Mundial de Saúde (BRASIL, 2012).

Com o estudo científico da medicina tradicional, pôde-se confirmar as

espécies vegetais que, de fato, possuem propriedades de interesse curativo, dando mais respaldo à sua utilização. Entretanto, mesmo antes desse respaldo, os medicamentos fitoterápicos já faziam parte do cotidiano, especialmente das populações de menor poder aquisitivo, uma vez que têm menor acesso aos produtos alopáticos (MARTINS et al., 2003).

Na medicina veterinária, o uso popular de plantas medicinais na promoção da saúde animal é cada vez mais constante. Através de um estudo em assentamentos rurais de Seropédica – RJ, pode-se destacar as 30 espécies mais utilizadas para os mais diversos fins, dentre as quais as mais prevalentes em equinos foram: *Allium sativum* L. (alho), *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira), *Anacardium occidentale* L. (cajú), *Chromolaena maximilliani* (arnica branca), *Arnica montana* L. (arnica), *Tropaeolum majus* L. (cinco-chagas), *Luffa operculata* (L.) Cogn. (buchinha-do-norte), *Joannesia princeps* Vell. (indaguaçu), *Ricinus communis* L. (mamona), *Coffea arabica* L. (café) e *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms (pau-d'álho). Relatou-se a sua administração objetivando desde o tratamento de verminoses até de afecções respiratórias (SILVA et al., 2013).

Embora não tenha sido citada na pesquisa de Silva et al. (2013), a espécie *Stryphnodendron adstringens* é considerada um dos grandes exemplos de planta medicinal de uso corriqueiro. Conhecida popularmente como barbatimão, é provida por inúmeras propriedades farmacêuticas. De fácil acesso e baixo custo, vem sendo utilizada em larga escala no tratamento cicatricial de feridas abertas, tanto em humanos quanto em animais (MARTINS et al., 2003).

O *Stryphnodendron barbatiman*, conhecido popularmente como barbatimão, uabatimô ou paricarana, é uma leguminosa nativa encontrada no cerrado brasileiro desde o Pará até regiões dos Estados de São Paulo, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais. Sua casca é espessa, tendo como principal princípio ativo o tanino em sua constituição, apresentando assim efeito adstringente e cicatrizante (CORRÊA, 1984; COSTA, 1986; PANIZZA et al., 1998; OLIVEIRA e OLIVEIRA, 2012; FERREIRA et al., 2013). Esses taninos são os principais componentes vegetais que possuem a propriedade de precipitar as proteínas da pele e das mucosas, transformando-as em substâncias insolúveis (FERREIRA et al., 2013). Este efeito leva à precipitação de proteínas nas feridas acidentais e cirúrgicas, tendo como resultado a reparação (JORGE NETO et al., 1996) e a diminuição da exsudação (BEDI e SHENEFELT, 2002). Com isso, forma-se uma camada protetora contra a multiplicação bacteriana, resultando em uma ação antisséptica (COSTA, 1986).

Apresenta, ainda, em sua composição, outros constituintes químicos, como alcaloides, flavonoides, terpenos, estilbenos, esteróides e inibidores de proteases (como a tripsina), que podem ser responsáveis pela sua atividade anti-inflamatória e supostamente antimicrobiana (FERREIRA et al., 2013). Estas informações

corroboram com os achados de outros autores, que relatam que os fitoterápicos com uma estrutura química que difere da dos antibióticos derivados de microrganismos podem regular o metabolismo intermediário de patógenos, ativando ou bloqueando reações e síntese enzimática ou mesmo alterando a estrutura de membranas (PINHO et al., 2012).

Segundo Martins et al. (2003), em estudo comparativo entre fitoterápicos de uso tópico na cicatrização de pele em equinos, pode-se concluir que o barbatimão demonstrou-se superior a todos os demais grupos de tratamento, seguido pela calêndula.

Estudos realizados *in vitro* mostram que a solução aquosa a 25% do barbatimão foi eficiente no controle de microrganismos isolados da pele de cães, sendo seu efeito sobre *Staphylococcus* spp. similar ao da rifamicina comercial (RIBEIRO, RODRIGUES e ALMEIDA, 2015).

Além das plantas medicinais, outros produtos de fácil acesso também são estudados com relação a seus efeitos sobre lesões cutâneas. Um deles é o açúcar cristal, o qual é estudado tanto em seu efeito sozinho como misturado a outros produtos (FORREST, 1982; RAHAL et al, 1983; BIONDO-SIMÕES et al, 1991; NAKAO et al, 2006; CAVAZANA et al, 2009). Esses estudos apresentam o açúcar como um produto facilitador do processo cicatricial especialmente por seu efeito modulador na inflamação e estimulador do metabolismo de fibroblastos. Já o seu efeito antimicrobiano está relacionado à redução da atividade de água (aW) no meio, o que foi comprovado por Chirife e Herszage (1982) ao identificarem total efeito inibidor de uma solução de açúcar e água (195g de açúcar em 100ml de água) sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus*. Segundo esses autores, sendo o *S. aureus* o agente patogênico mais resistente a baixa atividade de água, ao se identificar uma solução que o impeça de crescer, esse efeito se estenderá sobre aqueles microrganismos mais sensíveis à baixa aW.

Apesar dessas pesquisas, há poucos estudos avaliando a utilização do barbatimão, do açúcar cristal ou da associação de ambos no tratamento de feridas em animais. Desta forma, estudar criteriosamente e apresentar os efeitos cicatriciais e antimicrobianos do barbatimão torna-se mister para que essa planta possa ser mais conhecida e adotada largamente no tratamento de feridas abertas nas diversas espécies animais.

Com este trabalho, objetiva-se apresentar um relato de caso acerca da aplicação tópica da planta medicinal *Stryphnodendron adstringens* associado a açúcar cristal em ferida aberta em equino, e o acompanhamento do processo cicatricial até o completo fechamento da lesão, apresentando as características do tecido cicatricial final após tratamento, bem como a evolução positiva da lesão.

2 | RELATO DE CASO

Uma potra da raça quarto de milha acidentou-se ao ir de encontro a uma cerca de arame liso, o que resultou em uma ferida aberta que atingiu pele e músculos braquiocefálico (porção distal) e peitoral descendente do membro anterior esquerdo, com dimensões de 27 cm por 26 cm. Tal evento aconteceu no dia 30 de dezembro de 2014.

Após o acidente, um médico veterinário foi chamado para suturar a lesão. Entretanto os pontos não resistiram e houve deiscência. Associado a esse evento, houve necrose do tecido lesado (Figura 1).



Figura 1: Foto A: lesão algumas horas após o acidente; Foto B: lesão suturada no mesmo dia do acidente; Foto C: tecido necrosado e deiscência de pontos cinco dias após o acidente.

Foi realizado o controle com anti-inflamatórios e a retirada das margens necrosadas da ferida, dando início ao tratamento de ferida aberta. O animal foi mantido em uma baia com cama de serragem para restringir sua movimentação.

Os proprietários do animal optaram, então, pelo tratamento alternativo, utilizando solução aquosa de barbatimão (200g de casca seca triturada de *S. adstringens* misturada a 1800 ml de água filtrada; essa solução ficou em repouso por 48hs antes do uso, quando era filtrada e utilizada no ferimento), seguida de pulverização com açúcar cristal misturada com o pó da casca do barbatimão, com proporção de 30% de açúcar cristal e 70% do pó da casca seca de barbatimão.

A escolha dos produtos, o açúcar e o barbatimão, foi baseada em estudos da literatura científica, quando se identificou que os seus usos individuais apresentaram sucesso (CHIRIFE e HERSZAGE, 1982; FORREST, 1982; HADDAD et al., 1983; RAHAL et al, 1983; BIONDO-SIMÕES et al, 1991; JORGE NETO et al., 1996; PANIZZA et al., 1998; BEDT; SHEMEFELT, 2002; MARTINS et al., 2003; NAKAO et

al, 2006; CAVAZANA et al, 2009), apesar de não ter sido encontrado, na literatura pesquisada, relatos da associação de ambos.

Durante o tratamento, o animal teve o ferimento lavado com água e sabão duas vezes ao dia (pela manhã e à noite), para retirada das crostas cicatriciais e escaurificação. Após cada limpeza, foi aspergido com a solução aquosa e, posteriormente, pulverizado com a mistura do pó do *S. adstringens* e açúcar granulado, o qual permanecia aderido à lesão devido à umidade do tecido (Figura 2). Esse protocolo foi seguido rigorosamente do 15º dia após o acidente que causou a lesão até o 192º dia. A evolução da lesão pode ser observada na Figura 3.



Figura 2: Lesão após o protocolo de tratamento com limpeza com água e sabão, enxague com solução aquosa de *Stryphnodendron adstringens* e posterior pulverização com mistura de açúcar cristal e pó da casca seca de *S. adstringens*. Nota-se o açúcar e o pó aderidos à lesão.



Figura 3: Acompanhamento fotográfico da lesão mostrando a evolução do seu aspecto macroscópico: Dia 1: dia do acidente; Dia 10: após necrose do tecido suturado e retirada dos debrís celulares; Dia 15: início da recuperação tecidual com a utilização da solução aquosa de barbatimão associada à pulverização da lesão com pó da casca de barbatimão + açúcar cristal; Dia 97 até 229: evolução de fechamento da lesão, com formação de tecido cicatricial e nascimento de pelo na área onde houve cicatrização há mais tempo.

Foram realizadas medições a cada sete dias para avaliar a velocidade de fechamento, assim como o tempo total até o dia 176 (23ª semana de tratamento), quando a lesão já se encontrava bastante pequena, havendo fechado no local onde eram realizadas as mensurações. Sendo assim, interrompeu-se esse procedimento, mas as aplicações tópicas dos produtos continuaram. Todas as datas e medidas foram anotadas em planilha criada para este fim, sendo o conjunto de dados analisado posteriormente.

3 | DISCUSSÃO

Os dados das aferições estão representados na Figura 4.

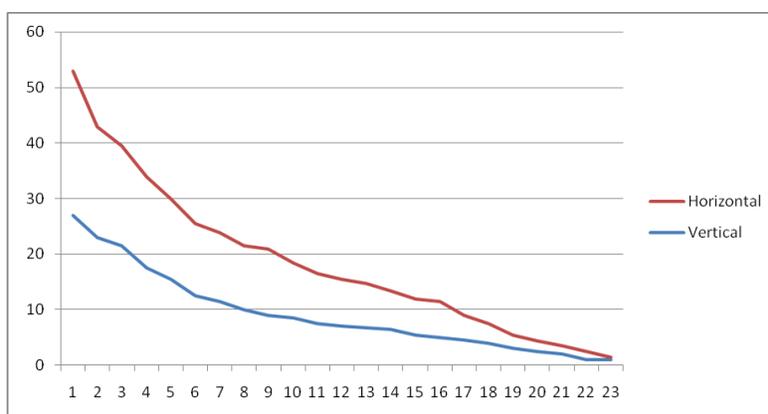


Figura 4: Dimensões (em centímetros) de lesão acidental em membro anterior de potro da raça quarto de milha ao longo de 23 semanas de tratamento.

O gráfico mostra a velocidade de fechamento a cada sete dias. A utilização de barbatimão se mostrou satisfatória na redução em tamanho da ferida nesse caso clínico. A solução combinada ao pó de barbatimão e o açúcar cristal formou uma crosta que endureceu a ferida. Após algumas semanas foi adicionado óleo mineral, sendo aplicado uma vez ao dia para melhorar a maleabilidade do tecido cicatricial e minimizar o desconforto do animal.

Observou-se que ao longo das seis primeiras semanas, a velocidade de fechamento da lesão foi mais evidente quando comparado ao restante do tratamento (Figura 5). Isso pode ser explicado por uma diminuição do reestabelecimento do fluxo sanguíneo nos tecidos recém-formados pois o fator que desencadeia a angiogênese reduz e, conseqüentemente, há também a redução dos vasos neoformados. A diminuição ou destruição desses vasos confere uma coloração mais clara da ferida.

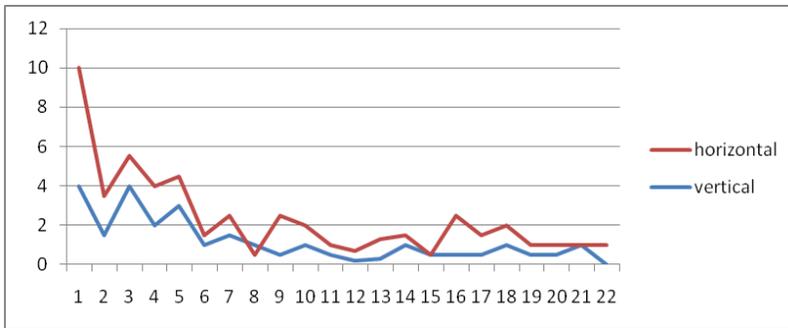


Figura 5: Velocidade de fechamento de lesão tratada com *Stryphnodendron barbatiman*, em cm, a cada semana.

Após uma determinada fase do tratamento o local onde as medidas eram realizadas se fechou completamente, as aferições nas semanas seguintes não foram consideradas para a estatística final.

Segundo Balbino et al. (2005), o processo de reparo de feridas são divididos em três fases: o processo inflamatório, fase fibroblástica e de deposição da matriz extra celular e a fase de remodelamento. Estudos realizados por Martins et al. (2003) comprovam que o barbatimão, quando comparado com outros fitoterápicos, possui boa ação cicatricial se mostrando superior em redução de área da lesão nos quinze primeiros dias. Entretanto, ao final de seu experimento, todos os produtos testados apresentaram médias estatisticamente iguais de velocidade de retração da ferida. O barbatimão proporcionou a formação de crostas espessas, secas e irregulares, provavelmente devido ação adstringente do tanino, além da produção de exsudato serofibrinoso, com abundante deposição de fibrina no sítio da lesão.

O primeiro passo para tratamento de feridas é protegê-la de contaminação adicional, além da limpeza ser um ato de fácil realização, de baixo custo, sem exigência de equipamentos específicos e, na maioria das vezes, bem tolerada pelo paciente, ela ainda diminui a quantidade de bactérias e infecções e estimula a microcirculação periférica devido massageamento (OLIVEIRA et al., 2012), além de remover, mecanicamente, secreções, fibrina, corpos estranhos e tecidos necrosados (HADDAD, BRUSCHI e MARTINS, 2000). Esse procedimento foi adotado duas vezes ao dia no animal deste relato, o que pode ter interferido positivamente no processo.

Sendo assim, em feridas amplas que exigem cicatrização por segunda intenção, como foi o caso do animal deste relato, há necessidade de aplicação de produtos antimicrobianos, além de ser desejável que também sejam cicatriciais. Buscando atender esses requisitos é que foi adotado o barbatimão, o qual possui reconhecido efeito antimicrobiano (COSTA, 1986; PANIZZA et al., 1998) e cicatricial

(JORGE NETO et al., 1996; PANIZZA et al., 1998; BEDT e SHEMEFELT, 2002; MARTINS et al. 2003). O açúcar granulado foi adotado por causa de ambos esses efeitos, sobre os quais há relatos na literatura científica (CHIRIFE e HERSZAGE, 1982; FORREST, 1982; RAHAL et al, 1983; BIONDO-SIMÕES et al, 1991; NAKAO et al, 2006; CAVAZANA et al, 2009). Segundo Haddad, Bruschi e Martins (1983), o açúcar apresenta diversas ações sobre o tecido lesionado, dentre eles a diminuição do edema local, a redução na congestão vascular dos tecidos perilesionais, melhorando sua oxigenação e irrigação, o desbridamento dos tecidos mortos e desvitalizados através da degradação de fibrina, a estimulação de macrófagos e a maturação do tecido de granulação. Além disso, apresenta a grande vantagem de não ter ação residual e não ser absorvido pela lesão.

Apesar disso, esses mesmos autores concluíram, em seus estudos com grupos de pacientes humanos desnutridos, obesos e com idade avançada, que o açúcar cristal não interferiu no processo de cicatrização de incisões cirúrgicas infectadas. Todavia, a limpeza das feridas e a remoção mecânica de fibrina, tecidos necrosados e secreções favoreceu a cicatrização das lesões, fator esse que também pode ter influenciado no caso aqui apresentado.

4 | CONCLUSÃO

Na pele do equino deste relato, a associação de *Stryphnodendron* spp. e açúcar cristal foi eficiente quando utilizado como cicatrizante e antisséptico, sendo que o processo foi mais acelerado nas seis primeiras semanas. Além disso, não houve formação de tecido de granulação exuberante.

REFERÊNCIAS

BALBINO, C.A.; PEREIRA, L.M.; CURTI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, p. 27-51, 2005.

BEDI, M.K.; SHENEFELT, P.D. Herbal therapy in dermatology. **Archives Of Dermatology**, v. n. 138, p. 232-242, 2002.

BIONDO-SIMÕES, M.L.P.; BARETA JÚNIOR, V.C.; FERREIRA, L.F.; COLLAÇO, L.M. Efeito do açúcar na cicatrização por segunda intenção: estudo experimental em ratos. **Acta Cirurgica Brasileira**. 1991;61:65.

BRASIL - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Estimativas sobre o rebanho de eqüídeos no Brasil**. Brasília: MAPA;. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos/saiba-mais> > acesso em: 07 de setembro de 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na atenção básica**. Brasília: Ministério da Saúde, 2012. (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica; n. 31)

CAVAZANA, W.C.; BIONDO-SIMÕES, M.L.P.; YOSHII, S.O.; BERSANI-AMADO, C.A.; CUMAN, R.K.N. Açúcar (sacarose) e triglicerídeos de cadeia média com ácidos graxos essenciais no tratamento de feridas cutâneas: estudo experimental em ratos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. V.84, n.3, p. 229-236, 2009.

CHIRIFE, J.; HERSZAGE, L. Sugar for infected wounds. **Lancet**, v. 2, n. 8290, p. 157, 1982.

CORRÊA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro:Imprensa Nacional, 1984.

COSTA, A.F. **Farmacognosia**. 3ª ed. Lisboa:Fundação Calouste Gulbekian, 1986.1031p.

FERREIRA, E.C.; SILVA, J.L.L.; SOUZA, R.F. As propriedades medicinais e bioquímicas da planta *Stryphnodendron adstringens* "Barbatimão". **Revista Perspectivas Online: Biológicas & Saúde**, v.3, n. 11, p. 14-32, 2013.

FORREST, R.D. Sugar in the wound. **Lancet**. v. 1(8276):861, 1982. doi:10.1016/s0140-6736(82)91917-1

HADDAD, M.C.; VANNUCHI, M.T.O.; CHENSO, M.Z. B.; HAULY; M.C.O. - Uso do Açúcar nas Feridas Infectadas - **Revista Brasileira de Enfermagem**; RS.36: 1 52 - 1 63, 1 983.

HADDAD, M.C.L.; BRUSCHI, L.C.; MARTINS, E.A.P. Influência do açúcar no processo de cicatrização de incisões cirúrgicas infectadas. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 8, n. 1, p. 57-65, 2000.

JORGE NETO, J.; FRACASSO, J.F.; NEVES, M.C.L.C.; SANTOS, L.E.; BANUTH, V.L. Tratamento de úlcera varicosa e lesões de pele com *Calendula officinalis*/ou com *Stryphnodendron barbatiman* (Vellozo) Martius. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**v. 17, p. 181-186, 1996.

MARTINS, P.S.; ALVES, A.L.G.; HUSSNI, C.A.; SEQUEIRA, J.L.; NICOLETTI, J.L.M.; THOMASSIAN, A. Comparison between phytotherapics on equine wound healing. **Archives of Veterinary Science**, v. 8, p. 1-7, 2003.

NAKAO, H.; YAMAZAKI, M.; TSUBOI, R.; OGAWA, H. Mixture of sugar and povidone--iodine stimulates wound healing by activating keratinocytes and fibroblast functions. **Archives of Dermatological Research**, v. 298, p.175-182, 2006.

OLIVEIRA, G.S.S.; OLIVEIRA, I.M.S. Barbatimão in the treatment of skin lesions. **Cadernos de Agroecologia**, v. 7, p. 1-4, 2012.

OLIVEIRA, I.V.P.M.; DIAS, R.V.C. Cicatrização de feridas: fases e fatores de influência. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, p. 267-271, 2012.

OLIVEIRA, S.S.; VANZELER, M.L.A.; CHIG, L.A. Plantas medicinais: el uso de barbatimao - *Stryphnodendron adstringens* (mart.) Coville. **Revista Uniciências**, v. 18, p. 115-122, 2014.

PANIZZA, S.; ROCHA, A.B.; GECCHI, R.; SOUZA E SILVA, R.A.P. Stryphnodendron barbatiman (Vellozo) Martius: teor em taninos na casca e sua propriedade cicatrizante. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, v. 10, p. 101-106, 1998.

PINHO, L.; SOUZA, P.N.S.; MACEDO SOBRINHO, E.; ALMEIDA, A.C.; MARTINS, E.R. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim- pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. **Ciência Rural**, v. 42, n. 2, p. 326-331, 2012.

RAHAL, F.; MIMICA, I.; PEREIRA, V.; ATHIÉ, E. O açúcar no tratamento local das infecções de feridas cirúrgicas. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 10, p.135-136, 1983.

RIBEIRO, B.C.L.A.; RODRIGUES, V.F.; ALMEIDA P.N.M. Ação antimicrobiana do Stryphnodendron barbatiman frente à microorganismos isolados da pele de cães. Monografia. Faculdades Integradas do Norte de Minas. Montes Claros, 2015. 17 p.

SILVA, W.M.O.; SOUZA, G.F.X.T.; VIEIRA, P.B.; SANAVRIA, A. Popular use of medicinal plants promoting animal health in rural settlements in Seropédica – RJ. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 20, p. 32-36, 2013.

SOUZA, M.V.; PINTO, J.O.; COSTA, M.B.M.; ALVES, M.S.; SILVA, M.O.; MARTINHO, K.O.; FIETTO, L.G. Expressão gênica do colágeno em ferida cutânea de equinos tratada com plasma rico em plaquetas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, p. 233-240, 2014.

VIANA, L.F.S.; WENCESLAU, A.A.; COSTA, S.C.L.; FIGUEIREDO, M.A.F.; ANDRADE, F.S.S.D.; FERREIRA, M.L. Tratamentos complementares para ferida com tecido de granulação exuberante em um equino-Relato de caso. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 36, p. 417-420, 2014.

TRATAMENTO DE MASTITE CLÍNICA E SUBCLÍNICA EM VACAS LEITEIRAS COM GÁS OZÔNIO INTRA-MAMÁRIO

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 04/09/2020

Caio Vinicius Martins

Universidade Brasil
Descalvado – SP
<http://lattes.cnpq.br/8911288981032149>

Natan de Jesus Laudino

Universidade Brasil
Descalvado – SP
<http://lattes.cnpq.br/7333615665798571>

Ana Caroline Jorge Menezes

Universidade Brasil
Descalvado – SP
<http://lattes.cnpq.br/6502411759116877>

Thalita Masoti Blankenheim

União das Faculdades dos Grandes Lagos –
UNILAGO
São José do Rio Preto – SP
<http://lattes.cnpq.br/4940679178638369>

RESUMO: A mastite, que em sua definição é que um processo inflamatório da glândula mamária caracterizada por uma considerada queda na produção e alterações na composição do leite é uma patologia de elevada perda econômica para a bovinocultura de leite no Brasil e no mundo como um todo. É uma doença que acomete produtores nacionais de diferentes níveis de produção trazendo, com isso, características de grande impacto para produção de leite, antes e durante o tratamento, já que os animais apresentam queda

na produção além dos gastos que o produtor tem para o tratamento desses animais e descarte do leite produzido durante o período de tratamento desses animais. Com base nessas informações, o presente trabalho visou a caracterização da eficácia do tratamento de bovinos leiteiro de diferentes raças considerados positivos para mastite clínica e subclínica por meio dos testes da caneca do fundo preto e pelo *California Mastitis Test* (CMT) com a utilização de gás ozônio aplicado por via intramamária. Pode-se concluir com os dados obtidos que, e necessários mais estudos para afirmar a eficiência do tratamento. O tratamento em si pode sofrer alterações em suas dosagens e concentração do gás ozônio. Outro ponto primordial seria a mudança de condutas realizadas pelos proprietários, como o uso do pré dipping, pós dipping e manejo de pastagem, que afeta diretamente no tratamento podendo ter havido reinfecções em animais saudáveis.

PALAVRAS-CHAVE: Diagnóstico clínico, gás ozônio, mamite, tratamento.

TREATMENT OF CLINICAL AND SUBCLINICAL MASTITIS IN MILK COWS WITH INTRA-BREAST GAS OZONE

ABSTRACT: Mastitis, which in its definition is that an inflammatory process of the mammary gland characterized by a considered drop in production and changes in the composition of milk is a pathology of high economic loss for dairy cattle in Brazil and in the world as a whole. It is a disease that affects domestic producers of different levels of production, thus bringing characteristics of great impact to milk production, before and during treatment, since animals show a drop in

production in addition to the expenses that the producer has for treatment. of these animals and disposal of milk produced during the treatment period of these animals. Based on this information, the present study aimed at characterizing the effectiveness of the treatment of dairy cattle of different breeds considered positive for clinical and subclinical mastitis by means of the black background and hair tests. California Mastitis Test (CMT) using ozone gas applied intramammary. It can be concluded with the data obtained that more studies are needed to affirm the efficiency of the treatment. The treatment itself may undergo changes in its dosages and concentration of ozone gas. Another essential point would be the change in behaviors carried out by the owners, such as the use of pre dipping, post dipping and pasture management, which directly affects the treatment and there may have been reinfections in healthy animals.

KEYWORDS: Clinical diagnosis, ozone gas, mamitis, treatment.

1 | INTRODUÇÃO

As mudanças do mundo são eminentes, a maioria dos produtores, grandes ou pequenos, estão cientes, sendo um tema muito difuso na sociedade moderna, estando a uma velocidade de informação que força as pessoas a se organizarem e elaborar novos métodos. No meio do setor rural é efetiva que a realidade não seja diferente, sendo de enfoque prioritário a esfera de produção leiteira. Milkpoint (2017) apresenta os seguintes dados de produção de leite no Brasil no ano de 2017: foram produzidos 14.484 milhões de litros no ano de 1990, em 2016 a produção atingiu o marco de 33.265 milhões de litros de leite. Segundo os dados retirados da Embrapa Gado de Leite (CNPGL, 2002), o Brasil já apresentava mais de um milhão e cem mil propriedades de exploração leiteira, ocupando diretamente 3,6 milhões de pessoas; sendo então o agronegócio do leite responsável por 40% dos postos de trabalho no meio rural no ano de 2002.

Sobre a utilização de gás ozônio, estudos remetem que durante a Primeira Guerra Mundial, em 1840, o alemão Friedrich Christian Schönbein, foi o descobridor do gás ozônio (O_3), desde então a utilização desse gás tem se tornado mais rotineiro no tratamento de enfermidades, tanto em seres humanos e animais de produção e domésticos. O gás que naturalmente se encontra em nossa atmosfera e possui características próprias como odor perceptível, principalmente após temporais e em elevadas altitudes ou próximo ao mar (BOCCI, 2011). Para que ocorra a elaboração do gás é necessário a utilização de um gerador de ozônio certificado pela ANVISA e um cilindro de oxigênio medicinal. A partir dessa combinação de equipamentos e oxigênio medicinal, pode-se obter o gás ozônio próprio para a finalidade medicinal.

A performance da máquina, ocorre com a entrada de oxigênio (O_2) por meio de um cilindro de oxigênio medicinal conectado ao aparelho, onde haverá um descarga elétrica que irá destruir a molécula original transformando em duas moléculas de

oxigênio (O), que irão se juntar a uma nova e originar o O₃.

As moléculas do ozônio apresentam ação fungicida, algicida, viricida e bactericida podendo ser usada no tratamento de diversas enfermidades. Outras substâncias não se mostram capaz de combater e reduzir patógenos como o gás ozônio (CARDOSO, 2009). O O₃ se mostra com alta capacidade de penetração tecidual melhorando a circulação e a oxigenação, diminuindo a agregação plaquetária, atua como agente antálgico e ajuda as respostas imunológicas através do sistema reticulo endotelial (MATOS NETO et al., 2012).

A terapia com ozônio é uma terapia complementar, não uma terapia alternativa. Terapia de ozônio é uma terapia adjuvante e deve ser realizada junto com e não em vez do alopático medicamento. Compreender a diferença entre complementar e alternativa é fundamental para o praticante de terapia de ozônio. A aplicação da terapia de ozônio complementa outros tratamentos alopáticos, tais como intervenções farmacêuticas e procedimentos cirúrgicos e não os substituir como uma alternativa (SCHAWARTZ, 2020).

A mastite bovina é uma das doenças mais frequentes em áreas de pecuária no mundo, sendo também, uma das que mais levam o produtor a acarretarem perdas econômicas (SARGEANT et al., 2001). A importância econômica causada pela enfermidade prejudica toda a produção do leite (NIELEN et al., 1992). Grande parte das perdas é ligada a gastos com tratamentos dos animais, leite descartado, comprometimento da lactação futura, dentre outros (MILNER et al., 1996). A doença também é considerada o maior desafio para as indústrias leiteiras devido à perda econômica do produto (BRADLEY, 2002); apesar de suas profiláticas serem desenvolvidas para seu controle (PYORALA, 2002).

O objetivo da pesquisa foi acompanhar de forma prática o tratamento das vacas identificadas com mastite clínica e subclínica com gás ozônio e observar as respostas clínicas dos animais frente ao tratamento, permitindo assim avaliar a funcionalidade do método em uma propriedade rural.

2 I UTILIZAÇÃO DE GÁS OZÔNIO PARA O TRATAMENTO DE MASTITE EM BOVINOS LEITEIROS

O rebanho bovino utilizado foi 36 animais fêmeas em diferentes períodos de lactação, das raças holandesas pretas e brancas (HPB), girolanda e animais ½ sangue Jersey X ½ sangue HPB (Jersolanda) de diferentes idades, que pertenciam a uma propriedade rural localizada no interior do Estado de São Paulo. A propriedade, além da produção extensiva de leite também possuía criação de galinha poedeiras e peixes.

Nesta propriedade os animais eram criados de forma extensiva, sendo conduzidos para a ordenha mecânica do tipo balde ao pé duas vezes ao dia. No

momento da ordenha, eram oferecidos aos animais volumoso de silagem de cana de açúcar e concentrado produzido pela própria propriedade rural (Figura 1).

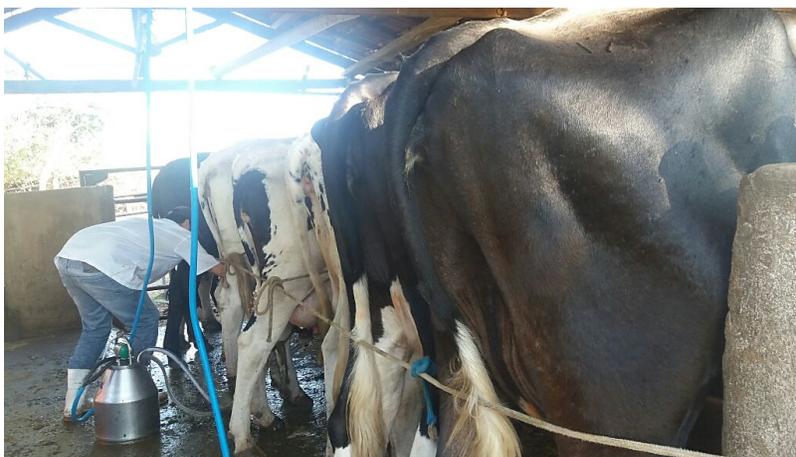


Figura 1: Imagem demonstrativa do rebanho utilizado para a execução da pesquisa, no momento da realização da ordenha dos animais.

Fonte: autores (2017).

Para a introdução dos animais no estudo, foram utilizados como teste de triagem o *California Mastitis Test* (CMT) e o teste da caneca de fundo escuro, permitindo assim uma observação dos animais que poderiam estar positivos para mastite subclínica e clínica.

Nos animais considerados positivos, utilizou-se a aplicação do gás ozônio (O_3) por via intra mamária. O ozônio utilizado era obtido de um gerador de ozônio, cilindro de oxigênio medicinal, seringa de 20 ml e de 60 ml e canalículos.

Para as aplicações iniciais foram utilizados de 40 ml de gás em cada teto com concentração de $35\mu g/ml$, e após observação da resposta dos animais ao tratamento foram utilizados nas aplicações subsequentes 50 ml e 60 ml de gás em cada teto com a mesma concentração inicial (Figura 2).



Figura 2: Imagem demonstrativa da aplicação do gás ozônio em quarto de teto positivo para mastite em teste da caneca de fundo escuro e CMT.

Fonte: autores (2017).

Para a obtenção da concentração de gás utilizada, foi-se posicionado a válvula do cilindro de oxigênio foi em $\frac{1}{4}$ (0,25), sendo redirecionado para a máquina com a concentração em sete de dez. O gás ozônio era captado na seringa acoplada na saída do gerador, e deixando com que a pressão do gás, se acomodasse na seringa. Para facilitar a aplicação do gás ozônio no teto acometido, colocava-se um canalículo na ponta da seringa, facilitando a entrada do gás. Após a aplicação, para que o gás não saísse do teto, massageava o teto por alguns segundos.

Optou-se pela aplicação do gás ozônio com seringas descartáveis de marca apropriada para o procedimento pois o manejo dos animais era delicado já que a estrutura física da propriedade não permitia uma contenção adequada dos animais e desse modo, essa metodologia foi aplicada para que não acontecesse acidentes com o equipamento e com os animais.

Na primeira parte do projeto identificaram-se as vacas lactantes com a presença de mastite. Na primeira visita, acompanhou-se o processo de ordenha dos animais, onde foi coletada amostras de leite para a realização dos testes de caneca

de fundo escuro e CMT permitindo a identificação dos animais doentes e os quartos acometidos. Nas visitas posteriores, foram acompanhadas o manejo dos animais, o ordenha, as coletas e o tratamento dos animais.

No primeiro dia de visita na propriedade, 40 animais foram analisados, mas somente 36 animais puderam participar do projeto. Os animais então foram submetidos aos testes de caneca do fundo escuro e CMT. Após essa primeira análise, obteve-se o número de animais positivos tanto no primeiro dia (Gráfico 1 e 2) como nos demais.

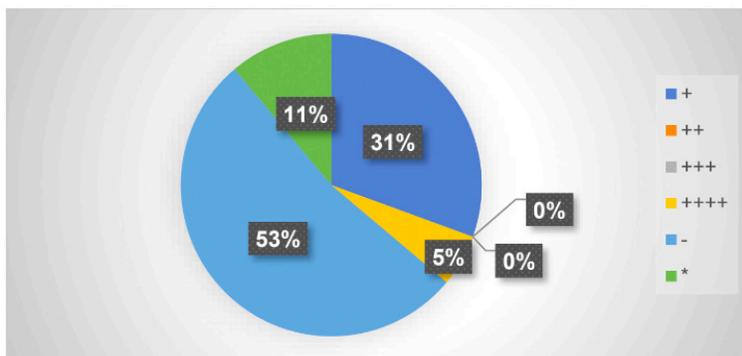


Gráfico 1: Dados referentes a primeira visita, sem o uso do tratamento de O_3 , sendo os animais testados com a caneca do fundo escuro; (-) negativa para mastite; (+) presença franca de mastite; (++) presença mediada de mastite; (+++) presença forte de mastite; (++++) presença muito forte de mastite; * representa dados não coletados.

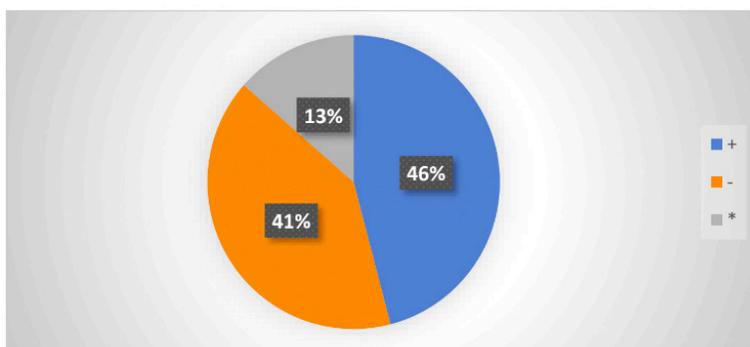


Gráfico 2: : Dados referentes a primeira visita, sem o uso do tratamento de O sendo os animais testados pelo CMT; (-) negativa para mastite; (+) presença de mastite; (*) representa dados não coletados.

Após acertos com o andamento da rotina na propriedade, optou-se pelo acompanhamento da primeira ordenha que era realizada por volta das 5 horas da

manhã e acertou-se o início das atividades no dia 11 de outubro de 2017 para a identificação dos animais e no dia 20 de outubro de 2017 iniciaram-se as aplicações de gás ozônio nos animais (Tabela 1).

Datas	Animais positivos		Total de animais
	Caneca do fundo escuro	CMT	
11/10/2017	13	17	36
20/10/2017	12	17	36
25/10/2017	13	18	36
01/11/2017	10	18	36
09/11/2017	9	17	36
15/11/2017	8	16	36
22/11/2017	11	17	36

Tabela 1: Dados obtidos com a realização dos testes dos animais pelo teste da caneca de fundo escuro e CMT antes e após a realização da aplicação do gás ozônio intramamário nos animais que foram positivos ao teste.

No segundo dia de coletas, mais uma vez foram realizados os testes de caneca do fundo escuro e CMT para análise dos animais e iniciou-se a aplicação do gás ozônio nos tetos dos animais acometidos. Optou-se por realizar testes semanais para acompanhamento da respostas dos animais frente ao novo manejo e tratamento, além da verificação da resposta que os animais apresentavam durante o tratamento.

Semana após semana, realizavam-se visitas a propriedade rural onde acompanhava-se mais uma rodada de coletas e aplicações de gás ozônio nos animais que ainda apresentavam quadros de mastite. Foram realizadas sete visitas à propriedade com seis aplicações de gás ozônio nos animais positivos.

Após o término da aplicação do gás ozônio nos animais, pode-se avaliar vacas que ainda permaneceram positivas para mastite. Porém, ao se analisar os quartos mamários individuais durante o tratamento pode-se constatar que vários animais apresentaram uma diminuição dos quartos acometidos e desse modo observou-se uma importante melhora para os animais (Gráficos 3 e 4).

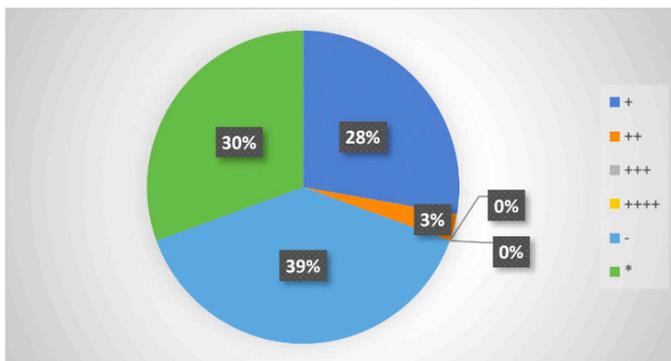


Gráfico 3: Dados referentes aos testes da caneca do fundo escuro realizados no sexto dia do tratamento com gás ozônio; (-) negativa para mastite; (+) presença franca de mastite; (++) presença mediada de mastite; (+++) presença forte de mastite; (++++) presença muito forte de mastite; (*) representa dados não coletados.

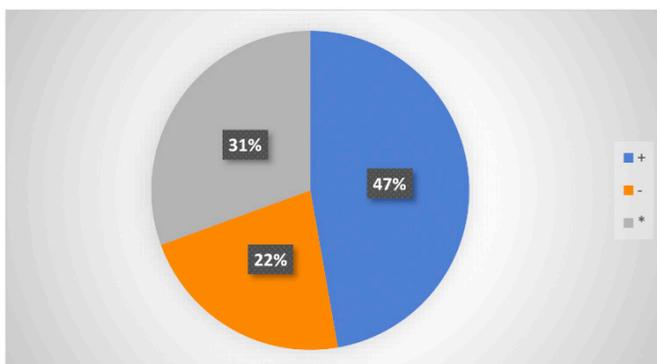


Gráfico 4: Dados referentes ao CMT realizados no sexto dia do tratamento com gás ozônio; (-) negativa para mastite; (+) presença de mastite; (*) representa dados não coletados.

Outra informação relevante ao estudo é que devido a agressividade de alguns animais que não deixavam a introdução adequada do canalículo intramamário, em raros momentos não se pode concluir que a aplicação da quantidade exata de ozônio e com isso pode-se ter um impacto na resposta do animal já que o gás ozônio pode não ter sido aplicado de forma adequada, sendo esse um ponto relevante para outros estudos que podem ser realizados sobre o tema.

A utilização do gás ozônio para tratamentos tanto na medicina humana como na medicina veterinária ainda passa por etapas de padronização da técnica. Por conta disso, outros trabalhos comparativos ainda são escassos na área até para a discussão do assunto como para a comparação da concentração do gás do ozônio para a técnica em si.

3 | CONCLUSÃO

Pode-se concluir com os dados obtidos que, serão necessários mais estudos para afirmar a eficiência do tratamento.

Após esse estudo, concluiu-se que o procedimento se mostrou interessante para o tratamento da mastite clínica e subclínica em bovinos leiteiros, porém alguns ajustes na técnica deveriam ser utilizados em novas pesquisas. Pode-se dar como sugestão a adequação na concentração do gás ozônio, a diminuição do tempo entre as aplicações, a forma da administração do gás ozônio nos tetos dos animais.

O tratamento em si está susceptível a inúmeros contratempos como: alterações de dosagens de gás ozônio, inexperiência na manipulação do equipamento, falta de treinamento no profissional que poderá utilizar a técnica, porém podem ocorrer erros também na conduta da propriedade rural que podem afetar diretamente no tratamento permitindo assim reinfecções nos animais, tais como: ausência do uso do pré e dipping, manejo inadequado dos animais e das pastagens, falta de higiene no manuseio dos equipamentos destinados aos animais

REFERÊNCIAS

BRADLEY, A. J. **Bovine mastitis: an evolving disease**. Veterinary Journal, London, v. 164, n. 2, p. 116-128, 2002.

BOCCI, V. **Ozone. A new medical drug**. 2. ed. Siena: Springer, 2011. 132 p.

CARDOSO, R. F. **Avaliação do perfil antimicrobiano do gás ozônio**. International Ozone Association, São Paulo, 2009.

MATOS NETO, A.; TIBURCIO, M.; OLIVEIRA, M. S. **O uso do ozônio no tratamento de ferida incisa, suja contaminada e profunda (relato de caso)**. In: ABRAVEQ, 2012, Campinas: +Equina, 2012.

MILKPOINT. **Produção brasileira de leite**. 2017. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/estatisticas/>>. Acesso em: 16 janeiro 2018.

MILNER, P.; PAGE, K. L.; WALTON, A. W.; HILLERTON, J. E. **Detection of clinical mastitis by changes in electrical conductivity of foremilk before visible changes in milk**. Journal of Dairy Science, Lawrence, v. 79, p. 79-83, 1996.

NIELEN, M.; DELUYKER, H.; SCHUKKEN, Y. H.; BRAND, A. **Electrical conductivity of milk: measurement, modifiers and meta analysis of mastitis detection performance**. Journal of Dairy Science, Lawrence, v. 75, p. 606-614, 1992.

PYORALA, S. **New strategies to prevent mastitis**. Reproduction in Domestic Animals, Berlin, v. 37, n. 4, p. 211-216, 2002

SARGEANT, J. M.; LESLIE, K. E.; SHIRLEY, J. E.; PULKRABEK, B. J.; LIM, G. H. **Sensitivity and specificity of somatic cell count and california mastitis test for identifying intramammary infection in early lactation.** Journal of Dairy Science, Lawrence, v. 84, n. 9, p. 2018-2024, 2001.

SCHWARTZ, A.; SÁNCHEZ, G. M.; SABBAH, F.; AVILÉS, M. H. **Madrid declaration on ozone therapy,** ISCO3, 3 ed, 2020.

TREATMENT OF CANINE OSTEOSARCOMA USING AUTOLOGOUS ACTIVE IMMUNOTHERAPY WITH OR WITHOUT SURGERY

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão : 17/09/2020

Patrick Frayssinet

Urodelia, Rte de St Thomas, 31470 St Lys,
France

Didier Mathon

Unité de Recherche Clinique, Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse, Chemin des Capelles,
31400 Toulouse, France

Michel Simonet

Clinique des côtes de Nuit, Rte de Dijon, 29
Nuit St Georges, France

Jean Louis Trouillet

Clinique Vétérinaire, Rue François Couperin,
Castres, France

Valérie Mathon

Clinique vétérinaire de La Battière, Rte de
Toulouse, Plaisance du Touch, France

Nicole Rouquet

Urodelia, Rte de St Thomas, 31470 St Lys,
France

ABSTRACT: Canine osteosarcoma is a disease having a very poor short term prognosis and is a good model for the study of the human disease. It was demonstrated that both in the human and canine disease heat shock proteins (HSPs) were synthesized by the cancer cells. These molecules are chaperone molecules for the cell peptides and also are involved in their associated peptide

presentation to the lymphocytes. We developed a method for immune system stimulation based on the purification of intratumoral autologous heat shock proteins (HSPs) which are then re injected in the subcutaneous tissue with a phosphocalcic particulate adjuvant. We tested this method on 12 dogs and the overall survival (OS) and progression free survival (PFS) were measured. Two groups can be differentiated. A long survival group (n=7) and a short survival group (n=3) in which two dogs were killed for pain while their overall conditions was good. In the long survival group, three dogs were amputated and showed a longer OS than non amputated. No secondary effect was observed following the injections. The OS and PFS were greatly improved compared to the data given in the literature in the long survival group. In conclusions, these results suggest that this protocol could be of interest in human medicine associated to classical radio and chemotherapy.

KEYWORDS: Osteosarcoma, immunotherapy, vaccine.

TRATAMENTO DO OSTEOSARCOMA CANINO COM IMUNOTERAPIA AUTÓLOGA ATIVA COM OU SEM CIRURGIA

RESUMO : O osteossarcoma canino é uma doença com um prognóstico de curto prazo muito ruim e é um bom modelo para doença humana. Em humanos e cães, as proteínas de choque térmico (HSPs) são sintetizadas por células cancerosas. Essas moléculas, além do papel de chaperonas de peptídeos celulares, desempenham um papel importante na apresentação de antígenos às

células imunocompetentes. Desenvolvemos um método de estimulação do sistema imunológico contra células tumorais por purificação de proteínas autólogas de choque térmico intratumoral e sua administração subcutânea acompanhada por adjuvante fosfocálcico. Testamos este método em uma série de 12 cães com osteossarcomas para os quais a sobrevida global (OS), bem como a sobrevida livre de progressão da doença (PFS) foram medidas. Dois cães se perderam de vista. Nos 10 cães restantes, dois grupos foram individualizados. Um grupo (n = 7) com vida longa e outro (n = 3) com vida curta, no qual dois cães foram sacrificados por um problema de dor quando seu estado geral não justificava a eutanásia. No grupo de cães com longa sobrevida, 3 foram amputados e tiveram uma sobrevida maior do que aqueles sem amputação. Nenhum efeito colateral foi observado em nenhum dos cães. Portanto, parece que esses dois parâmetros foram significativamente aumentados em comparação com os dados da literatura no grupo de sobrevida longa. Em conclusão, esses resultados sugerem que esta técnica de estimulação do sistema imunológico pode ser de interesse em humanos associada ao tratamento quimio / radioterápico.

PALAVRAS-CHAVE: Osteossarcoma, imunoterapia, vacina.

1 | INTRODUCTION

In human medicine, osteosarcoma is the most common, although rare, primary bone tumor. It still has a poor prognosis despite the improvement made in recent years by chemotherapy combined with major surgery. This pathology is all the more worrying as it affects a young population. Canine osteosarcoma shares many points in common with humans and can thus constitute an interesting model. Clinically its presentation and its evolution in particular its capacity to produce metastases are very similar, biologically many alterations of certain cell signaling pathways are found in both cases as well as the overexpression of certain oncogenes [1].

From a veterinary perspective, most dogs are seen at an advanced stage that is already metastatic or micrometastatic, and in daily veterinary practice very few animals undergo chemotherapy. The treatment of choice remains amputation which somewhat improves the prognosis since the median survival of amputated dogs is 5 months [2]. The histological classification makes it possible to distinguish 4 stages of increasing aggressiveness. The overall survival of the dog if the pain does not justify euthanasia remains from a few days to a few weeks [3] without specific treatment.

In recent years, numerous teams have developed techniques for stimulating the immune system in order to fight specifically against tumor cells with few side effects, in particular by preserving rapidly renewing cells which are the preferred target of chemotherapy treatments [4]. Various techniques for activating the immune system have been developed and can be grouped into 2 broad categories.

Passive immunotherapy is widely used today. It uses monoclonal antibodies whether or not associated with immunotoxins or radioelements to destroy the target

cell. These monoclonal antibodies, when not associated with any molecule or toxic element, can be used to block a receptor or an informative molecule such as anti-VEGFs that limit tumor vascularization [5, 6]. There are also techniques using non-specific stimulants such as GM-CSF [7, 8], Il-2 [9], and BCG [10].

On the contrary, active immunotherapy aims to stimulate the patient's immune system and in particular his cellular immunity (CD8) against antigens of tumor cells. Activation of CD8 T lymphocytes against tumor cells takes place through the stimulation and maturation of antigen presenting cells (APCs), mainly macrophages and dendritic cells which will shape tumor antigens and express them on the cell surface associated to MHC class I proteins to present them to CD8s [11, 12]. Stimulation of autologous dendritic cells *in vitro* by tumor antigens followed by their reinjection has been widely used for various types of tumors with varying results [13, 14]. The collection and *in vitro* amplification of T lymphocytes infiltrated into tumors can also be considered for osteosarcomas [15] as well as the injection of NK cells which have the capacity to fight tumor cells without being «educated».

It is known that tumor cells are extremely genetically unstable cells which synthesize many abnormal proteins, several dozens to several hundred. The genetic instability of the cancer cell means that this late abnormal proteins are not the same throughout the course of the tumor and they differ from patient to patient [16, 17]. There are, however, proteins that are abnormal or that are not normally expressed in the cell line from which the cancer cell is derived, which are found almost systematically in a particular pathology. These latter proteins have made it possible to imagine therapeutic monoprotein vaccines that have given poor results in reason of the constant cell mutation.

Vaccines with many antigenic patterns appear to be more interesting because they provide many elements of cellular identity and the recognition of tumor cells by CD8 is less sensitive to point mutations. We have developed a process for the preparation of therapeutic vaccines containing numerous antigenic motifs by isolating stress proteins from osteosarcomas. Gp96 and Hsp70 are indeed found in large quantities in tumor cells, probably due to the cellular suffering induced by the abnormal metabolism of these cells [18]. These are chaperone molecules which are therefore associated with almost all the peptides synthesized by the cell [19, 20, 21, 22]. They are also involved in the presentation of these peptides associated with the surface of APCs and thus participate in monitoring the immune survey of any cell transformation by the immune system. In both dogs and humans, transformed osteosarcoma cells have been shown to produce these proteins in large quantities regardless of the histological type [23, 24, 25].

We selected a series of 12 dogs consulting for appendicular or flat bone osteosarcoma. The stress proteins have been isolated in order to constitute

autologous vaccines. They are purified by adsorption on columns containing micro / nanoparticles of calcium phosphates which are then injected into the same animal to stimulate the immune system. The aim of this study was to investigate the feasibility of the protocol in veterinary practice, to assess the absence of side effects as well as overall survival and the period of absence of disease progression. This study also provides a model of immune stimulation against a solid tumor that can be used in human medicine.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 Animals treated

The dogs were selected after a consultation motivated by lameness and / or swelling having led to a X rays exploration showing an image of bone proliferation associated with lysis. The inclusion criteria are a general condition preserved suggesting a survival of more than 5 weeks, a count formula within the normal limits, refusal of chemotherapy treatment by the owner, owner able to monitor his dog and bring him back on a fixed date, and signing an informed consent.

A regional extension assessment to search for lymphadenopathy is implemented and a chest x-ray is systematically performed at the first visit. At each visit for an injection of a dose of immunotherapy, the size of the inflammatory area is assessed and noted. An extension assessment is done if clinical signs appear. The animals all received nonsteroidal anti-inflammatory drugs and non-morphine analgesics on demand. Three dogs were amputated at the request of the owner before the beginning of the vaccine protocol without reconstructive surgery or devices.

The progression free survival time (PFS progression free survival) is taken from the date of the first vaccine to a sign of disease progression (tumor growth, metastasis or fracture). A complete response was defined as a disappearance of clinical signs for at least 4 weeks, a partial response as a reduction in the perpendicular diameters of the lesions by more than 50% for 4 weeks, a minor response as a reduction in these same diameters between 25 and 50%, stable disease such as less than 25% reduction without onset of metastasis and progression such as onset of metastasis or growth of diameters greater than 25%

2.2 Dose preparation

Under general anesthesia, a tumor biopsy is taken with a cortical to cortical Michelet trephine. A fragment of the sample is fixed in a formaldehyde solution and sent to the pathological anatomy laboratory. The rest (about 0.5 cm³) is sterilized in a dry tube and frozen at -18 ° C.

After the histological diagnosis is made, the frozen fragment is ground in a ball homogenizer (Setis, France), the ground material is diluted in 2 cm³ of NaHCO₃ (30 mM) and centrifuged at 5000 g to remove cell debris. The supernatant is diluted to 50% with a supersaturated sodium nitrate solution, centrifuged at 5000 g. The supernatant is removed, the protein pellet resuspended in a 20 mM phosphate buffer solution, pH 6.8. The solution is then passed through a column containing 200 mg of calcium hydroxyapatite powder. The column is washed with 10 ml of 50 mM phosphate buffer, Ph 6.8. The powder is then suspended in a solution of 2% carboxymethylcellulose in 20 mM phosphate buffer, pH 6.8 and distributed so as to represent a volume of 0.5 ml per dose in 1 ml syringes.

The doses are injected subcutaneously at a frequency of 1 per week for 4 weeks then once per month for 4 months.

2.3 Dose control

Electrophoresis and Western blotting as well as a dot blot are performed for each tumor.

The electrophoresis is performed on NuPage gels (in vitroGen, France) according to the manufacturer's recommendations (InvitroGen, France). Briefly, the powder residues in the chromatography column are washed in 0.5 ml of 0.5M NaCl. 20 µl are mixed with 10 µl of detergent and 5 µl of reducing agent (in vitroGen, France). 10 µl of this solution are introduced into the wells of the gel and passed through a 200 V field at 120 mA for 30 min. The gels are stained with silver nitrate.

Dot blot: 10 µl of the vaccine solution are applied to a nitrocellulose membrane and left to dry in the open air. Once dry, the membrane is washed with a blocking solution (1% BSA in PBS) then with a solution of Tris buffer (pH 7.4) containing 0.5% of detergent Tween 20. The membrane is then incubated with primary antibody one hour at room temperature (anti-gp96, anti-HSP70, stressgen-US) before being washed in the same buffer. The membrane is incubated for 30 minutes with the secondary antibody labeled with an alkaline phosphatase and then washed with the buffer before adding a developer for alkaline phosphatase.

2.4 Binding of vaccine proteins on cd91

The RAW264 (ATCC) cell line is characterized by the presence of a large number of cd91 receptors on the surface of the cell membrane, these receptors being specific for gp96 and hsp70. For each animal, the vaccine proteins are associated with a peroxidase and RAW264 cells are cultured in the presence of the labeled proteins after having the membrane cd91 blocked or not by an anti cd91 antibody (invitroGen). The cells are cultured in 25cm² culture dishes (Falcon, France) in a culture medium of DMEM type supplemented with glutamine (Sigma, France) and with 5% fetal calf serum (Sigma, France). They are incubated at 37 °

C, in an atmosphere of 98% humidity and 5% CO₂. When they reach 70% of their confluence, the cells are washed in PBS and fixed in ethanol. The labeled proteins are incubated overnight with the cells. The blocking of cd91 is done by incubating the cells for two hours in an antibody solution diluted 1/1000 in a blocking solution (immunocruz, US). In order to be used to label the cells, the vaccine proteins are desorbed from the powders with 0.5M NaCl solution. They are then associated with a biotin using the kit ((Pierce Biotechnology kit, EZ-linkTM sulfo-NHS-Biotinylation kit –thermo scientific) following the manufacturer’s instructions. Biotin then reacts with a peroxidase associated with a streptavidin. Peroxidase is then demonstrated by a solution composed of diaminobenzidine (DAB) (0.05% DAB, 0.015% H₂O₂, 0.01M PBS, pH 7.2) maintained for less than five minutes in contact with the cells. The labeling is visible in the form of a coloration brown cells.

3 I RESULTS

8 dogs were euthanized for reasons related to the tumor (pain, change in tumor size, deterioration in general condition, convulsions), 1 for unrelated reasons and 1 is still alive when the paper was written, 2 were lost to follow-up. Three dogs had 2 to 4 cycles of vaccinations (Table 1). Dogs can be divided into two groups; a long survival group (n = 7, greater than 150 days) and a short survival group (n = 3, less than 150 days). In the latter group, two out of three dogs were euthanized at the owners’ request for a pain problem not controlled by analgesics and non-steroidal anti-inflammatory drugs. In this group, euthanasia generally takes place within 45 days of treatment. which does not allow an immune reaction time to have an effect on the tumor.

dog	response			Death cause	side effects	Associated treatment	Vaccination number of cycles	stage
	Minor tumoral regression	OS	PFS					
ost1	yes	310	310	linked (convulsion)	0	analgesic	2	T1N1M0
ost2	n.a.	410	380	linked	0	amputation	1	T2N0M0
ost3	Yes	455	420	linked (dystrophy)	0	analgesic	2	T2N0M0
ost4	Yes	170	170	not linked	0	analgesic	1	T2N0M0
ost5	n.a.	210	200	Linked	0	amputation	1	T2N0M0
ost6	Yes	150	150	Linked	0	analgesic	1	T2N0M0
ost7	No	45	45	linked (pain)	0	analgesic	1	T2N1M0
ost8	n.a.	1015	1015	Not linked (embolism)	0	amputation	4	T2N0M0

ost9	Yes	45	0	linked (pain)	0	analgesic	1	T2N0M0
ost10	No	20	0	linked (convulsion)	0	analgesic	1	T2N1M1
ost11						analgesic	1	T2N1M1
ost12				Lost sight		analgesic	1	T2N1M0

Table 1: characteristics of the treatment of the dogs included in the study and evolution of the parameters measured, OS (overall survival) and PFS (progression free survival - survival without increase in tumor volume)

All biopsies contained both gp96 and HSP 70. Few bands are detected by electrophoresis, and they are located in the 90,000 and 70,000 dalton regions (Fig. 1). On the other hand, the dot blots show a significant presence of gp96 and HSP70 on the surface of the HA beads (fig. 2).

Vaccine proteins labeled with peroxidase bind to RAW264 cells and binding was inhibited by anti gp91 (fig. 3).

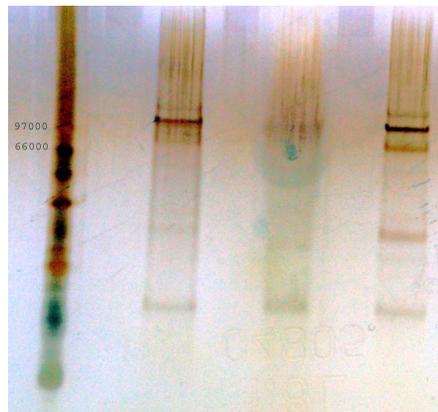


Figure 1 : SDS Page of proteins (dog ost3, fourth column) detached from hydroxyapatite powders by washing in NaCl solutions (0.5M). We see two well-individualized bands at 97 and 70,000 kDa. First column is protein ladder

The average survival of the dogs of the first group (long survival) is 270 days, the median is 260 days. The mean and median of PFS were very close, 260 and 250 days respectively.

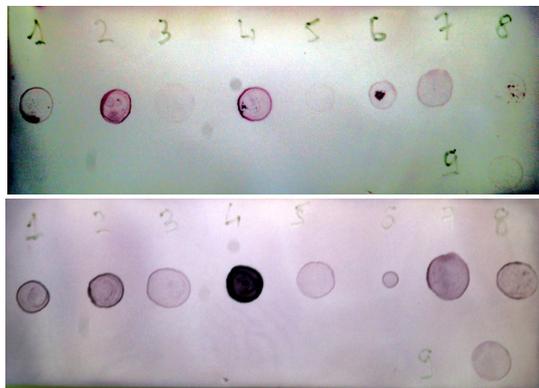


Figure 2 : dot blot of the solutions extracted from powders injected at ost9 and 10 (blots 1 and 2) marked with anti gp96 (top band) and anti HSP70 (bottom band).

Amputated dogs had an overall survival of 531 days while that of non-amputated dogs is 270 days, which was significant ($p > 0.005$).

All dogs had a stable tumor size (SD) throughout their survival. There was an improvement in the inflammatory state of the tumor site after each injection. Two dogs for which survival was particularly long underwent a second round of vaccination.

Radiologically, the first stages (less than 2 months) of the vaccination are followed by remodeling of the tumor site with periosteal bone formation and densification of the osteolysis zone (Fig. 4).

It should be noted that all long-surviving dogs maintained good general condition with no change in weight for most of their survival.

4 | DISCUSSION

In the long survival group, the results show a much better survival than what is published without treatment or by simple amputation. From a study on 400,000 dogs whose files were extracted from the file of a Swedish insurance company [26], it was shown that the average survival of dogs diagnosed with osteosarcoma is 56 days (table 2). Spotnick et al. [27], from 162 dogs treated by amputation, showed an average survival of 134 days. Lane et al [28] obtained a median survival of 231 days and a progression-free survival of 247 days from 33 amputated dogs and receiving chemotherapy combining doxorubicin and carboplatin. Recently, chemotherapeutic protocols combining amputation and carboplatin or doxorubicin have been published and show an improvement in survival compared to control groups with a median at 307 and 240 days respectively [29, 30]. The combination of the two molecules does not improve the prognosis [31].

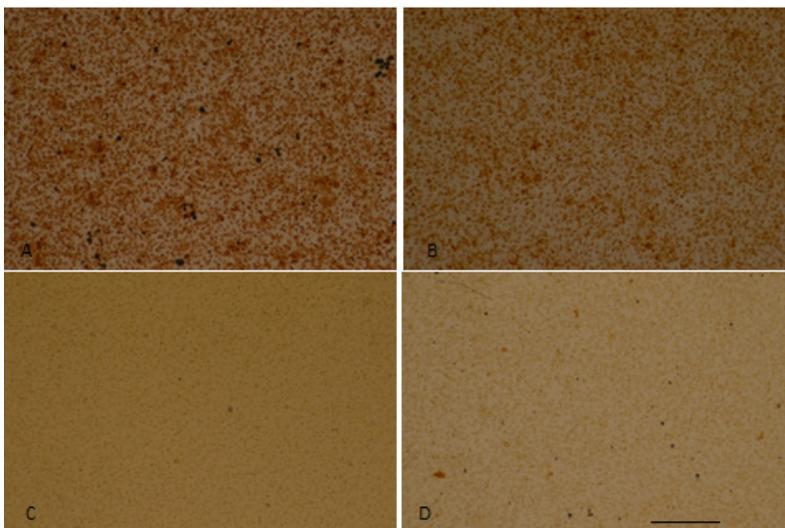


Fig.3 : labeling of the cells with the vaccine proteins associated with a peroxidase before (A) and after (B) the blocking of cd91. Labeling controlled by gp96 before (C) and after (D) blocking of these same receptors. This labeling shows that at least some of the vaccine proteins bind to the cd91 receptors.. bar : 150 μ m

The binding of certain vaccine proteins to CD91 shows that the injected doses contained active HSPs, more especially gp 96 and HSP70, since CD91 are specific receptors for these proteins. Protein binding to CD91 can be a test for vaccine activity that can be combined with an elispot-type CD8 stimulation test.

The effect of the injections on the inflammation of the tumor site is relatively reproducible. Nevertheless, at least in 2 cases of non-amputated dogs, pain motivated the request for euthanasia of the animal by its owners very early when the general and local condition did not justify it. Pain control is therefore a very sensitive parameter in non-amputated dogs.

Various techniques can be used *in vitro* to demonstrate the stimulation of CD8 by proteins, in oncology they are not necessarily representative of the effectiveness of vaccination [32]. We have shown that this therapeutic vaccination technique used in Balb / c mice to immunize them against 4T1 tumor cells cross-prime their CD8 against these cells. The latter synthesize IFN γ when brought into contact *in vitro* with antigen-presenting cells stimulated *in vivo* by the vaccine.

The decrease in tumor volume in non-amputated dogs and after injection of the vaccines from the third injection for a period of about twenty days led the veterinarians to carry out several cycles of vaccination when only planned one initially. No side effects have been demonstrated, in particular no unexplained fever, itching or neurological disturbances which could have indicated sensitization to

healthy tissue molecules.



Figure 4 : dog ost3. Radiological changes 170 days apart. There is significant ossification of the area of initial osteolysis

The purification of gp96 and HSP70 is relatively good, but there are contaminating protein bands at different molecular weights. It is therefore possible that proteins other than heat shock proteins are involved in building an immune response. The presence of gp96 and HSP70 is nevertheless constant. HSP70 is often a membrane protein [33] which is constitutional but which is removed in the purification procedure. There is a cytoplasmic HSP70 which is like gp96 expressed only during cellular stress [34]. The presence of these two stress proteins makes it possible to have in their associated molecules almost all the peptides synthesized by the cancer cell. In addition, these two proteins have a major role in the cross priming of CD8s. Gp96 even has a specific receptor (CD91) on dendritic cells. Srivastava's work has shown the benefits of using purified autologous gp96 in laboratory animals [35].

There are relatively few publications about the treatment of canine osteosarcomas by active immunotherapy. Much more experimentation has been done in the field of passive immunotherapy, in particular an autologous tumor vaccine whose cells express a GM-CSF transgene [36, 37]. Lung metastases from osteosarcoma have also been treated by injection of cationic liposomes containing DNA encoding IL-2 [38]. Similarly, sarcomas have been treated with injections of

irradiated xenogenic cells synthesizing GM-CSF and IL-2 mixed with a lysate of autologous or xenogeneic cells followed by injection of liposomes carrying genes of clFN –b and HSVtk and ganciclovir [39]. These various and complex cytokine treatments have shown an improvement in the prognosis.

Dog number	traitement	Médian	auteur	stage
162	amputation	134,4	Spodnick GJ et al, J Am Vet Med Assoc. 1992 Apr 1;200(7):995-9	Not given
90	0	3	Boston SE, J Am Vet Med Assoc. 2006 Jun 15;228(12):1905-8.	stade III
	radio/chimio	130		
	amputation	76		
	amputation/chimio	78		
764	0	56	Agneta Egenvalln, Can J Vet Res. 2007 October; 71(4): 292–299	Not given
33	amputation/chimio	247	Lane A, et al. Aust Vet J 2012 Mar;90(3):69-74	Not given
155	Amputation/ Chimio (carboplatine)	307	Philips et al. J Am Anim Hosp Assoc 45(1):33–38	Not given
303	Amputation/ Chimio (doxorubicyn)	240	Moore, AS et al. J Vet Intern Med 21(4):783– 790	Not given

Table 2 : median overall survival in days of published canine osteosarcomas series according to treatment

The complexity of these treatments nevertheless makes them difficult to apply. The treatment of osteosarcomas by immunotherapy by injection of a cytotoxic human T cell line (TALL 104) [40] has given results which appeared interesting with a median survival of 11.5 months but difficult to interpret due to co-treatments by amputation and chemotherapy. Recently Mata et al [41] developed chimeric antigen receptor (CAR) T cells against Her2 receptors in dog osteosarcoma cells. These cells have shown *in vitro* an ability to eliminate canine osteosarcoma cells. The purification of autologous proteins from a lysate seemed to us much simpler and hence less risky. To our knowledge, our publication is the first using an immunotherapy method without association with chemotherapy and even with an unamputated group without backup surgery. However, it seems that amputation before vaccination provides a significant improvement in animal survival.

For technical reasons, we were unable to provide proof of CD8 activation in each dog in this series. On the other hand, the decrease in tumor size observed after

injection from the third in dogs without amputation is in favor of such activation, as has been shown in mice.

HA particles have long been used in adsorption chromatography columns, they have also been used as vaccination adjuvants [42, 43]. When injected subcutaneously, it causes a foreign body reaction leading to an influx of antigen-presenting cells which participate in this adjuvant effect. Placed in the presence of monocytes in culture, they have a very marked activating effect on the inflammasome [44] and also participate in the maturation of dendritic cells with the expression of co-factors necessary for the cross-priming of CD8s (unpublished results) .

5 | CONCLUSIONS

Although this series is short, this method for immune system stimulation appears to improve the prognosis of canine osteosarcoma with or without amputation. We did not note any side effects in particular of an autoimmune nature. The improvement is most noticeable when the dogs are amputated. These results were obtained without associated chemotherapy. We can therefore expect that the combination of cytotoxic treatments during a therapeutic window preserving the immunity of the animal could amplify the improvement in overall survival

REFERENCES

- 1/ Mueller, F., Fuchs, B., Kaser-Hotz, B., Comparative biology of human and canine osteosarcoma. *Anticancer research* 27: 155-164, 2007
- 2/ Brissot, H., Bouvy, B., Ostéosarcome du chien et du chat. *Le point vétérinaire*, 36 : 116-122, 2005
- 3/ Egenvall, A., Nødtvedt, A., von Euler, H., Bone tumors in a population of 400 000 insured Swedish dogs up to 10 y of age: incidence and survival, *The Canadian Journal of Veterinary Research* 71:292–299, 2007
- 4/ Green, T.F., Jaffe, E.M.,. Cancer vaccines. *Journal of Clinical Oncology* 17 (3):1047-1060, 1999.
- 5/ Hueman, M.T., Dehqanzada, Z.A., Novak, T.E., Gurney, J.M., Woll, M.J., Ryan, G.B., Storrer, C.E., Fisher, C., McLeod, D.G., Ioannides, C.G., Ponniah, S., Peoples, G.E., Phase I Clinical Trial of a HER-2/neu Peptide (E75) Vaccine for the Prevention of Prostate-Specific Antigen Recurrence in High-Risk Prostate Cancer Patients, *Clin Cancer Res* 2005;11(20)
- 6/ Ferrara, N., Hillan, K.J., Gerber, H.-P., Novotny, W., Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nature Reviews Drug Discovery* 3, 391-400, 2004
- 7/ Dranoff G, GM-CSF-based cancer vaccines. *Immunol Rev*;188: 147-54, 2002

8/ Zarei, S., Schwenter, F., Luy, P., Aurrand-Lions, M., Morel, P., Kopf, M., Dranoff, G., Mach, N., Role of GM-CSF signaling in cell-based tumor immunization, *Blood*. 113:6658-6668, 2009

9/ Antony GK, Dudek AZ, Interleukin 2 in cancer therapy. *Curr Med Chem*. 17: 3297-302, 2010

10/ Lockyer, R.W., Gillat, D.A., BCG immunotherapy for superficial bladder cancer, *J R Soc Med*, 94:119-123, 2001.

11/ Oizumi, S., Strbo, N., Pahwa, S., Deyev, V., Podack, E.R., Molecular and cellular requirements for enhanced antigen cross-presentation to CD8 cytotoxic T lymphocytes. *The Journal of Immunology* 179:2310-2317, 2007.

12/ Catros-Quemener, V., Bouet, F., Genetet, N., Immunité antitumorale et thérapies cellulaires du cancer. *medecine/sciences* 19:43-53, 2003.

13/ Y. Akiyama, R. Tanosaki, N. Inoue, M. Shimada, Y. Hotate, A. Yamamoto, N. Yamazaki, I. Kawashima, I. Nukaya, K. Takesako, K. Maruyama, Y. Takaue, and K. Yamagushi. Clinical response in Japanese metastatic melanoma patients treated with peptide cocktail-pulsed dendritic cells. *Journal of Translational Medicine* 3:4-14, 2005.

14/ Okada,H.; Kohanbash,G.; Zhu,X.; Kasthuber,E.R.; Hoji,A.; Ueda,R.; Fujita,M. Immunotherapeutic approaches for glioma, *Crit Rev Immunol*, 29: 1-42 2009

15/Théoleyre,S.; Mori,K.; Cherrier,B.; Passuti,N.; Gouin,F.; Rédini,F.; Heymann,D. Phenotypic and functional analysis of lymphocytes infiltrating osteolytic tumors: use as possible therapeutic approach of osteosarcoma. *BMC Cancer* 5:123-133, 2005.

16/ Kaiser, J., A detailed genetic portrait of the deadliest human cancers. *Science* 321:1280-1281, 2008.

17/ Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P, Mankoo P, Carter H, Siu IM, Gallia GL, Olivari A, McLendon R, Rasheed BA, Keir S, Nikolskaya T, Nikolsky Y, Busam DA, Tekleab H, Diaz LA Jr, Hartigan J, Smith DR, Strausberg RL, Marie SK, Shinjo SM, Yan H, Riggins GJ, Bigner DD, Karchin R, Papadopoulos N, Parmigiani G, Vogelstein B, Velculescu VE, Kinzler KW, An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* ; 321(5897):1807-12, 2008.

18/Romanucci M, D'Amato G, Malatesta D, Bongiovanni L, Palmieri C, Ciccarelli A, Buracco P, Morello E, Maniscalco L, De Maria R, Martano M, Della Salda L. Heat shock protein expression in canine osteosarcoma. *Cell Stress Chaperones*. ;17:131-8, 2012.

19/ Arrigo, A-P , Chaperons moléculaires et repliement des protéines. L'exemple de certaines protéines de choc thermique. *medecine/sciences* 21:619-625, 2005.

20/ Ciocca, D.R., Calderwood, S.K., Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications *Cell Stress Chaperones*. 2005 June; 10(2): 86–103.

21/ Murshid A, Gong J, Calderwood SK, The role of heat shock proteins in antigen cross presentation, *Front Immunol*. ; 3:63 , 2012.

- 22/ Calderwood SK, Murshid A, Gong J, Heat shock proteins: conditional mediators of inflammation in tumor immunity. *Front Immunol.*;3:75, 2012
- 23/ Ozger H, Eralp L, Atalar AC, Toker B, Esberk Ates L, Sungur M, Bilgic B, Ayan I, The effect of resistance-related proteins on the prognosis and survival of patients with osteosarcoma: an immunohistochemical analysis. *Acta Orthop Traumatol Turc* 43:28–34, 2009
- 24/ Uozaki H, Ishida T, Kakiuchi C, Horiuchi H, Gotoh T, Iijima T, Imamura T, Machinami R (2000) Expression of heat shock proteins in osteosarcoma and its relationship to prognosis. *Pathol Res Pract* 196:665–673
- 25/ Trieb K, Lang S, Kotz R (2000) Heat-shock protein72 in human osteosarcoma: T-lymphocyte reactivity and cytotoxicity. *Pediatr Haematol Oncol* 17:355–364
- 26/ Egenvall, A., Nødtvedt, A., von Euler, H., Bone tumors in a population of 400 000 insured Swedish dogs up to 10 y of age: incidence and survival, *The Canadian Journal of Veterinary Research* 2007;71: 292–299.
- 27/ Spodnick GJ, Berg J, Rand WM, Schelling SH, Couto G, Harvey HJ, Henderson RA, MacEwen G, Mauldin N, McCaw DL, *J Am Vet Med Assoc.* 1992 Apr 1;200(7):995-9
- 28/ Lane A, Black M, Wyatt K, Toxicity and efficacy of a novel doxorubicin and carboplatin chemotherapy protocol for the treatment of canine appendicular osteosarcoma following limb amputation. *Aust Vet J.* 2012 Mar;90(3):69-74
- 29/ Phillips B, Powers BE, Dernel WS, Khanna, C, Hogge, GS, Vail, DM. Use of single-agent carboplatin as adjuvant or neoadjuvant therapy in conjunction with amputation for appendicular osteosarcoma in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 2009, 45: 33–38.
- 30/ Moore AS, Dernel WS, Ogilvie GK, Kristal O, Elmslie R, Kitchell B, Susaneck S, Rosenthal R, Klein MK, Obradovich J, Legendre A, Haddad T, Hahn K, Powers BE, Warren D (2007) Doxorubicin and BAY 12–9566 for the treatment of osteosarcoma in dogs: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Vet Intern Med* 21(4):783– 790 Morello E, M
- 31/ Selmic LE, Burton JH, Thamm DH, Withrow, SJ, Lana, SE, Comparison of carboplatin and doxorubicin-based chemotherapy protocols in 470 dogs after amputation for treatment of appendicular osteosarcoma. *J Vet Intern Med* 2014, 28: 554–563
- 32/ Wolchok, J.D.; Hoos, A.; O'Day, S.; Weber, J.S.; Hamid, O.; Lebbé, C.; Maio, M.; Blinder, M.; Bohnsack, O.; Nichol, G.; Humphrey, R.; Hodi, F.S., Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria, *Clin Cancer Res*, 15: 7412-7420, 2009
- 33/ Rujano, M.A., Kampinga, H.H., The HSP70 chaperone machine as guardian of the proteome: implications for protein misfolding diseases. In: Radons, J., Multhoff, G., (eds). *Heat Shock Proteins in Biology and Medicine*, 2006, pp: 61-85. Research Signpost, Kerala, India
- 34/ Tamura, Y., Torigoe, T., Sato, N., Extracellular heat shock proteins in immune response: a guide for cross presentation. In: Radons, J., Multhoff, G., (eds). *Heat Shock Proteins in Biology and Medicine*, 2006, pp: 119-130. Research Signpost, Kerala, India

- 35/ Srivastava, P.K., DeLeo, A.B., Old, L.J., Tumor rejection antigens of chemically induced sarcomas of inbred mice. *Proc Natl Acad Sci* 83:3407-3411, 1986.
- 36/ Liliana, M.E., Finochiaro, M.S., Gil-Cardeza, M.L., Riveros, M.D., Glikin, G.C., Cytokine-enhanced vaccine and interferon- β plus suicide gene as combined therapy for spontaneous canine sarcomas. *Research in Veterinary Science*. 2011; 91:230-234
- 37/ Hogge GS, Burkholder JK, Culp J, Albertini MR, Dubielzig RR, Keller ET, Yang NS, MacEwen EG., Development of human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-transfected tumor cell vaccines for the treatment of spontaneous canine cancer. *Hum Gene Ther*. 1998 Sep 1;9(13):1851-61
- 38/ Dow S, Elmslie R, Kurzman I, MacEwen G, Pericle F, Liggitt D., Phase I study of liposome-DNA complexes encoding the interleukin-2 gene in dogs with osteosarcoma lung metastases. *Hum Gene Ther*. 2005 Aug;16(8):937-46.
- 39/ Finocchiaro LM, Glikin GC., Cytokine-enhanced vaccine and suicide gene therapy as surgery adjuvant treatments for spontaneous canine melanoma. *Gene Ther*. 2008 Feb; 15(4):267-76.
- 40/ Visonneau S, Cesano A, Jeglum KA, Santoli D, Adjuvant treatment of canine osteosarcoma with the human cytotoxic T-cell line TALL-104, *Clin Cancer Res*. 1999 (7):1868-75
- 41/ Mata M, Vera JF, Gerken C, Rooney CM, Miller T, Pfent C, Wang LL, Wilson-Robles HM, Gottschalk S, Toward immunotherapy with redirected T cells in a large animal model: ex vivo activation, expansion, and genetic modification of canine T cells. *J Immunother*, 2014 37:407-15.
- 42/ Stanker L, Vanderlan, M., Juarez-Salina, S. H. One-Step Purification of Mouse Monoclonal Antibodies from Ascites Fluid By Hydroxylapatite Chromatography. *J. Immunol. Met*. 76(1) 1985: 157–169.
- 43/ He Q, Mitchell AR, Johnson SL, Wagner-Bartak C, Morcol T, Bell SJ, Calcium phosphate nanoparticle adjuvant, *Clin Diagn Lab Immunol*. 2000 Nov;7(6):899-903.
- 44/ Jin C, Frayssinet P, Pelker R, Cwirka D, Hu B, Vignery A, Eisenbarth SC, Flavell RA NLRP3 inflammasome plays a critical role in the pathogenesis of hydroxyapatite-associated arthropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 108 ; 14867-72. .

URINÁLISE DE *BRADYPUS VARIEGATUS* EM CATIVEIRO

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 06/10/2020

Marina Sette Camara Benarrós

Universidade Federal do Tocantins
Araguaína - Tocantins
<http://lattes.cnpq.br/5002778065026831>

Vitória Farias Luz

Universidade Federal do Pará
Castanhal - Pará
<http://lattes.cnpq.br/3768558571962947>

Tatiana Andrade Figueiredo

Museu Paraense Emílio Goeldi
Belém - Pará
<http://lattes.cnpq.br/9948920514492594>

Ana Sílvia Sardinha Ribeiro

Universidade Federal Rural da Amazônia
Belém - Pará
<http://lattes.cnpq.br/0937237235919219>

RESUMO: As preguiças-comum (*Bradypus variegatus*) são animais frequentes na realidade do cativeiro brasileiro, muitas vezes provenientes de apreensão, com graves quadros clínicos. O comprometimento sistêmico torna importante os exames de rotina a fim de se obter o diagnóstico das doenças. Para isso, neste trabalho, foi realizada a coleta, por micção espontânea, de 10 exemplares sadios de *B. variegatus* a fim de se estabelecer o perfil físico-químico da urina. O aspecto físico variou entre jovens (urina marrom com pH alcalino) e adultos (urina amarela com

pH próximo ao neutro). Não houveram achados químicos significativos, apenas proteinúria em todos os animais. Na análise do sedimento observaram-se cristais, células descamativas e bactérias considerados normais à urina e microbiota da bexiga demonstrando que, apesar da necessidade de mais estudos, as práticas de manejo têm sido suficientes na manutenção dos animais.

PALAVRAS-CHAVE: Preguiça-comum, urina, análise.

URINALYSIS OF *BRADYPUS VARIEGATUS* IN CAPTIVITY

ABSTRACT: The brown-throated sloths (*Bradypus variegatus*) are frequent animals in the reality of Brazilian captivity, often arising from apprehension, with severe clinical conditions. The systemic impairment makes it important to use routine exams in order to obtain the diagnosis of the diseases. For this purpose, 10 healthy specimens of *B. variegatus* were collected through spontaneous micturition in order to establish the physical and chemical profile of urine. The physical appearance varied among young (brown urine with alkaline pH) and adults (yellow urine with pH close to neutral). There were no significant chemical findings, with only proteinuria being observed in all animals. In the analysis of the sediment were observed crystals, desquamative cells and bacteria, considered normal to the urine and bladder microbiota which shows that, despite the need for more studies, management practices have been sufficient in the maintenance of these animals.

KEYWORDS: Sloth, urine, analyze.

1 | INTRODUÇÃO

As preguiças-comum (*Bradypus variegatus*) pertencem à ordem Pilosa, família *Bradypodidae*, sendo a espécie de mais ampla distribuição nas Américas. Sabe-se que pelo seu metabolismo lento e hábitat arborícola, as preguiças permanecem a maior parte do tempo em repouso, movimentando-se apenas em busca de alimento e para eliminação de excretas (BARRETO, 2013; CARVALHO, et al. 2014).

Estão se tornando cada vez mais frequentes no cativeiro provenientes da apreensão e encaminhadas às instituições por órgãos ambientais, particulares, etc. Sendo assim, conhecer os parâmetros normais e as possíveis alterações dos sistemas auxilia a clínica e escolha do tratamento de animais selvagens e principalmente para as preguiças, que não demonstram sintomatologia precocemente e apresentam diversas particularidades em relação aos outros mamíferos (SILVA, 2013; FAVORETTO, 2014; ARAÚJO, 2016).

O sistema urinário é um dos primeiros a ser prejudicado por doenças e tratamentos agressivos, então conhecer o seu funcionamento é crucial, e para isso a urinálise é o exame de eleição (HEGGENDORNN, et al. 2014; FORNAZARI, 2015).

O objetivo do trabalho foi contribuir, através de exames laboratoriais de rotina, com o estudo dos parâmetros urinários em preguiças-comum, habitantes do Parque Zoológico do Museu Paraense Emílio Goeldi, ampliando o conhecimento sobre a espécie, além de identificar a viabilidade de um método de coleta de material biológico adequado para esses animais.

2 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As preguiças-comum (*Bradypus variegatus*) são pertencentes à classe dos mamíferos e estão classificadas na ordem Pilosa, superordem Xenarthra, também conhecida como Edentata, juntamente com tamanduás e tatus; família *Bradypodidae*, sendo a espécie de mais ampla distribuição, ocorrendo nas Américas Central e do Sul (BERGQVIST, 2004; MIRANDA, 2014).

Esta espécie é conhecida por suas diversidades anatômicas e fisiológicas, como temperatura relativamente inferior aos demais mamíferos (de 32,7° a 35,5°C), consumo de alimentos de baixa fonte energética e pouco digestíveis (folhas, galhos macios e gemas de plantas diversas), movimentação vagarosa e hábitat principalmente arborícola (GILMORE et al, 2000; BARRETO, 2013).

Sabe-se que pelo seu metabolismo lento, as preguiças permanecem a maior parte do tempo em repouso, nas copas das árvores (NOWAK, 1999). Estudos mostram que a movimentação desses animais ocorre principalmente pelo deslocamento de uma árvore a outra, em busca de alimentos frescos, e para a eliminação das excretas (urina e fezes), estes ocorrem na base das árvores ou no

chão de uma a duas vezes por semana (CASSANO, 2006; MIRANDA, 2014).

O conhecimento acerca da fisiologia desses animais ainda é escasso e pouco desenvolvido, mesmo para os animais em cativeiro, o que se torna um desafio para o clínico tratar e manter os indivíduos em plenos padrões de saúde. A maioria dos animais procedentes de apreensão ou mesmo nascidos em cativeiro têm uma dificuldade extrema de adaptação, bem como o manejo é muitas vezes inadequado, não respeitando as necessidades específicas do animal (ALTRAK, 2012).

A principal enfermidade que acomete as preguiças apreendidas são os traumas, seguidos de doenças acarretadas por erros de manejo como carências nutricionais, transtornos digestivos e respiratórios, ectoparasitas e doenças infectocontagiosas. Quadros estes sempre acompanhados por estresse intenso, desidratação e inanição (OLIGER, et al. 2017; MIRANDA, 2014).

A somatória de problemas e distúrbios acaba interferindo diretamente na função orgânica do indivíduo, sendo assim muitos sistemas acabam sobrecarregados em virtude do estresse, nutrição inadequada, tratamentos intensos e pelo próprio combate à enfermidade. Dentre eles, o sistema urinário é um dos principais acometidos, levando os animais a possíveis quadros de insuficiência renal, obstruções, urolitíase, constipações, etc. (ORSINI, et al. 2006; OLIGER, et al. 2017).

O sistema urinário é o principal sistema de filtração, excreção e regulação hidroeletrólítica do organismo, sendo essencial no controle osmótico e metabólico. Sendo assim, é vital o estudo dos parâmetros normais para as preguiças-comum, possibilitando um melhor tratamento e escolha de fármacos e procedimentos que contribuirão para a sobrevivência do animal. Vale frisar que este é um campo ainda muito escasso em conhecimento técnico e científico, fator que dificulta a abordagem clínica destes animais (ROSA, et al. 2008; COLVILLE, 2010).

Rosa, Campos e Zangirolami Filho (2008) dizem ainda que para a análise dos padrões urinários, o exame de eleição é a urinálise. Trata-se de um exame laboratorial que fornece parâmetros físicos e químicos quanto à composição da urina, além da análise de sedimentos que possam estar presentes. Tal exame é importante no diagnóstico de uma variedade de doenças renais e é um dos principais usados na rotina clínica por fornecer um apuro geral do sistema de filtração orgânico.

A coleta da urina é realizada por introdução de sonda, micção espontânea ou ainda por cistocentese. O uso da sonda é uma técnica particularmente dificultada devido ao tamanho reduzido da entrada do canal uretral e do órgão copulador, em particular nos machos, sendo uma prática pouco viável em preguiças do gênero *Bradypus*. A micção espontânea tem a dificuldade na eventual contaminação da amostra, mas é a técnica menos estressante e danosa ao animal (GREGORY, 2005; CARVALHO, 2008).

E a técnica da cistocentese é a considerada mais indicada para análise da

urina, principalmente para estudo microbiológico, por ser a técnica mais asséptica (realizada diretamente da bexiga do animal, por punção com agulha, via cavidade abdominal), no entanto exige equipamentos específicos, como o ultrassom, treinamento do pessoal para correta localização da bexiga e ambiente limpo a fim de se evitar possíveis contaminações pela agulha (GREGORY, 2005; CARVALHO, 2008; COLVILLE, 2010).

3 | METODOLOGIA

Foram utilizados 10 espécimes de preguiça-comum (*B. variegatus*) habitantes do Museu Paraense Emílio Goeldi, de diferentes faixas etárias, sadios, e mantidos nas mesmas condições de nutrição (alimentados com folhas frescas e umedecidas de cacau – *Theobroma cacao* - e embaúba – *Cecropia* sp. - e água *ad libitum* disponível no recinto em bebedouros) e manejo. O experimento foi aprovado pela CEUA/UFRA sob o protocolo nº 056/2017 e 23084.01934/2017-40.

Para coleta da urina, os animais foram colocados um por vez em gaiolas de metal de tamanho médio, com 1 m de altura por 0,5 m de comprimento e 0,5 m de largura, com telas e fundos plásticos, previamente higienizados (Fig. 1). Os animais foram mantidos durante o dia (8 às 17h) nas gaiolas com alimentação e água disponíveis o tempo todo, assim a urina não sofreu nenhuma alteração decorrente do estresse de um manejo ou fatores ambientais diferenciados.



Figura 1 - Gaiola, com fundo e tela plásticos, usada na coleta de urina de *B. variegatus*.

Fonte: Acervo pessoal.

Após a micção, o material foi imediatamente coletado com seringa de 10 mL estéril, armazenado em tubos coletores universais e encaminhado para análise laboratorial, armazenado em caixas de polietileno expandido com gelo. O procedimento de coleta foi realizado somente uma vez por animal por dia, logo após a micção. Logo após a coleta os animais foram liberados para o recinto de origem.

A análise foi feita com kits de urinálise Sensi 10, pelo método de colorimetria com o uso de fitas reagentes. As fitas foram imersas na urina coletada por 30 a 60 segundos e permitiram a leitura dos seguintes parâmetros: urobilinogênio, glicose, corpos cetônicos, bilirrubina, proteína, nitrito, pH, hemoglobina e leucócitos. A densidade foi mensurada por meio de refratômetro (uma gota de urina no equipamento, previamente calibrado com água destilada, e observação da graduação pela ocular) e a análise dos sedimentos por leitura em lâmina (microscópio com objetivas de 10X e 40X), com prévia centrifugação (3000 RPM por 10 minutos) e descarte do sobrenadante.

Os valores da urinálise de cada animal foram dispostos em uma planilha do programa Curve Expert Professional 2,4®, onde foram obtidas as médias e desvio-padrão de cada parâmetro, considerando-se significância de $P \leq 0.05$.

4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A técnica de coleta escolhida (por micção espontânea) foi eficaz na obtenção da urina das preguiças-comum em cativeiro, interferindo pouco na análise microscópica do sedimento e sem intercorrências com os animais durante o experimento.

Foi realizado exame físico e químico da urina (Tab.1 e 2), imediatamente após a realização da coleta individual, a fim de se observar eventuais anormalidades ou doenças, além de observar o padrão normal urinário para a espécie *B. variegatus*.

Animal/ Parâmetro	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Peso (kg)	1,810	1,740	0,535	0,575	0,590	0,505	1,205	2,865	1,100	2,125
Faixa etária	Adulto	Adulto	Jov.	Jov.	Jov.	Jov.	Adulto	Adulto	Jov.	Adulto
Cor	AM	AM	MR	MR	MR	AM	AM	AM	MR	AM

Tabela 1 - Valores relativos ao peso (kg), faixa etária (FE – dividido em adulto ou jovem) e coloração da urina (amarela – AM - ou marrom – MR) da urina de 10 espécimes de *B. variegatus* espécimes do Parque Zoobotânico do MPEG.

Parâmetro	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Volume	16,5	3,37	15	10	20
Densidade	1035	8,16	1040	1015	1040
pH	7,7	1,25	8	6	9

Tabela 2 - Média, desvio padrão (DP), mediana, mínimo e máximo dos parâmetros físico-químicos, volume, densidade e pH da urina de 10 espécimes de *B. variegatus* habitantes do Parque Zoológico do MPEG.

	Jovens	Adultos	p-valores*
Volume	17	16	0,33
Densidade	1035	1035	0,50
pH	8,2	7,2	0,11

*relação entre jovens e adultos – Teste t com $p=0,05$.

Tabela 3 - Média e valor p de jovens (n=5) e adultos (n=5) de *B. variegatus* espécimes do Parque Zoológico do MPEG.

Foi possível observar que para os animais novos e mais leves, a urina apresentou pH consideravelmente mais alcalino em relação aos adultos, bem como a cor mais escura, voltada para o marrom, porém sem grandes variações estatísticas (Tab. 1). Apenas um animal jovem apresentou urina amarela. Tal parâmetro pode ter relação com o tipo de folha a qual, apesar de ser fornecida igualmente para jovens e adultos, quando jovens tendem a ter maior quantidade de água e variações quanto a quantidade de substâncias como proteínas e fibras (RAMOS, et al. 2017).

A análise estatística, disposta na Tabela 3, demonstrou que inexistiu diferença significativa entre as médias de jovens e adultos para os valores de volume, pH e densidade. O Teste t demonstrou portanto que jovens e adultos podem ser avaliados com base nos mesmos valores padrões (Tab. 2).

Quanto ao exame químico, foram avaliados os padrões dispostos nas fitas reagentes e em todos os animais o único parâmetro positivo foi para a presença de proteína (Tab. 4). Esta pode ser característica da fase de crescimento, já que com o avançar da idade ocorre uma maior utilização de reservas energéticas, resultando no surgimento de proteínas não reabsorvidas na urina. O estresse pelo manejo e restrição do espaço também podem levar a esta alteração (MORALES, et al. 2000; VILA, 2013).

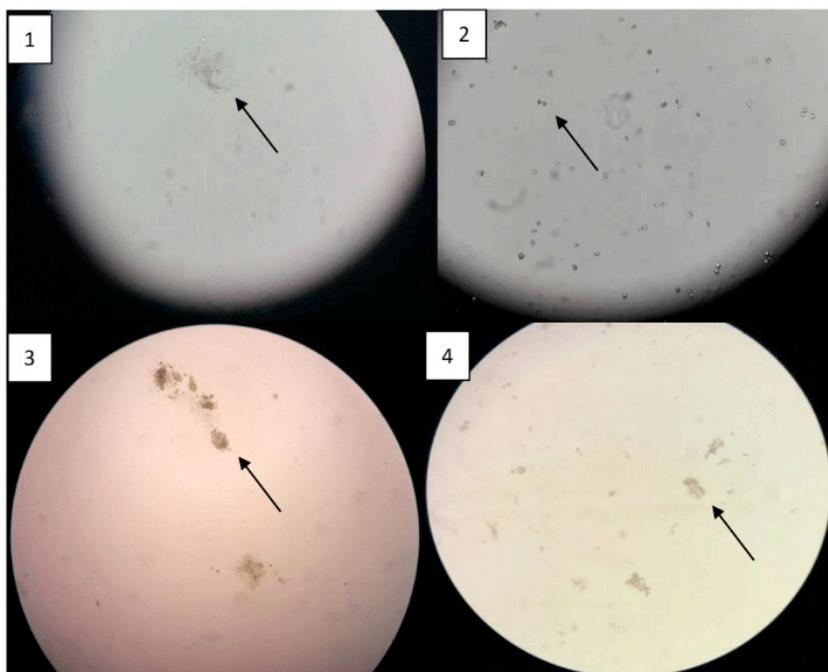
Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Proteína (mg/dL)	15	15	15	30	15	15	15	15	15	30

Tabela 4 - Quantitativo de proteínas, em mg/Dl, encontradas na urina de *B. variegatus*, por método de fita reagente.

Entretanto, exames mais aprofundados, como a eletroforese, são interessantes para identificar o tipo de proteína e determinar as causas da alteração, que pode ser infecciosa ou não, pois esta reabsorção proteica deficiente pode acabar prejudicando o equilíbrio metabólico do organismo à longo prazo (FIGUEIREDO, et al. 2013).

Todos os demais parâmetros (urobilinogênio, glicose, corpos cetônicos, bilirrubina, nitrito, hemoglobina e leucócitos) foram negativos, indicando bom estado renal nos animais analisados, bem como na bexiga, uretra e ureteres. Qualquer desordem que possa estar presente exige um exame mais apurado para ser identificada.

A microscopia do sedimento foi analisada diretamente em lâmina da gota da urina e apresentou-se diferenciada para cada animal (Fig. 2).



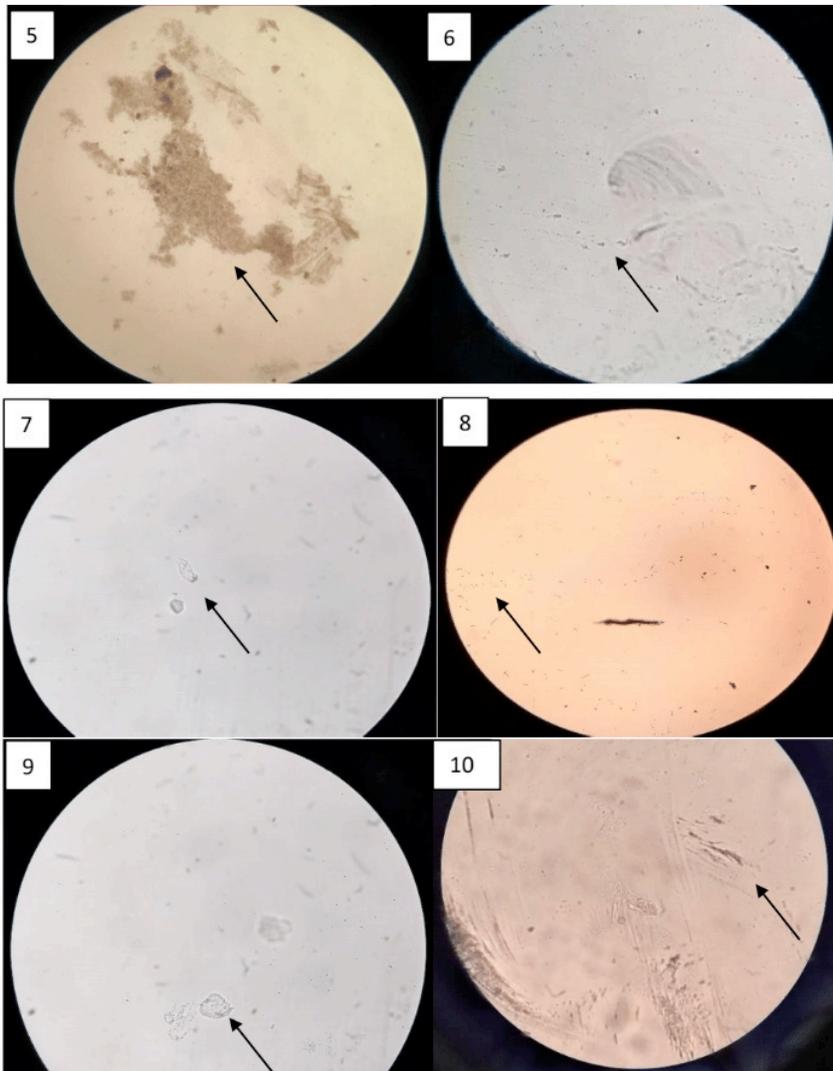


Figura 2 - Fotografia do aspecto da urina recém-coletada e da lâmina de gota de urina direta de *B. variegatus*. 1 – leucócitos raros, espermatozoides, bactérias frequentes; 2 – cristais de oxalato de cálcio e células descamativas raras; 3 – bactérias e fosfato de cálcio amorfo; 4 - células descamativas; e bactérias raras; 5 – fosfato de cálcio amorfo; 6 - células descamativas raras e artefatos; 7 - células descamativas raras; 8 - células descamativas raras e artefatos; 9 - células descamativas e bactérias raras; 10 - células descamativas frequentes.

Fonte: Acervo pessoal.

A presença de bactérias já era algo esperado devido o método de coleta, bem como a presença de células descamativas e artefatos. Os espermatozoides encontrados na urina do único macho indicam a aptidão deste para a reprodução.

Cristais de oxalato de cálcio e fosfato de cálcio amorfo, observados nos animais 2, 3 e 5, são achados normais da urina alcalina, o que não significa necessariamente a existência de cálculos renais. Entretanto, o acompanhamento é importante para uma confirmação mais segura da ausência de urolitíase (ALMOSNY, et al. 2007; QUEVEDO, et al. 2015).

5 | CONCLUSÃO

A urinálise é uma ferramenta essencial e o primeiro passo para o clínico de animais silvestres entender sobre a função renal destes. Por isso, é de fundamental importância a determinação dos parâmetros fisiológicos para cada espécie animal, a fim de facilitar a detecção de doenças e contribuir para o tratamento e prevenção apropriados.

As preguiças-comum (*B. variegatus*) são animais ainda pouco estudados e que apresentam uma série de particularidades que exigem um conhecimento apropriado, em particular quanto ao sistema renal que contribui diretamente para o equilíbrio osmótico do organismo.

É notório que estudos mais aprofundados com maior número de animais são necessários para ampliar o entendimento sobre componentes e características presentes na urina de preguiças do gênero *Bradypus*, bem como estudos acerca da composição microbiológica, não abordada neste estudo.

REFERÊNCIAS

- ALMOSNY, N.R.P.; MONTEIRO, A.O. Patologia clínica. In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. 1º edição. São Paulo: ROCA, 2007, 1354 p.
- ALTRAK, G. **Nutrição e manejo de animais silvestres e exóticos em zoológico**. 2012. 49f. Monografia (Graduação em Engenharia agrônoma) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.
- ARAÚJO, J.C. **Animais silvestres: tráfico e seus perigos**. In: EMBRAPA AMAPÁ, 1 ed., 2016. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/157732/1/CPAF-AP-2016-FDR-Animais-silvestres.pdf>. Acesso em: 28/01/18.
- BARRETTO, M.L.M.; AMORIM M.J.A.A.L.; FALCÃO M.V.D. Análise morfológica e morfométrica das gônadas de preguiça (*Bradypus variegatus* Schinz, 1825). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, São Paulo, v.33, n.9, p.1130-1136, set. 2013.
- BERGQVIST, L.P.; ALMEIDA, E.B. Biodiversidade de mamíferos fósseis brasileiros. **Revista Universidade Guarulhos – Geociências**, São Paulo, v.10, n.6, p.54-68, dez. 2004.
- CARVALHO, M. B. Semiologia do Sistema Urinário. In: FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2008, 448p.

CARVALHO, M.M.; PIERI, N.C.G.; PEREIRA, K.F.; et al. Caracterização comparativa do intestino das espécies da Ordem Xenarthra. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, São Paulo, v.34, n.1, p.49-56, jun.2014.

CASSANO, C.R. **Ecologia e conservação da preguiça-de-coleira (*Bradypus torquatus* Illiger, 1811) no sul da Bahia**. 2006. 127f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Universidade Estadual de Santa Cruz, Bahia, 2006.

COLVILLE, J. O Sistema Urinário. In: COLVILLE, T. P.; BASSERT, M. J. **Anatomia e fisiologia clínica para medicina veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010,- 386p.

FAVORETTO, S.M. **Estudo morfológico do sistema reprodutor feminino do bicho-preguiça-de-garganta-marrom (*Bradypus variegatus*, SCHINZ, 1825)**. 2014. 44f. Dissertação (Mestrado em Ciência animal) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2014.

FIGUEIREDO, M.A.P.; SILVA, D.F.; MANRIQUE, W.G. et al. Ciclo errático de *Diocotophyme* renale: relato de dois casos. **Orinoquia**, Meta, Colombia v. 17, n. 1, jun. 2013.

FORNAZARI, F. **Epidemiologia da leptospirose em mamíferos silvestres de vida livre da região de Botucatu, SP**. 2015. 15f. Tese (Doutorado em Saúde pública veterinária e segurança alimentar) – Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu, 2015.

GILMORE, D.P.; COSTA, C.P. da; DUARTE, D.P.F. Sloth biology: an update on the physiology of two- and three- toed sloths. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v.33, n.1, p. 129-146, fev. 2000.

GREGORY, C. R. Sistema Urinario. In: LATIMER, K. S.; MAHAFFEY, E. A.;

PRASSE, K. W. **Patología clínica veterinaria**. 4 ed. 2005, 317p.

HEGGENDORNN, L.H.; SILVA, N.A.; CUNHA, G.A. Urinálise: a importância da sedimentoscopia em exames físico-químicos normais. **Rev. REB**, São Paulo, v. 7, n.4, p.431-443, jan.2014.

NOWAK, R. M. **Walker's Mammals of the World**. 6 ed. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press, 1999, 836 p.

MIRANDA, F. Cingulata (Tatus) e Pilosa (Preguiças e Tamanduás). In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. 2º edição. São Paulo: ROCA, 2014, 2470 p.

MORALES, J.V.; GARCEZ, J.; WEBER, R. et al. Proteinúria: avaliação clínica e laboratorial. **Revista HCPA**, São Paulo, v.20, n.3, dez.2000.

OLIGER, C.D.; NICOLAI, G.P. **Manual de manejo, medicina y rehabilitación de perezosos**. Valdivia: Huálaro, 2017, 162p.

ORSINI, H.; BONDAN, E.F. Fisiopatologia do estresse em animais selvagens em cativeiro e suas implicações no comportamento e bem-estar animal – revisão da literatura. **Rev. do Instituto de Ciências da Saúde**, São Paulo, v.1, n.24, p.7-13, jan. 2006.

QUEVEDO, M.U.; LESCANO, J.G.; SATO, A.S. Uso de «Chancapiedra» (*Phyllanthus niruri*) como Terapia para la Urolitiasis por Estruvita en un Conejo (*Oryctolagus cuniculus*) Mascota. **Rev. de Investigaciones Veterinárias del Peru**, Lima, v.26, n.3, abril, 2015.

RAMOS, T.J.N.; LAMEIRA, O.A.; SILVA, M.S.M.; et al. Avaliação da Composição Mineral de Folhas e Chás de Embaúba (*Cecropia palmata* Willd. e *Cecropia obtusa* Trécul.) por Espectrometria de Emissão Ótica em Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES). **Rev. Virtual de Química**, São Paulo, v.9, n.6, p.2414-2426, jan. 2017.

ROSA, B.T.; CAMPOS, C.P.; ZANGIROLAMI FILHO, D. et al. Urinálise na medicina veterinária. **Rev. Científica Eletônica de Medicina Veterinária**, São Paulo, n.11, julho 2008.

SILVA, S.M. **Contribuições para a conservação de *Bradypus variegatus* (preguiça-comum) – Processos históricos e demográficos moldando a diversidade nuclear**. 2013. 30f. Tese (Doutorado em Biologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

VILA, L.G. **Bioquímica em aves: Revisão de literatura**. 2013. 56f. Dissertação (Mestrado em Patologia, clínica e cirurgia animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

ZATELLI, A.; PALTRINIERI, S.; NIZI, F. et al. Evaluation of a urine dipstick test for confirmation or exclusion of proteinuria in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, São Paulo, v. 71, n.2, fev. 2010.

USE OF ENVIRONMENTAL AND GENETIC DESCRIPTORS TO INTEGRATE HERDS OF SHEEP

Data de aceite: 01/12/2020

Jorge Osorio Avalos

Faculty of Medicine Veterinary and Zootechnics
Autonomous University of Mexico State
Campus El Cerrillo Piedras Blancas
Toluca, Estado de México

Piiego Esquila Marcelino

Faculty of Medicine Veterinary and Zootechnics
Autonomous University of Mexico State
Campus El Cerrillo Piedras Blancas
Toluca, Estado de México

González Ronquillo Manuel

Faculty of Medicine Veterinary and Zootechnics
Autonomous University of Mexico State
Campus El Cerrillo Piedras Blancas
Toluca, Estado de México

Robles Jiménez Lizbeth Esmeralda

Faculty of Medicine Veterinary and Zootechnics
Autonomous University of Mexico State
Campus El Cerrillo Piedras Blancas
Toluca, Estado de México

Castelán Ortega Octavio Alonso

Faculty of Medicine Veterinary and Zootechnics
Autonomous University of Mexico State
Campus El Cerrillo Piedras Blancas
Toluca, Estado de México

ABSTRACT: Assuming that each region and/or country represents a unique productive environment, it is important to define that there are diverse productive environments that may exist within a country or even in the same

region. The objective of the study was to identify and group sheep herds in the municipality of Temoaya, State of Mexico, Mexico, to allow better planning and distribution of resources (subsidies) aimed at increasing the productivity of the different processes in the sheep herds. The study examined 23 sheep herds using an applied integral quiz (64 descriptors of environmental and genetic type), which was initially subjected to a discriminant statistical analysis, then a multivariate statistical analysis, resulting in the establishment of 15 principal components (PC), that explained 94.25% of the differences between the herds. The variables that constituted the PC presented significant correlations among them ($P < 0.05$). Finally, clusters were analyzed, integrating the 23 herds into 5 groups or clusters (CL) with similar environments. The clusters allowed the identification of diverse productive products of the sheep sector in each region. The use of this methodology is a reliable tool for the structural solutions that currently limit the good sustainable development of sheep production.

KEYWORDS: Sheep, environmental descriptors, main components, cluster, sustainable.

RESUMO: Assumindo que cada região e / ou país representa um ambiente produtivo único, é importante definir que existem diversos ambientes produtivos que podem existir dentro de um país ou mesmo na mesma região. O objetivo do estudo foi identificar e agrupar os rebanhos ovinos no município de Temoaya, Estado do México, México, para permitir um melhor planejamento e distribuição dos recursos (subsídios) destinados a aumentar a produtividade dos diferentes

processos nos rebanhos ovinos. O estudo examinou 23 rebanhos ovinos por meio de questionário integral aplicado (64 descritores de tipo ambiental e genético), o qual foi inicialmente submetido a uma análise estatística discriminante, em seguida a uma análise estatística multivariada, resultando no estabelecimento de 15 componentes principais (CP), que explicou 94,25% das diferenças entre os rebanhos. As variáveis que constituíram o CP apresentaram correlações significativas entre si ($P < 0,05$). Por fim, foram analisados os clusters, integrando os 23 rebanhos em 5 grupos ou clusters (CL) com ambientes semelhantes. Os clusters permitiram a identificação de diversos produtos produtivos do setor ovino em cada região. A utilização desta metodologia é uma ferramenta confiável para as soluções estruturais que atualmente limitam o bom desenvolvimento sustentável da produção ovina.

PALAVRAS-CHAVE: Ovinos, descritores ambientais, componentes principais, cluster, sustentável.

1 | INTRODUCTION

Due to its geographic and climatological conditions, the Mexican highlands region has been identified as the area with the greatest ability to graze sheep to produce meat and wool (SAGARPA 2016). In the context of the State of Mexico, the importance of sheep activity is known, and in particular in the municipality of Temoaya as an annual primary activity – with 1,084 and 546 tons of live livestock and meat, respectively, representing around 1% at the national level (SAGARPA 2016) – but there is no reliable information that describes or characterizes in a specific way the production systems, such as the genetic resources involved, inputs used in food, integral management of the herd, type of reproductive management, preventive health measures, and so on. The programs that promote sheep farming in the State of Mexico are mainly provided by the governmental sector, which generally globalizes the systems of production. Under these circumstances, the development of sheep breeding in the region could be encouraged with a clear direction of resources, producing productive and sustainable projects that potentiate the aspects of genetic improvement, reproduction, feeding, sanitary management and improvements in the productive environment, with greater precision according to the resources and the production objectives of this municipality, which is in line with the Sustainable Animal Diets promoted by the FAO (Makkar and Ankers 2015) .

Considering that each region and/or country represents a unique productive environment, it is important to define that there are several productive environments that may exist within a country or even in the same region (Fikse et al. 2003). Clusters of herds with similar management conditions and production systems have been used to identify production levels among groups of herds (Fikse et al. 2003; Vasconcelos et al. 2006).

The cluster is a grouping procedure that may be attractive for defining herds under similar environmental conditions (Weigel and Rekaya 2000), which have been recently integrated using climate, management and productive variables (environmental descriptors), allowing the identification with greater clarity of environmental levels (Osorio-Avalos et al. 2015), making the characterization of the production systems of a region and/or country more reliable.

The objective of the present study was to develop a descriptive analysis of variables on aspects of genetic improvement, reproduction, feeding, sanitary management and facilities, among others, of the sheep herds prevalent in the municipality of Temoaya, defining the integration of herds based on the cluster methodology.

2 | MATERIAL AND METHODS

2.1 Information of the population

The study was carried out with information from 23 herds in the municipality of Temoaya, State of Mexico, which was obtained from a poll given to owners and/or managers of the herds.

2.2 Survey and environmental descriptors

The application of the survey (Rivas et al. 2014) consisted of 92 questions that corresponded to nine general indicators with a number of particular variables: herd data, herd composition, health management, commercialization, breed type, equipment, feeding, mating and reproduction, as well as the characteristics of genetic resources.

2.3 Statistical analysis

The information of the variables (previously standardized) of the herds was integrated in a database. A first discriminate statistical analysis was applied to all the variables (Proc Stepdisc SAS 9.2 2007) in order to select those variables that allowed a better discrimination of the descriptors for the differentiation of the herd grouping. These variables (environmental and genetic descriptors) were analyzed using the principal components method (Proc Princomp SAS 9.2 2007) in order to reduce the size of quantitative variables and to specify the classification factors (Pardo et al. 1999; Macedo et al. 2003, Paz et al. 2003). Cluster analysis was performed using the Proc Cluster procedure (SAS 9.2 2007, Weigel and Rekaya 2000) to order herds in homogeneous groups according to the estimated correlation distances of their environmental variables and genetic characteristics.

3 | RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Discriminant Analysis and Principal Components (PC)

A total of 92 variables were found; the discriminant analysis indicated that 28 variables were not selected because there were no differences between them ($P > 0.05$), so they were discarded. The 64 environmental descriptors were used for the analysis of principal components (PC), resulting in the establishment of 15 PCs which explained 94.25% of the differences among production units (Complement 1). This percentage was higher than those found in other studies (78.3%) with dairy cows (Weigel and Rekaya 2000; Zwald et al. 2003), possibly due to the differences between species and the difference in the number of environmental descriptors considered in both studies. Thus it was also higher than another study in Merino sheep herds in Spain (Osorio et al. 2015), which found an explanation of 78.3% of the total variance, using 20 environmental descriptors (which were integrated in 7 factors). The difference of 16% with respect to this study is probably due to the fact that a greater number of descriptors was considered (64 vs. 20 indicators), explained by more variability among herds.

3.2 Association of variables

The analysis of principal components (PC) in which eigenvalues were greater than the unit explained a very high percentage of variability (94.25%); the first 15 PCs that were integrated in 64 variables (Complement 1) were selected, which were considered for the grouping analysis (cluster, CL) that followed. The variables that contributed mainly to the explanation of the variance (18.5%) among herds were the total amount of sheep and the characteristics in the herd composition (adult males and females, fattening lambs and rearing lambs). The percentage of pregnant sheep, lamb mortality, replacement animals and the average age of rearing females were closely linked to the production systems.

Osorio-Avalos et al. (2015), in a study with Merino sheep herds in Spain, found that only the variables such as size of herd, feeding area, days of feeding, and animal load contributed to 29.9% of the differences among herds. Naser et al. (2008) studied the contribution of variables related to the production systems in meat production characteristics in beef cattle in South Africa, finding that they were the best option to define groups of herds under similar conditions.

In this study, the productive data (environmental descriptors) contributed 9.8%, similar to Osorio-Avalos et al. (2015), because birth weight at 30 and 75 days of age (weaning) in Merino sheep accounted for 9.7% of the total variance. Winding et al. (2005) found in dairy cows that the milk yield production (% of fat, protein and amount of milk produced), contributed 10.3%. Also, when a study was carried

out analyzing the productive characteristics in dairy cows in different countries, they founded that 64.3% of the total variance corresponded to these variables (Vasconcelos et al. 2006). These differences in the total contribution may be due to the large differences that exist between production systems in different countries.

3.3 Cluster analysis (clusters, CL)

The cluster analysis procedure resulted in a hierarchical dendrogram resulting from the application of the variables described above, showing the composition of 5 clusters (groups) with similar environments. Groups are shown in Figure 1 formed by the close values of variance between them, also differentiated by their values of the distance of the variance between the herds, derived from the descriptors used in this study. According to the general characteristics presented, the formed groups were described as: CL1_backyard, CL2_backyard-extensive, CL3_semiextensive, CL4_extensive, CL5_intensive systems.

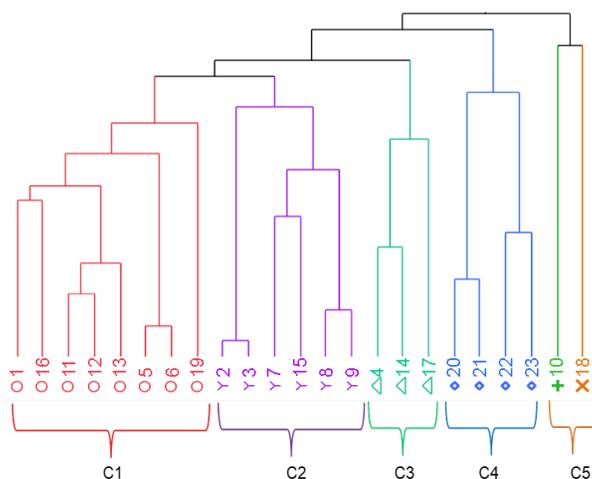


Figure 1. Integral hierarchical dendrogram of the 23 sheep herds according to the environmental descriptors in the municipality of Temoaya, State of Mexico. C1_backyard, C2_backyard-extensive, C3_semiextensive, C4_extensive, C5_intensive.

3.4 Description of clusters due to similarities in their environmental circumstances

The production systems have been characterized by analyzing their structure, reproductive variables, feeding strategies, animal health and marketing, among others (Vázquez et al. 2009; Valerio et al. 2010). Table 1 presents the general characteristics that characterized the integration of the five clusters. Important

differences between them are given below.

3.5 Data of the farmer and the herd

The farmer's experience in sheep breeding is important and continuously used as a variable since it is related to a better understanding of the production process. It is also directly related to the case of accepting new technologies and improving system productivity (Vázquez et al. 2009; Rivas et al. 2014).

Cluster integration indicates that older farmers show greater experience in sheep management, but show almost no academic studies and the lowest inventory of animals (24%, CL1 and CL2). In relation to the young farmers (with the exception of CL4), CL 3 and 5 showed less experience in the activity, while CL5 found farmers with professional academic information (Table 2). Rivas et al. (2014) mentions that the years of experience of farmers in Spain was 15.6 years, which is very similar to Borroto et al. (2011) in Cuba (17 years), while Galaviz et al. (2011) in Mexico found the experience for Sheep Production Systems (SPS) at around 48 years on average; the differences are due to the fact that there are areas where sheep breeding is an emergent activity.

Concept	CL1	CL2	CL3	CL4	CL5
(Number) and % herd	(8) 34.8	(6) 26.1	(3) 13.0	(4) 17.4	(2) 8.7
System Production	Backyard	Backyard and extensive	Semi-extensive	Extensive	Intensive
Owner's education level	100 % does not have	68% does not have	Primary and high school	100% Primary and high school	Bachelor's degree
Animal inventory	≤15	Average around 25	Average around 48	50 to 199	≥200
Sheep production activity	Primary	Secondary	Secondary	Primary	Primary and secondary
Origin of the herd	Family	Acquired/ inherited	Acquired	Acquired	Acquired
Government subsidy	Does not have	Does not have	Yes	Yes	Yes
Job generation	Self-employment	Self-employment	Yes	Yes	Yes
Herd genotype	Local	Grade Suffolk	Suffolk, Dorper and Pelibuey	Suffolk, Hampshire and Dorper	Suffolk and Hampshire
Identification of the herd	Does not have	Does not have	Deficient	Complete	Complete
Fence	Does not have	Does not have	Yes	Does not have	Yes
Available drinking water	Spring	Rivers	Spring	Rivers	Potable

Herd inventory	Decrease	Maintain	Maintain	To increase	To increase
Sanitary management	Little	Little	Regular	Regular	Good
Type of forage pasturage	Not performed	Pasturage of crop residues	Pasturage of crop residues	Pasturage and crop residues	Rotational pasture and feed lot
Land for pasturage	Ejidal	Ejidal	Communal	Tree Forest	Private property
Hectares for pasture	2-00	1-00	3-00	4-00	2-00
Displacement to feed (km)	4	1	3	8	0.5
Birth control	Does not have	Does not have	Yes	Does not have	Yes
Type of parturition (predominant)	Single	Single	Single and twin	Single and twin	Single and twin
Origin of rams and sheep replacements	Own herd	Own herd	Females of the own herd and rams of other herds and breeder market	Females of the own herd and rams of other herds and breeder market	Other herds
Cause of animal removal	Sale according to needs	Sale according to needs	Sale at barbecoyeros	Commercialization	Commercialization
Commercialization of animals	Own herd	Own herd	Own herd and/or market of animals	Market of animals	Market of animals
Way of marketing with a barbecoyero	Package	Package	kg	Kg	kg
Use of wool	Hand craft	Payment of shear	No data	No data	Sale
Interest in the organization of producers (sheep association)	No	No	Yes	Yes	Yes

CL1_backyard, CL2_backyard-extensive, CL3_semiextensive, CL4_extensive, CL5_intensive systems

Table 1. Description of the main characteristics of the herds in five groups according to the cluster analysis (CL).

The number of sheep that make up the flock has frequently been used as a variable in characterizations that analyze the relationship between the productive system and the social context (Valerio et al., 2010; Rivas et al. 2014). CL4 resulted in the highest number of animals (Table 3), while CL 1, 2, 3 and 5 had an average range between 13 to 31 animals. Borroto et al. (2011) mention that in Cuba, sheep herds are characterized as having 30 sheep on average, which is similar to this study, as well as Nuncio et al. (2001) in Tabasco, Mexico, with herds between 20-40 sheep,

while Vázquez et al. (2009) in the highlands in Mexico found that the average size of the herds was around 60 sheep. It is indisputable as some authors mention that the variable number of sheep should be used as a criterion for grouping herds (Pérez et al., 2011).

Cluster	Herd		Animals		Farmer's age (years)			Experience (years)	Level of education (%)			
	No.	%	No.	%	Average	Maximum	Minimum		None	Basic	Highschool	Bachelor 's
CL1	8	34.8	28	18	51	71	32	25	88	0	12	0
CL2	6	26.1	13	6	55	77	23	23	68	16	16	0
CL3	3	13.0	25	6	35	50	24	5	0	33	33	33
CL4	4	17.4	202	65	39	50	20	28	0	100	0	0
CL5	2	8.7	31	5	36	42	30	6	0	0	0	100
Total	23	100	299	100	43	58	25.8	17	31.2	29.9	12.3	26.7

CL1_backyard, CL2_backyard-extensive, CL3_semiextensive, CL4_extensive, CL5_intensive systems

Table 2. Cluster description according to the data of the farmer and herd composition.

3.6 Data on the production unit and herd composition

According to their origin, sheep herds that were acquired (CL 3, 4 and 5) are considered as a primary activity, presenting a tendency to increase the sheep inventory, obtain governmental subsidies (including technical assistance) and generate employment. Plata et al. (2016) mention that employment is necessary for the functioning of family-type herds (generating self-employment), as presented in CL 1 and 2, which show a tendency to decrease their inventory (even to disappear), ignoring the existence of government subsidies including technical assistance (Table 3). To our knowledge there are no preliminary studies that have examined these variables.

50% of the herds in this study receive technical assistance. Pérez et al. (2011) mention that in the state of Veracruz, Mexico, 60% of the herds lack technical assistance, with 37% of the farmers having private animal science engineers or veterinarians as assistants – supplying antibiotics, anthelmintics and vaccines.

3.7 Sanitary management in herds

Sanitary practices differ according to the type of herd. In this study, deworming and vaccination are activities performed to a lesser extent, as well as the use of vitamins and minerals. Pérez et al. (2011) mention that the common sanitary practices are the administration of anthelmintic, vaccines and vitamins, which relates to our

study, in which almost 66% of the herds apply anthelmintic. In the present study the groups in CL 3, 4 and 5 use anthelmintic practices (100%) at least once a year. In some studies it has been emphasized that there are no technical criteria in the frequency of deworming (Cuéllar et al. 2011), while in others (Góngora et al. 2010) it has been found that deworming occurs around every six months (41.7%) or annually (33.8%). The use of vaccines is very poor (only 25% of the herds do, in CL 4 and 5), which corresponds to the results of other authors (Morantes et al. 2008; Valerio et al. 2010; Borroto et al. (2011), highlighting that few producers use immunizations (i.e. pasteurized).

Cluster	Activity (%)		Herd origin (%)			Sheep Tendency (%)			Employed persons (%)	Subsidy %
	Primary	Secondary	Created	Acquired	Family	Decrease	Maintain	Increase		
CL1	100	0	0	0	100	100	0	0	0	0
CL2	0	100	20	30	50	50	33	17	0	0
CL3	0	100	0	100	0	0	100	0	100	100
CL4	100	0	0	100	0	25	25	50	50	50
CL5	50	50	0	100	0	0	0	100	100	100
Total	50	50	4	66	30	35	31.6	33.4	50	50

CL1_backyard, CL2_backyard-extensive, CL3_semiextensive, CL4_extensive, CL5_intensive systems

Table 3. Description of the clusters according to the data and composition of the herd.

Farmers comment that the most prevalent diseases are respiratory problems and secondly digestive illnesses (Table 4). These results coincide with Plata et al. (2016) in the Municipality of Toluca, Mexico. However, the prevalence of these disorders was 68% in herds of Tlaxcala (Galaviz et al. 2011) highlighting that digestive cases were more frequent. It is important to mention that in this study there is a poor identification system of the sheep inventory, perhaps because of the cost this entails (i.e. ear tags, tattoos) given the total number of animals with a herd. The irregular practice of cutting the tails of the lambs is performed even in lambs at an older age, which is a reflection of the lack of training and/or technical assistance.

3.8 Marketing in herds

The type of products or by-products for sale has been used in various characterizations to describe the commercial or economic component (Vázquez et al. 2009). The commercialization products of the herds in this study are mainly sheep for meat or for breeding oriented to the production of meat. The sale of fattened lambs takes place on the farm itself and is paid for per “package” (CL 1, 2, 3), or in

CL 4 and 5 per kilogram or per live animal. The final destination of the lambs is for the production of barbecue (76% on average) in all five clusters. Sheep production has been described as an alternative for the family economy and for the self-consumption of the meat (Vázquez et al. 2009, Valerio et al. 2010 and Borroto et al. 2011). Producers of CL 1, 2 and 5 expressed interest in the creation of community fattening, while CL 2 herds lack interest in the creation of civil associations (Table 5). The lack of associations has meant that farm producers are dependent on intermediates and that sheep companies do not grow as in other countries such as Spain or Brazil that create cooperatives or associations, thus providing certain advantages.

Cluster	Management activities in sheep (%)					Tail		Major diseases (%)	
	Deworming	Vaccine	Vitamin-selenium	Minerals	Identification	%	Days %	Respiratory	Digestive
CL1	12	0	0	0	25	25	39	62	38
CL2	17	0	0	0	17	100	40	50	50
CL3	100	0	100	100	33	100	18	100	0
CL4	100	25	50	100	100	100	30	75	25
CL5	100	100	100	100	100	100	15	0	100
Total	65.8	25	50	60	55	85	28.4	57.4	42.6

CL1_backyard, CL2_backyard-extensive, CL3_semiextensive, CL4_extensive, CL5_intensive systems

Table 4. Description of the clusters according to the sanitary management of the herds.

The herds that were part of CL 5 considered as income the sale of wool, while in the rest of the herds it represented a loss in production, with a high percentage of producers who discard or burn it, as was found in herds in the municipality of Toluca, Mexico. In Chile and other countries 50% of the income on farms is from the sale of wool, which puts us at an international disadvantage, because in Mexico we import wool from other countries (Plata et al. 2016).

3.9 Composition by breed type (females and males) in the production units

The breeds that are handled in the herds are a variety widely used for their contribution to the description of the productive purpose and the animal component. Vázquez et al. (2009) mention that within the herds generally there are no clear criteria for the selection of breeding stock, or some other aspects of breeding. The herds in this study are based on two breed types of sheep: natives and crossbreed animals (Suffolk and Hampshire); native sheep are present in 15% of the clusters, mainly in CL1. Clusters 1, 3 and 4 have Suffolk animals and CL 3 and 4 also have

Dorper sheep. The pure breed of Suffolk and Hampshire are only in CL 2 and 5.

Cluster	Wool utilization (%)			Lambs sale place (%)		Purchase of lambs (%)		Price	Organization (%)	
	Sale	Craft	Losses	Farm	Market	Barbacoyero	Producer	\$	Fattening	Asociation
CL1	0	12	88	100	0	88	12	1000	12	37
CL2	0	0	100	100	0	100	0	1500	16	0
CL3	0	0	100	100	0	67	33	1800	0	100
CL4	25	0	75	0	100	75	25	2500	0	100
CL5	100	0	0	0	100	50	50	2800	100	100
Total	25	2.4	72.6	60	40	76	24	1920	25.6	67.4

CL1_backyard, CL2_backyard-extensive, CL3_semiextensive, CL4_extensive, CL5_intensive systems

Table 5. Description of the clusters according to the commercialization of the herd.

The rams present in the herds are based on four racial types: Dorper, Hampshire, Pelibuey and Suffolk, as well as locals (natives) and crossbreed animals (Suffolk and Hampshire). The native sheep present in the semi-arid and temperate regions of the country need to be identified and defined and a census of the different varieties needs to be taken to guide the programs for their conservation and use, within the ecosystems in which they are found (SAGARPA 2017). Native local sheep are a great alternative for this region due to their adaptability, with low food demand, high disease resistance and easy rearing (FAO, 2010). In this study, the native sheep are present in 7% of the clusters, with CL 1 presenting the greatest percentage (> 50%). In all clusters the Suffolk breed type is present, with Suffolk, Hampshire, Dorper and Pelibuey standing out in order of importance (Table 6). These results are similar to Valerio et al. (2010) and Rivas et al. (2014), finding that some herds are composed of improved breeds while others use local breeds (Suffolk, Hampshire, their crosses) and local.

3.10 Installations and equipment in herds

Farm infrastructure has been described by several authors (Borroto et al. 2011; Rivas et al. 2014) as one of the aspects that determine the technological level of the herds. In this study it was found that the use of fences corresponds to 82% of the herds, located in CL 1 and 2. Water available from a spring (37% of herds) was integrated into CL 1 and 3, and natural river water is used by CL 2 and 4. Only CL 5 herds use potable water. The water well is the least used water source on the farms. As for lamb pens, breeding pens, feeders, drinking troughs, food storage

tanks, manure troughs, dunghills and grazing areas, the possession of these facilities progressively decreases from cluster 5 to 1 (Table 7).

Cluster	Maternal breeds (%)					Paternal breeds (%)					
	Local	Hampshire	Suffolk	Grade Suffolk	Grade Dorper	Local	Suffolk	Hampshire	Pelibuey	Dorper	Grade Suffolk
CL1	75	0	0	25	0	38	38	0	12	0	12
CL2	0	17	83	0	0	0	83	17	0	0	0
CL3	0	0	0	67	33	0	33.3	0	33.3	33.3	0
CL4	0	0	0	75	25	0	50	25	0	25	0
CL5	0	50	50	0	0	0	50	50	0	0	0
Total	15.0	13.4	26.6	33.4	11.6	7.6	50.9	18.4	9.1	11.7	2.4

CL1_backyard, CL2_backyard-extensive, CL3_semiextensive, CL4_extensive, CL5_intensive systems

Table 6. Description of the clusters according to composition by breed type in the herds.

3.11 Herd feeding management

The food that is used in the herds is most commonly used to describe the feeding system, because it provides information about several characteristics of the productive unit (Pérez et al. 2011; Rivas et al. 2014). In the five clusters, 90% of the animals are fed based on grazing, which is the most common practice (Plata et al. 2016). The problem is that the production unit use low-quality native pastures (below 7% crude protein) of a very mature age. Non-grazing systems (feedlot) correspond to 50% of the herds located in CL 1, 2 and 4 (Table 8). CL 5 (intensive) uses rotational and rationed grazing, using stabling and feeding on stubble and concentrates. Rivas et al. (2014) comments that this is a production system in which herds are grazed for some hours a day, in grasslands that are generally native, and characterized by the animals returning to their pens to receive food supplementation. The supplementation consists of supplying the herd a mixture of fodder such as agricultural by-products (i.e. straw and stubble) and also sometimes cereals (i.e. maize, sorghum) (Vázquez et al. 2009; Pérez et al. 2011), with or without commercial cereal concentrates.

3.12 Land ownership, surface utilization and herd movement

The type of crop planted by the farmers is used as an indicator of the feeding of the herd. There is a direct relationship between sheep and crops; the former are fed stubble and grazing, from the farmland after harvest (Vazquez et al. 2009; Pérez et al. 2011). The use of land for feeding prevails in the region of the community type (CL 1 and 2) called “*ejido*”. While in CL 3 the property is in communal use, CL 4 herds

are in forested areas and CL 5 are privately owned. Each formed cluster showed a different amount of hectares planted with crops for the use of sheep. The sowing of forage maize is used mainly in the herds that comprise CL 1, 2, 3 and 4; while the herds in CL 5 use grass and oats (Table 9).

Cluster	Fences	Water source (%)			
		Spring	Water well	River	Potable water
CL1	63	63	12	2	0
CL2	50	0	0	83	12
CL3	100	100	0	0	0
CL4	100	0	0	100	0
CL5	100	0	0	0	100
Total	82.6	32.6	2.4	37	22.4

CL1_backyard, CL2_backyard-extensive, CL3_semiextensive, CL4_extensive, CL5_intensive systems

Table 7. Description of the clusters according to the possession of facilities and equipment of herds.

Cluster	Pasturage (%)	Grazing crop Residues (%)	Concentrate (g)	corn stover (%)	Pasturage (%)			
					Rotation	Conducted	No conducted	Rationed
CL1	100	100	0	75	0	0	100	0
CL2	100	100	0	67	16	50	50	0
CL3	100	100	0	100	33	67	0	0
CL4	100	100	0	100	0	0	100	0
CL5	50	0	400	0	50	0	0	50
Total	90	80		68.4	19.8	23.4	50	10

CL1_backyard, CL2_backyard-extensive, CL3_semiextensive, CL4_extensive, CL5_intensive systems

Table 8. Description of the clusters, according to the feed in the herds, considering the variables of pasturage, grazing crop residues and supplementation with concentrate.

In the study of the distance of the animals to the feed source, it was observed that CL 2 and 5 do not have a significant degree of displacement, whereas CL 1, 3 and 4 have to be displaced at distances of at least 2 km. In general, grazing areas are where the herds are driven daily during the rainy season and in the dry season (Vázquez et al. 2009; Góngora et al. 2010; Borroto et al. 2011). 100% of the farmers consider that the breed type of their herd is suitable for the environmental conditions

in relation to the use of the food. Some authors have included in their studies the grazing time, distance traveled and months of grazing (Valerio et al. 2010; Galaviz et al. 2011).

3.13 System and production objectives

Extensive systems have as their main characteristic that all animals are kept in a single herd, there is no defined reproductive control, the ram remains in the herd throughout the year (continuous mating), and deliveries have very wide margins between them and occur throughout the entire year (García et al. 2010). This description was found in the present study: the form of production that prevails is extensive (43.2%) in CL 1, 2 and 4, whereas backyard production is present in CL 1 and 2 (16.8%), while the semi-extensive (CL 3) and intensive (CL 5) systems accounted for 20% (Table 10). In the semi-extensive there is greater control in the reproduction of the herd, with strategies such as well-defined breeding seasons, and the ram can be kept separate from the herd and only be used for breeding. The intensive type is mainly used by producers of finished animals for supply, therefore the animals generally depend on the food provided in the corral; these results match with Pérez et al. (2011), for example, with grazing of sheep, housing of lambs, supplying food supplementation before sale (Pérez et al. 2011), but also presented herds where feeding is based on grazing with periods of housing complementing the feed, with agricultural by-products and concentrates (Rivas et al. 2014).

Cluster	Land use (%)				No. of hectares used for livestock					Sheep activity (kilometers)				
	Communal	Ejidal	Forest	Private property	1	2	3	4	Sowing	0.5	1	3	4	8
CL1	0	100	0	0	0	100	0	0	Corn	0	0	0	100	0
CL2	0	100	0	0	100	0	0	0	Corn	0	100	0	0	0
CL3	100	0	0	0	0	0	100	0	Corn	0	0	100	0	0
CL4	0	0	100	0	0	0	0	100	Corn	0	0	0	0	100
CL5	0	0	0	100	0	100	0	0	Grass and oats	100	0	0	0	0
Total	20	40	20	20	20	40	20	20		20	20	20	20	20

CL1_backyard, CL2_backyard-extensive, CL3_semiextensive, CL4_extensive, CL5_intensive systems

Table 9. Description of clusters according to land ownership, utilization of hectares and herd movement.

Within the production objectives, fattening of lambs is carried out in only 10% of the herds, while 90% of them are full cycle. In all herd nocturnal confinement is

carried out, while daytime confinement represented only 19.8% of herds (CL 3 and 5); this system of production is commonly used throughout the world (Valerio et al. 2010; Rivas et al. 2004).

3.14 Breeding, reproduction and replacement

It is fundamental to have a high reproductive efficiency that derives from good reproductive management, as well as from the incorporation of technological practices such as: weaning, controlled stock, flushing, use of the male effect, among others (Cuéllar et al. 2011). In this study, it is possible to observe that single births prevail in the herds, whereas in the herds that make up the CL 3 and 4 there are genotypes with a good rate of twin births. Generally, genotypes that do not present reproductive seasonality (67.6%) predominate, with seasonality (32.4%) representing mainly the herds that include CL 5. Pérez et al. (2011) in Veracruz, when studying the reproductive component, analyzed the period of mating and the time of birth, and found that the highest number of births is concentrated in winter (December-February) and spring (March-May), as was observed in this study.

Cluster	Production system (%)				Production objective (%)		Nocturnal	Daytime
	Extensive	Semi-extensive	Intensive	Backyard	Complete cycle	Fattening	confinement	confinement
CL1	50	0	0	50	100	0	100	0
CL2	66	0	0	34	100	0	100	16
CL3	0	100	0	0	100	0	100	33
CL4	100	0	0	0	100	0	100	0
CL5	0	0	100	0	50	50	100	50
Total	43.2	20	20	16.8	90	10	100	19.8

CL1_backyard, CL2_backyard-extensive, CL3_semiextensive, CL4_extensive, CL5_intensive systems

Table 10. Description of the clusters according to the system and production objective of the production units.

It has been determined that the stock strategies in the herds commonly adopt the natural behavior of the sheep (Vázquez et al. 2009). Valerio et al. (2010) mention that in the Dominican Republic the producers use continuous stock throughout the year, while Góngora et al. (2010) found that the producers with a level of intensification used controlled stock and the less technological herds used continuous stock. Morantes et al. (2008) observed that in herds in Venezuela 100% of the production units do not carry out any control over the amounts. In contrast, countries such as Chile, Argentina, Uruguay, New Zealand and Australia carry out controlled births by

introducing the rams 2 to 3 months a year, later withdrawing, allowing the lambs to be collected at 2 months postpartum for sale.

It is proposed to apply genetic improvement in herds through the selection of replacement animals based on productive parameters such as birth weight, weight gain, weaning weight. For this, it is necessary for farmers to manage productive records. In all clusters, the percentage of replacements for both females and males varies between 1% and 3%, with a marked difference for those herds that make up CL 4, which shows a higher replacement rate, of 11% in females. The replacement females are produced on the farm itself (80%, CL5), while 20% (CL 1 and 2) females are purchased on the livestock market. In contrast to our study, producers in the Municipality of Toluca, Mexico keep the lambs as replacements and only 20% select a lamb as a replacement ram, which increases inbreeding within the herds (Plata et al. 2016). It is well known that inbreeding can generally produce a loss of aptitude or vigor, as well as affect productive characters.

Cluster	Reproduction in sheep (%)				Replacements (%)		Replacement females (%)			Replacement males (%)		
	Single	Twin	Seasonal	Not seasonal	Female	Male	Farm	Market	Another farm	Farm	Market	Another farm
CL1	100	0	12	88	3	1	50	50	0	50	38	12
CL2	100	0	50	50	1	1	50	50	0	50	50	0
CL3	67	33	0	100	3	2	100	0	0	0	50	50
CL4	50	50	0	100	11	1	100	0	0	0	0	100
CL5	100	0	100	0	2	1	100	0	0	0	0	100
Total	83.4	16.6	32.4	67.6	4	1.2	80	20	0	20	27.6	52.4

CL1_backyard, CL2_backyard-extensive, CL3_semiextensive, CL4_extensive, CL5_intensive systems

Table 11. Description of the clusters according to the type of breeding, reproduction and replacement females of herds.

With regard to rams, 52.4% are acquired in another herd's breeding stock, 27.6% in the livestock market and 20% are produced within the UP (CL 1 and 2), suggesting a possible consanguinity scenario, such has been studied in another sheep population in the State of Mexico, finding little genetic variability (Camacho 2015). In the Municipality of Toluca (Plata et al. 2016) the producers obtain their replacements (males) within the locality or in nearby localities (50%). The rest of the farmers buy mainly in sheep farms relatively close to the region.

3.15 Selection of animal breeding

In the selection of the animals, it was found that 90% of the animals are chosen within the herd itself; in contrast, of animals that are purchased externally, 80% are selected according to a particular genetic line (Table 12). For productive information, only 10% use this information for the selection of the animals within their own herds (CL 5), while productive data is applied to 20% of animals purchased externally (CL 3 and 5 herds). It has been determined that when animals are selected within the locality or in surrounding localities, producers consider that “animals are healthy”, and when they are selected in livestock markets, the reason for buying there is because “there is higher quality of animals” (Plata et al. 2016).

3.16 Age of animal breeding and cause of elimination

It was found that the age of the sheep is between 18 to 36 months in 56.8% of the herds, while 43.2% did not know the age of the animals (Table 13). The average age of wombs at first calving is 16.6 months, with the highest age being recorded in the herds CL 1 and CL 2. This may be due to the fact that they do not supplement and do not plan the calving period. After more than a year, when at around 10 months of age sheep are already able to receive their first service and become pregnant, in these cases by limiting the management of supplementation, the animals do not reach the desired weight and because of this it takes more time until the sheep are ready to give birth. It has been observed that in countries like South America and in Australia, when supplements are not used, sheep do not reach their ideal weight and give birth between 12 and 16 months of age. It is also known when the lambs are weaned late, then it will be difficult for females to become pregnant before the lambs have reached one year of age. In the case of rams, 20% were younger than 36 months and 80% were older than 3 years of age, represented mostly in CL 1, 2, 3 and 4. The main cause of elimination of male breeders corresponds to their commercialization (81.8%). Only the herds of CL5 refer to eliminating animals for reproductive reasons, representing 10% of the total of the herds. To our knowledge there are no studies that have examined these variables.

Cluster	Sheep selection criteria			
	Own animals (%)		External animals (%)	
	For genetic line	For productive data	For genetic line	For productive data
CL1	100	0	100	0
CL2	100	0	100	0
CL3	100	0	50	50
CL4	100	0	100	0
CL5	50	50	50	50
Total	90	10	80	20

CL1_backyard, CL2_backyard-extensive, CL3_semiextensive, CL4_extensive, CL5_intensive systems

Table 12. Description of the clusters according to the selection criteria of the animals used by the sheep farmers.

Cluster	Age of females (%) (months)			Age of males (%) (months)			Cause of elimination in the herd (%)		
	Does not know	18 to 36	To calving	18 to 36	3 to 5 years	Mating	Reproductive	Sale	Substitution
CL1	25	75	18	25	75	18	0	100	0
CL2	16	84	20	0	100	19	0	84	16
CL3	25	75	14	0	100	16	0	75	25
CL4	100	0	14	25	75	17	0	100	0
CL5	50	50	17	50	50	21	50	50	0
Total	43.2	56.8	16.6	20	80	18.2	10	81.8	8.2

CL1_backyard, CL2_backyard-extensive, CL3_semiextensive, CL4_extensive, CL5_intensive systems

Table 13. Description of the clusters according to the age of the animals breeding and cause of their elimination in the herds.

4 I CONCLUSIONS

The generation of information and knowledge about practices implemented in the herds, and ways of improving them, can lead to a rational, sustainable and efficient use of resources. The integration of herds into clusters, according to the environmental descriptors through the methodology used in this study, allowed the productive structures within the sheep sector in different regions and/or countries to be characterized. The knowledge generated in this study will facilitate government agencies in implementing programs more suited to the needs of sheep production units.

ACKNOWLEDGMENT

Thanks to the 23 sheep farmers of the municipality of Temoaya, State of Mexico, for all of the nuances of their assistance, as well as for the complexities and peculiarities of their productive environment with sheep.

REFERENCES

- Borroto A, Pérez R, Mazorra CA, Pérez CA, Barrabí M y Arencibia AC. 2011. **Caracterización socioeconómica y tecnológica de la producción ovina en Ciego de Ávila, región Central de Cuba** (Parte I). Pastos y Forrajes. V34 N(2):199-210. Spanish.
- Camacho ZR. 2015. **Caracterización fenotípica de ovinos criollos en cuatro municipios del Estado de México**. Tesis de Licenciatura. FMVZ-Universidad Autónoma del Estado de México. Spanish.
- Comisión de recursos genéticos para la alimentación y la agricultura (FAO). 2010. **La situación de los recursos zogenéticos mundiales para la alimentación y la agricultura**. Accessed march 21, 2017. Spanish.
- Cuéllar OJA, García LE, De la Cruz CHA, Aguilar NM. 2011. **Manual práctico del campesino para la cría ovina**. Ediciones Pecuarias de México S.A. de C.V. México. Spanish.
- Fikse WF, Rekaya R, Weigel KA. 2003. **Assessment of environmental descriptors for studying genotype by environment interaction**. Livest Prod. Sci. 82 :223-231.
- Galaviz RJR, Vargas-L S, Zaragoza-R, JL, Bustamante GA, Ramírez BE, Guerrero RJD, Hernández ZJS. 2011. **Evaluación territorial de los sistemas de producción ovina en la región nor-poniente de Tlaxcala**. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias. 2(1):53-68. Spanish.
- Góngora PRD, Góngora GSF, Magaña-M MA, Lara LPE. 2010. **Caracterización técnica y socioeconómica de la producción ovina en el estado de Yucatán, México**. Agronomía Mesoamericana 21(1):131-144.
- Morantes M, Rondón Z, Colmenares O, De Ríos AL, Zambrano C. 2008. **Análisis descriptivo de los sistemas de producción con ovinos en el municipio San Genaro de Boconoito (Estado Portuguesa, Venezuela)**. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XVIII (5) 556–561.
- Neser FWC, Erasmus GJ, Scholtz MM. 2008. **The use of a cluster analysis across herd genetic evaluation for beef cattle**. S. Afr.J. Anim. Sci.38(1):51-57.
- Nuncio OG, Nahed TJ, Díaz HB, Escobedo AF, Salvatierra IB. 2001. **Caracterización de los sistemas de producción ovina en el Estado de Tabasco, México**. Agro Ciencia, ISSN (Versión impresa): 1405-3195 <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30235411>. Spanish.
- Osorio-Avalos J, Menéndez-Buxadera A, Serradilla JM, Molina A. 2015. **Use of descriptors to define clusters of herds under similar environmental conditions to improve the level of connection among contemporary groups of mutton type merino sheep under an extensive production system**. Livestock Science. 156: 54-60.

Pérez HP, Vilaboa AJ, Chalate MH, Candelaria MB, Díaz RP, López OS. 2011. **Caracterización del sistema producto ovino en el Estado de Veracruz, México.** Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XXI (4):327–334. Spanish.

Plata PG, Sánchez VE, García AA, Hernández VD. 2016. **Caracterización de los sistemas de producción ovina en el área de protección de flora y fauna Nevado de Toluca.** Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del Estado de México. Spanish.

USO DA CITOPATOLOGIA PARA O DIAGNÓSTICO DE TUMORES DE PELE EM ANIMAIS DOMÉSTICOS

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 27/08/2020

João Rogério Centenaro

Instituto Federal Farroupilha
Frederico Westphalen – RS
<http://lattes.cnpq.br/7641520787143856>

Larissa Grunitzky

Instituto Federal Farroupilha
Frederico Westphalen – RS
<http://lattes.cnpq.br/0541992951488681>

Natasha Rocha da Silva

Instituto Federal Farroupilha
Frederico Westphalen – RS
<http://lattes.cnpq.br/0868684551886267>

Paulo Henrique Braz

Instituto Federal Farroupilha
Frederico Westphalen – RS
<http://lattes.cnpq.br/7696428399690860>

RESUMO: Os tumores da pele e tecido subcutâneo são comumente observados na clínica de pequenos animais. O diagnóstico destes tumores é frequentemente realizado pela técnica da citopatologia. A citologia é utilizada na medicina humana, e mais recentemente reconhecido na medicina veterinária. Embora existam alguns relatos na literatura sobre a especificidade desta técnica, a utilidade da citologia no diagnóstico e caracterização de alguns tipos de tumores tem sido bem estabelecida. A epidemiologia é de grande importância para

avaliar a ocorrência destes tumores em animais de pequeno porte. O presente estudo tem como objetivo revisar os diferentes tipos de tumores cutâneos e subcutâneos, mais comumente diagnosticados em cães, e para apresentar as principais características epidemiológicas e citológicas.

PALAVRAS-CHAVE: Células, malignidade, pele, tumor.

USE OF CYTOPATHOLOGY FOR THE DIAGNOSIS OF SKIN TUMORS IN DOMESTIC ANIMALS

ABSTRACT: Tumors of the skin and subcutaneous tissues are commonly observed in small animal clinical medicine. Diagnosis of these tumors is frequently accomplished using cytopathology. Cytology is widespread in human medicine and recently more recognized in veterinary medicine. Though there are few reports in the literature on the specificity of this technique, the utility of cytology in the diagnosis and characterization of some tumor types has been well established. The epidemiology of cancer is of great importance in assessing the occurrence of these tumors in small animals. The present study aims to review the different types of cutaneous and subcutaneous tumors which are more commonly diagnosed in dogs, and to present their main epidemiological and cytological characteristics.

KEYWORDS: Cells, malignancy, skin, tumor.

1 | INTRODUCTION

1.1 Histórico

A técnica histológica começou a ser utilizada entre os diversos profissionais das ciências naturais, posteriormente empregada pelos anatomistas e histologistas. Somente duzentos anos após a descoberta do microscópio (Final do século XVI), a histologia foi utilizada como forma de diagnóstico de doenças (Caputo et al. 2010).

Em 1819, Mayer referiu-se pela primeira vez ao termo histologia, ao citar o termo “tecido” (do grego *histos*) salientado pelo anatomista e fisiologista francês Xavier Bichat, que por sua vez aprofundou a análise anatomopatológica, deslocando a doença dos órgãos para os tecidos (Foucault, 2008).

De acordo com as análises de Bichat, o organismo era composto de tecidos com texturas semelhantes, que podiam ser lidas, identificando as similaridades, parentescos e inter-relações das doenças inscritas na configuração do corpo. Ao identificar estas semelhantes texturas do organismo e suas respectivas funções é que nasce a histologia como base do conhecimento atual (Souza et al., 2010).

A histopatologia começou a ser utilizada como ferramenta básica de trabalho em anatomia patológica pelo médico Rudolph Virchow, em 1828. De acordo com Virchow, a histopatologia foi fundamental para a elaboração das bases da patologia celular (Caputo et al. 2010).

Em contrapartida, a citopatologia é utilizada como forma de diagnóstico na medicina desde o século XIX (Castillo et al. 1988, Carvalho 1993). Em 1917, uma nova técnica foi estudada por Papanicolau, a citologia esfoliativa, por meio do qual, em 1928, foi possível realizar diagnóstico de carcinoma uterino a partir da secreção vaginal de mulheres (Boon et al. 1982, Felizzola 1995). Martin e Ellis (1930) descreveram pela primeira vez as alterações de neoplasias malignas em 65 pessoas. Com o sucesso da técnica, até os dias atuais a citologia ainda é empregada dentro da medicina.

Por sua vez, na medicina veterinária, a publicação de trabalhos com a utilização da citologia como meio de diagnóstico em cães e gatos, teve início apenas 50 anos mais tarde (Seybold et al., 1982; Ménard et al., 1986).

2 | TÉCNICA CITOLÓGICA

Há diferentes técnicas para a preparação de uma lâmina citológica de um animal que apresente algum tipo de tumor. A escolha da melhor técnica irá variar de acordo com a localização anatômica e as características morfológicas que o tecido apresenta (Rocha 2008).

Para o sucesso do diagnóstico citológico é necessário que seja utilizada

a técnica correta, dentre elas pode-se citar as punções aspirativas com agulha fina (PAAF), a impressão de tecidos (*imprint*), *swab* tecidual e técnica esfoliativa. (Moriello & Rosenthal 1990; Montes, 1997). Todas elas têm a sua aplicabilidade, mas a PAAF é, sem dúvida, a mais comumente utilizada, na prática clínica.

O objetivo de qualquer colheita é obter um material com a maior quantidade de células possível, dispersando-o numa fina camada sobre uma lâmina, de modo a formar uma monocamada de células (Peleteiro et al., 2006).

2.1 Punção aspirativa por agulha fina

A punção aspirativa por agulha fina (PAAF) é um método usado para obter uma amostra de células a partir de um tecido, para fins de diagnóstico. O material obtido é transformado em uma amostra citopatológica apropriada para exame microscópico (Nigam et al., 2013).

A técnica de PAAF é realizada com diferentes etapas. O tecido alvo deve ser manualmente isolado com posterior introdução de uma agulha com calibre escolhido de acordo com o tipo de tumor visualizado. Depois de introduzida a agulha, deve ser realizado um movimento de vai e vem, em diferentes partes do tecido, repetindo o movimento de 3 a 4 vezes, mantendo uma pressão no interior da seringa entre 6 e 8 ml. O material coletado é então liberado em uma lâmina de vidro. É recomendado que sejam feitas pelo menos 3 lâminas para melhor avaliação citológica (Guedes et al. 1997, Montes, 1997).

A PAAF é a técnica mais utilizada pelos médicos veterinários por se mostrar um método simples para fazer a diferenciação de uma reação não neoplásica de uma reação neoplásica (Marinho et al., 2017). Quando esta técnica começou a ser utilizada, havia certa cautela, quando se suspeitava de uma neoplasia de caráter maligno, devido à incerteza se durante a punção poderia ser predisposta uma metástase. Atualmente é sabido que a lesão provocada pela PAAF é mínima, tornando-se insignificante a chance das células metastatizarem, quando comparado a técnicas como a biópsia cirúrgica (Burkhard & Meyer 1996; Guedes et al 1997).

2.2 Técnica de impressão

A técnica de impressão, também conhecida como *imprint*, consiste em manter contato da lâmina de vidro à lesão. Esta técnica também pode ser realizada em tecidos retirados através de biópsia cirúrgica, antes de armazenados em formol a 10%. A presença de uma reação inflamatória secundária poderá inviabilizar a amostra. (Cowell et al., 2009).

2.3 Swab

O *swab* é comumente utilizado em amostras fistulosas. Esta técnica esfoliativa é comumente indicada em casos de neoplasias fibrosas, sialoceles e

efusões. (Burkhard & Meyer 1996).

2.4 Técnica de coloração

As colorações mais utilizadas na rotina citopatológica em medicina veterinária são as do tipo Romanowsky (Diff-Quick, Wright, May-Grünwald-Giemsa e Leishman), por serem corantes rápidos e fornecem detalhes celulares entre núcleo e citoplasma, todavia, os detalhes intranucleares não ficam bem definidos (Burkhard & Meyer 1996). Também podem ser utilizadas as colorações de Papanicolau e o Novo Azul de Metileno (NAM) (Montes, 1997).

O NAM é uma coloração rápida, cujos esfregaços corados não podem ser guardados para posterior consulta e o contraste de cor não é bem marcado, evidenciando apenas núcleo e nucléolo (Wellman 1990).

O corante Papanicolau é mais amplamente utilizado na ginecologia humana por possibilitar uma boa distinção de cores por tipos celulares encontrados em diferentes fases do ciclo estral. Em contrapartida, os reagentes de Papanicolau são de preparação e manutenção difíceis na clínica diária, quando comparados aos corantes do tipo Romanowsky, fazendo com que seu uso se restrinja às patologias específicas (Wellman 1990).

3 | CLASSIFICAÇÃO DOS TIPOS TUMORAIS

Em 1999, a organização mundial da saúde (OMS) reclassificou os tumores malignos de pele. O conhecimento desta classificação é fundamental para o prognóstico dos tipos tumorais e a terapêutica a ser escolhida. De acordo com esta nova nomenclatura histopatológica, os tumores foram divididos em três categorias: Tumores epiteliais cutâneos e melanocíticos cutâneos, tumores mesenquimais de pele e tecidos moles e, tumores hematopoiéticos (Goldschmidt et al., 1999; Hendrick et al., 1999).

Citopatologicamente, as neoplasias cutâneas e subcutâneas podem ser separadas em três categorias: epitelial, mesenquimal e redonda. Esta classificação auxilia na interpretação citológica, não apenas por sua origem embrionária, mas também por suas características morfológicas celulares (Raskin & Meyer, 2011).

Ao comparar as técnicas da citopatologia e da histopatologia, possuem em comum à observação da morfologia celular a partir dos tecidos (Michalany, 1960). O emprego da técnica citopatológica é eficaz na caracterização de desordens teciduais de origem infecciosas, parasitárias, proliferativas e neoplásicas (Guedes 2000, Rocha 2008).

4 | NOMENCLATURA DAS NEOPLASIAS

A padronização internacional da nomenclatura estabelece o sufixo “oma” para as neoplasias de caráter benigno embora, algumas exceções fujam a regra, como os linfomas, os mastocitomas e melanomas (Yager & Wilcock 1994). Por outro lado, as neoplasias malignas são denominadas de acordo com a origem embrionária. O sufixo sarcoma indica malignidade de origem mesenquimal e o sufixo carcinoma indica malignidade de origem epitelial (Cotran et al. 2000, Jones et al. 2000).

O tecido cutâneo origina-se dos estratos germinativos ectoderma e mesoderma. O ectoderma dará origem à epiderme, aos folículos pilosos e às glândulas sudoríparas e sebáceas. A derme e o tecido subcutâneo são provenientes do mesoderma. Desta maneira, as neoplasias epiteliais envolvem tecidos de origem ectodérmica e as mesenquimais os tecidos de origem mesodérmica. As neoplasias de células redondas, existentes apenas dentro da classificação citopatológica, não possuem uma origem única, devido à grande variedade de tipos celulares (Banks 1992, Scott et al. 2001).

5 | CRITÉRIOS DE MALIGNIDADE

O termo neoplasia é definido como um novo crescimento que acontece de maneira desordenada e independente em qualquer tecido corporal. (Cotran et al 2000, Jones et al. 2000, Cullen et al. 2002). As neoplasias de caráter maligno e potencial altamente invasivo também podem ser denominadas de câncer (Cotran et al. 2000).

Para a classificação de lesões tumorais, como neoplásica ou não, variações morfológicas como anisocitose, anisocariose, despadronização de cromatina, multinucleolose, nucléolos evidentes, multinucleação, perda da arquitetura celular, presença de figuras de mitose e/ou mitoses atípicas, basofilia citoplasmática e vacuolização intracitoplasmática (Cotran et al 2000, Jones et al. 2000; Raskin & Meyer 2011), são critérios de malignidade importantes.

Dentre os critérios de malignidade descritos, não há um único critério que indique se um tumor é neoplásico ou não, mas sim a associação de três ou mais destas características em relação ao núcleo. Além disso, deve-se haver cautela quando há presença de células inflamatórias, uma vez que são capazes de causar displasia nas células teciduais, tornando-as semelhantes às células malignas (Cowell et al., 2009; Raskin & Meyer 2011).

Neoplasias de caráter maligno têm como característica a pouca diferenciação ou indiferenciação celular, em razão da perda de suas características arquitetônicas (Cotran et al. 2000, Jones et al. 2000, Cullen et al. 2002).

6 I CONFIABILIDADE DA TÉCNICA CITOLÓGICA

Apesar da citopatologia ser considerada uma ciência conclusiva (Thrusfield, 1995), Pedroza et al. (2011) consideraram que todos os testes de diagnóstico devem ser comparados com um padrão ouro, a fim de confirmar a validade de um teste. Desta forma, Motosugi et al (2001), afirmam que a histopatologia das neoplasias é considerada o melhor meio de diagnóstico, podendo desta forma, ser considerado o padrão-ouro.

Alguns estudos realizados ao longo dos últimos vinte anos, comprovam que a análise citopatológica possui um alto índice de confiabilidade, quando comparada a análise histopatológica (Braz et al., 2016). Este fato deve-se possivelmente ao aperfeiçoamento da técnica de colheita de obtenção de um bom esfregaço e do correto envio do material para o laboratório. Os estudos comparativos entre as técnicas citológica e histológica começaram a aumentar à medida que a citopatologia começou a demonstrar resultados semelhantes aos encontrados na histopatologia (Rodriguez et. al., 2009).

A eficácia da PAAF descrita na literatura humana para o diagnóstico de malignidade, quando comparada com a avaliação histológica, varia entre 82 % e 91 %, com 0,1 a 2% de falsos positivos (Chu & Hoyer, 1973; Frable & Frabela, 1979). Ménard et al. (1986) relataram 102 casos de neoplasias pela técnica de PAAF em animais domésticos, sendo 83 cães e 19 gatos. Os resultados obtidos foram de 97 tumores malignos e cinco lesões benignas.

Guedes et. al. (2000), realizaram um estudo com o intuito de verificar a acurácia do exame citopatológico no diagnóstico de lesões proliferativas e inflamatórias de animais domésticos, confirmada pelo exame histopatológico. Foram utilizados 90 animais, sendo 80 cães, quatro felinos, três caprinos, dois bovinos e um equino, com lesões nodulares em diversos órgãos, incluindo linfonodos superficiais. As discordâncias entre as duas técnicas foram em apenas 15 casos. Houve discordância entre tumores benignos e malignos em apenas sete casos, todavia, destes, cinco tumores eram mamários, que normalmente revelam resultados inconclusivos à citologia, principalmente quando se tratam de tumores mistos ou ulcerados, contendo muitas células inflamatórias, ou císticas (Allen et al., 1986).

Em um estudo comparativo entre as técnicas citopatológicas e histopatológicas, Ghisleni et al., (2006) utilizaram 292 amostras citológicas sendo que, 243 (198 de cães e 45 de gatos) foram incluídos no estudo. Quarenta e nove amostras foram consideradas insatisfatórias e excluídas, devido à falta de celularidade. Ao comparar as duas técnicas, foram consideradas neoplásicas 176 amostras citológicas. Em 175 casos, a neoplasia foi confirmada por histopatologia (verdadeiros positivos), enquanto que em apenas um caso, o diagnóstico de

neoplasia foi considerado falso positivo. Quando levado em conta a origem tumoral, o diagnóstico citopatológico incluiu 69 tumores mesenquimais, 52 tumores de células redondas, 51 tumores epiteliais, além de quatro melanomas. O tipo de célula tumoral (epitelial, mesenquimal, redonda, melanoma), foi determinado corretamente nas 175 amostras consideradas como verdadeiros positivos, quando comparados com a histopatologia.

Magalhaes et al., (2001), foi demonstrado que a técnica citopatológica revelou uma eficácia da ordem de 85,3% (128 casos) quando comparada à histopatologia. Foi observado que em 4,0% (6) dos tumores somente se definiu a origem embrionária das neoplasias, enquanto em 1,3% (2) se sugeriu apenas o prognóstico. O diagnóstico citopatológico diferiu completamente da histopatologia em 8,1% (12) dos casos.

Em dois casos estudados, os achados citopatológicos foram diferentes do que foi descrito na histopatologia, mas após reavaliação das lâminas, a citopatologia foi à técnica que melhor caracterizou as neoplasias, permitindo se estabelecer o diagnóstico definitivo e elevando a eficácia para 86,6% (Magalhães et. al, 2001). Relatórios da eficácia da PAAF e a descrição citopatológica dos diferentes tipos tumorais ainda são escassos na literatura veterinária (Magalhães et al., 2001; Chalita et al., 2001).

Para Braz et al. (2016), os resultados citopatológicos demonstraram uma eficácia de 69,69%, em relação à histopatologia. Para a diferenciação entre tumores neoplásicos e não neoplásicos, a eficiência aumenta, com resultados iguais em 91,91%. Para diferenciar tumores benignos de malignos, foi possível chegar a uma concordância na ordem de 68,13%.

7 | CONCLUSÃO

É possível afirmar que a citopatologia possui alto grau de confiabilidade, embora exista dificuldade no diagnóstico de tumores indiferenciados. As neoplasias de células redondas são as mais facilmente diferenciadas na citopatologia. Por ser um método rápido e barato, este exame ainda possibilita a diferenciação entre tumores neoplásicos e não neoplásicos, contribuindo para a tomada de decisão da terapia a ser instituída aos pacientes.

REFERÊNCIAS

Allen, S.W.; Prasse, K.W.; Mahaffey, E.A. 1986. Cytologic differentiation of benign from malignant canine mammary tumors. *Veterinary Pathology*, v.23, p.649-655.

Banks, W. J. 1992. *Histologia veterinária aplicada*. 2. ed. São Paulo:Manole. p.391-423.

- Bellei, M.H.M.; Neves, D.S.; Gava, A.; Liz, P.P.; Pilati, C. 2006. Prevalência de neoplasias cutâneas diagnosticadas em caninos no estado de Santa Catarina, Brasil, no período entre 1998 a 2001. *Revista de Ciências Agroveterinárias*. Lages, v.5, n.1, p.73-79.
- Boon, G.D.; Rebar, A.H.; DeNicola, D.B. 1982. A cytologic comparison of Romanowsky stains and Papanicolau-type stains. I. Introduction, methodology and cytology of normal tissues. *Veterinary Clinical Pathology*. v.11, n.1, p.22- 30.
- Braz, P.H.; Brum, K.B.; Souza, A.I.; Abdo, M.A.G.S. Comparação entre a citopatologia por biópsia com agulha fina e a histopatologia no diagnóstico das neoplasias cutâneas e subcutâneas de cães. *Pesquisa Veterinária Brasileira (Online)*, v. 36, p. 197-203, 2016.
- Burkhard, M.J.; Meyer, D.J. 1996. Invasive cytology of internal organs – cytology of the thorax and abdomen. *Veterinary Clinical North America, Small Animal Practice* v.26, n.5, p. 1203-1222.
- Carvalho, G. 1993. Cytology in the diagnosis of cancer and pre- cancerous lesions - its role in early identification of lesions. In: Carvalho G, ed. *Oncologic Cytology*. Sao Paulo, Brazil: Editora Atheneu, p.1–44.
- Castillo, C.A.; Candanosa, E.A.; Buen, N.A. 1988. Diagnóstico citológico en veterinaria, análisis de 3563 casos. *Veterinaria México*. v.19, p. 211-215.
- Chalita, M.C.; Matera, J.M.; Alves, M.T.; Longatto Filho, A. 2001. Nonaspiration fine needle cytology and its histologic correlation in canine skin and soft tissue tumors. *Anal Quant Cytology and Histology*.v.23, p. 395–399.
- Chu, E.W.; Hoye, R.C. 1973. The clinician and the cytopathologist evaluate fineneedle aspiration cytology. *Acta Cytology*. v. 17, p.413-417.
- Clinkenbeard, K.D.; Cowell, R.L. 1994. Características citológicas de las neoplasias malignas. *Waltham Focus*, v.4, p.2-8.
- Cotran, R. S.; Kumar, V.; Collins, T. 2000. *Robbins – Patologia estrutural e funcional*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p.233-295.
- Cowell, R. L.; Tyler, R. D.; Meinkoth, J.H. 2009. *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2 ed. St. Louis: Mosby.
- Cullen, J. M.; Page, R.; Misdorp, W. 2002. An overview of cancer pathogenesis, diagnosis and management. In: MEUTEN, D. J. *Tumors in domestic animals*. 4. ed. Ames:Iowa State. p. 3-43.
- Felizzola, C.R. 1995. Estudo comparativo de neoplasias bucais em cães - avaliação dos aspectos clínicos, da histopatologia e citologia esfoliativa. Tese de Mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, SP. p. 1-80p.
- Frale, W.J.; Frable, M.A. 1979. Thin-needle aspiration biopsy, the diagnosis of head and neck tumors revisited. *Cancer*. v. 43, p.1541-1548.

- Ghisleni, G.; Roccabianca, P.; Ceruti, R.; Stefanello, D.; Bertazzolo, W.; Caniatti, M. 2006. Correlation between fine-needle aspiration cytology and histopathology in the evaluation of cutaneous and subcutaneous masses from dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology*, v.35, n.1, p.24-30.
- Goldschmidt, M.H.; Dunstan, R.W.; Stannard, A.A; Tschärner, C. 1999. *Histological classification of epithelial and melanocytic tumors of the skin of domestic animals*, second edition, WHO, Armed Forces Institute of Pathology and American Registry of Pathology, Washington D.C.
- Guedes, R.M.C. 2000. Acurácia do exame citológico no diagnóstico de processos inflamatórios e proliferativos dos animais domésticos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.52, n.5, p.437-439.
- Guedes, R.M.C., Nogueira, R.H.G.; Tudury, E.A. 1997. Diagnóstico citológico de lesões proliferativas e inflamatórias através da técnica de punção de tecidos com agulha fina. *Revista Veterinária*. n.96.
- Guzman, E.; Langowski, J.L.; Owen-Schaub, L. 2003, Mad dogs, Englishmen and apoptosis: The role of cell death in UV-induced skin cancer, *Apoptosis*. v.4, p. 315-325.
- Hendrick, M.J.; Mahaffey, E.A.; Moore, F.M.; Vos, J.H.; Walder, E.J. 1999, *Histological classification of mesenchymal tumors of skin and soft tissues of domestic animals*, second edition, WHO, Armed Forces Institute of Pathology and American Registry of Pathology, Washington D.C.
- Jones, T. C.; Hunt, R. D.; King, N. W. 2000. *Patologia veterinária*. 6. ed. São Paulo: Manole. 1415p.
- Lavalle, G.E.; Araújo, R. B.; Carneiro, R. A.; Pereira, L. C. 2003. Punção aspirativa por agulha fina para diagnóstico de mastocitoma em cães. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.55 n.4, p.500-502.
- Magalhães, A. M.; Ramadilha, R. R.; Barros, Lombardi, C.S. 2001. Estudo comparativo entre citopatologia e histopatologia no diagnóstico de neoplasias caninas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. v.21, p. 23-32.
- Marinho, C. P.; Souza, I. M.; Xavier, M. E. B.; Dourisboure, C. J.; Braz, P. H. Achado citopatológico de formas amastigota de *Leishmania* spp. na língua de um canino: Relato de caso. *PUBVET (LONDRINA)*, v. 11, p. 1104-1107, 2017.
- Martin, H.E.; Ellis, E.B. 1930. Biopsy by needle puncture and aspiration. *Ann Surg* v.92, p. 169.
- Ménard, M.; Fontaine, M.; Morin, M. 1986. Fine needle aspiration biopsy of malignant tumours in dogs and cats: A report of 102 cases. *Canada Veterinary Journal*. v.27, p.504-510.
- Michalany, J. 1960. *Técnica histológica em anatomia patológica*. São Paulo: EPU, 277p.
- Molinario, E.M; Caputo, L.F.G.; Amendoeira, R.R.R. 2010. *Conceitos e métodos para formação de profissionais em laboratório de saúde*. v.2. Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC.

Montes, O.G.A. 1997. Citologia en la clinica medica de pequenos animales. In: 2ª Jornadas Hospitalarias de Medicina Veterinaria, Buenos Aires, p.111-117.

Moriello, K.A.; Rosenthal, R.C. 1990. Clinical approach to tumors of the skin and subcutaneous tissues. *Veterinary Clinical North America - Small Animal Practice*. v.20, n.4, p.1163-1190.

Motosugi, U; Kato, T.; Kamakura, Y.; Saze, T.; Suzuki, T.; Yajima, S.; Shimizu, Y.; Murata, S.; Shimizu, M, J.; Dobson, J. 2001. *Small Animal Oncology*. Oxford: Blackwell Science Ltda.

Nigam, J.; Misra, V.; Dhingra, V.; Jain, S.; Varma, K.; Singh, A. 2013. Comparative study of intraoperative cytology, frozen sections, and histology of tumor and tumor-like lesions of nose and paranasal sinuses. *Journal of Cytology*. v.30, n.1, p13.

Peleteiro M.C.; Correia, J.J.; Carvalho, T.; Pissarra, H.; Fernandes, I. 2006. Diagnóstico citológico em medicina veterinária. VI Curso de Citologia para Clínicos Veterinários, FMV-UTL, Lisboa.

Raskin, R.E.; Meyer D.J. 2011. *Citologia Clínica de cães e gatos: atlas colorido e guia de interpretação*. 2 ed. Rio de Janeiro:Elsevier, 472 p.

Rocha, N.S. 2008. Exame citológico no diagnóstico de lesões da pele e subcutâneo. *Clínica Veterinária*. n.76, p.76- 80.

Rodríguez, B. J.; Ortiz, L. C.; Garzón, A.; Gómez, L. F.; Vasquez, Y. 2009. Valoración de la citología para el diagnóstico de tumores en caninos. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuaria*. v. 22. p. 42-53.

Rothwell, T., C.; Howlett, D.; Middleton, D. A.; Griffiths; Duff, B.C. 1987. Skin neoplasms of dogs in Sidney. *Australian Veterinary Journal*, v.64, p.161–164.

Scott, D. W.; Miller, W. H.; Griffin, C. E. 2001. *Dermatologia dos pequenos animais*. 6. ed. Philadelphia: Saunders Company, p.1528.

Seybold, I.; Goldston, R.T.; Wikes, R.D. 1982. Exfoliative cytology. *Veterinary Medicine Small Animal Clinician*. v.77, n.7, p.1029-1033.

Souza, T. M. F.; Irigoyen, R. A.; Severo, L. F.; Lombarde C. B. 2006. Estudo retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cães. *Ciência Rural, Santa Maria*, v.36, n.2, p.555-560.

Teixeira, L. V.; Lopes, S.T.A.; Martins, D.B.; França, R.T.; Figuera, R.A. 2010. Punção aspirativa por agulha fina como método de coleta de material para a histopatologia no osteossarcoma canino. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. v.30, n.2.

Thrusfield, M. 1995. Diagnostic testing. In: Thrusfield M, ed. *Veterinary Epidemiology*. 2nd ed. London, UK: Blackwell Science Ltda.

Timm, L.L. 2005. Técnicas rotineiras de preparação e análise de lâminas histológicas. *Caderno La Salle XI, Canoas*, v.2, n.1, p. 231 – 239.

Wellman, M.L. 1990. The cytologic diagnosis of neoplasia *Veterinary Clinical North American Small Animal. Practice.* v.20, p.919-937.

Yager, J. A.; Wilcock, B. P. 1994. *Color atlas and text of surgical pathology of the dog and cat: dermatopathology and skin tumors.* London: Wolfe. p. 239-313.

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 Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2057530058619654>

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 Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9200770549379851>

WESKLEN MARCELO ROCHA PEREIRA - Graduando do curso Zootecnia na Universidade Federal do Maranhão no Centro de Ciências Agrárias e Ambientais (UFMA/CCAA) cursando o sétimo período - Campus IV- Chapadinha-MA. E-mail para contato: wesklen.1@gmail.com / Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8497094072446956>

ÍNDICE REMISSIVO

A

Ácido peracético 116, 118, 119, 120, 122, 123, 124

Adaptação 2, 4, 81, 163, 200

AEC 102, 103, 104, 106, 109

Análise 2, 5, 13, 22, 38, 39, 47, 50, 53, 70, 73, 88, 105, 106, 111, 114, 120, 125, 126, 129, 141, 145, 147, 148, 149, 155, 158, 178, 179, 198, 200, 202, 203, 206, 210, 230, 234, 238

Anestesia 19, 20, 22, 23, 28, 29, 30, 97, 99, 118, 119, 121, 122, 124

Anticoccidianos 84, 85, 89, 90, 92, 93, 94

Antimicrobianos 110, 111, 113, 122, 165, 169

B

Bactéria 12, 112

Barbatimão 161, 162, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 171, 172

Bem-estar 2, 4, 139, 207

Brita 31, 32, 33

Búfalos 50, 54, 55, 58

C

Cão 15, 29, 31, 34, 38, 41, 77, 132, 134, 149, 150, 151

Caprinocultura 2, 3

Carrapatos 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18

Casco 97, 98, 100

Cavalos 97, 100, 101

Células 26, 38, 39, 40, 41, 47, 62, 65, 84, 85, 86, 87, 89, 90, 91, 133, 145, 146, 148, 149, 183, 184, 198, 205, 229, 231, 233, 234, 235

Coccídeo 70, 74

Componentes principais 210

Corpo estranho 31, 32, 140

Criopreservação 61, 62, 63, 65, 67

D

Descritores ambientais 210

Desempenho zootécnico 84, 85

Diagnóstico clínico 173

Diarreia 31, 33, 35, 36, 72, 74, 77, 78, 79, 140, 144

Doenças das aves 43, 93, 94, 95

E

Ehrlichia canis 11, 12, 16, 17, 18

Eimeria spp 70, 71, 74, 76, 84, 94

Encefalopatias 152, 156, 159

Equinos 82, 97, 100, 101, 161, 162, 164, 165, 172

F

Fatores de risco 11, 13, 15, 16, 55, 102, 103, 105, 107, 109, 143

Feridas de segunda intenção 161

Fluidoterapia ozonizada 77, 80, 81

G

Gamopatia monoclonal 38

Gás ozônio 173, 174, 175, 176, 177, 179, 180, 181

Gatos 20, 27, 28, 29, 30, 32, 41, 116, 119, 123, 124, 132, 136, 145, 146, 230, 234, 238

Germoplasma 61, 62

Grupo 116, 119, 128, 184

H

Haemochus spp 70, 71

I

Imunoterapia 183, 184

Infecção bacteriana 97

Infecções respiratórias hospitalares 116

Insuficiência renal 77, 78, 82, 200

Intersexo 126, 131

IS1311 50, 52, 53, 54, 57

Isolamento 50, 52, 54, 55, 112, 113, 122

M

Malignidade 149, 229, 233, 234

Mamite 173

Manejo sanitário 84

Maranhão 1, 54, 58, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 109, 240

Mieloma múltiplo 38, 39, 40, 41

N

Necropsia 88, 97, 99, 126, 128, 137, 141, 142

Neoplasia juvenil 132

Neuropatia desmielinizante 43

Noradrenalina 20, 24

O

Osteíte podal 97, 98, 99, 100

Osteossarcoma 183, 184, 238

Ovário 61, 114, 127

Ovinocultura 9, 70, 71, 72, 75, 76

Ozonioterapia 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83

P

Paratuberculose 50, 51, 54, 58

Patologia 31, 43, 45, 47, 51, 92, 110, 111, 128, 136, 173, 206, 208, 230, 236, 237

Pele 3, 33, 35, 38, 40, 41, 44, 47, 122, 158, 161, 164, 165, 166, 170, 171, 172, 229, 232, 238

Plantas medicinais 161, 163, 164, 165, 170

Poodle 31, 32, 33, 147, 149

Preguiça-comum 198, 201

Prevalência 11, 12, 13, 72, 75, 102, 103, 105, 106, 107, 108, 110, 113, 236

Prevenção 56, 84, 92, 106, 137, 155, 206

Problemas digestivos 137

R

Rabdomiossarcoma 132, 133, 134, 135, 136

Reprodução 60, 85, 86, 126, 131, 205, 240

Resistência 26, 51, 71, 72, 74, 76, 81, 89, 90, 91, 110, 113, 114, 120, 123

Ruminantes 1, 3, 7, 51, 55, 56, 71, 76, 108, 122, 137, 138, 139, 140, 144, 153, 155, 157, 158, 159

S

Sensibilidade 13, 74, 90, 93, 110, 111, 113, 124

Síndrome neurológica 43, 44, 157
Sistema nervoso central 47, 152, 154, 159
Sorologia 11
Suíno 126, 128, 130
Sustentável 93, 210

T

Termorregulação 1, 2, 3, 129
Tipificação 50, 52
Tratamento 19, 20, 28, 31, 33, 35, 38, 39, 40, 55, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 84, 97, 98, 101, 102, 104, 116, 117, 118, 119, 122, 134, 137, 140, 142, 147, 149, 150, 155, 156, 161, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 178, 179, 180, 181, 183, 184, 199, 200, 206
Tubos endotraqueais 116, 119, 121, 123
Tumor 133, 145, 147, 149, 150, 151, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 195, 196, 197, 229, 230, 231, 233, 238

U

Urina 21, 22, 79, 132, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206

V

Vacinação 44, 46, 48, 84, 90, 91, 92, 93
Vasopressor 19, 20, 24
Verminose 70, 71, 76
Vesícula urinária 21, 22, 132, 133, 134, 135, 136
Vigilância epidemiológica 152, 155, 157, 159
Vômitos 31, 33, 36, 78, 81

A Pesquisa nos Diferentes Campos da Medicina Veterinária 3

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

A Pesquisa nos Diferentes Campos da Medicina Veterinária 3

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 