

VETERINÁRIA EM FOCO

Revista de Medicina Veterinária

Vol. 6 - N° 2 - Jan./Jun. 2009

ISSN 1679-5237



COMUNIDADE EVANGÉLICA LUTERANA "SÃO PAULO"

Presidente
Delmar Stahnke



UNIVERSIDADE LUTERANA DO BRASIL

Reitor
Marcos Fernando Ziemer
Vice-Reitor
Valter Kuchenbecker

Pró-Reitor de Administração
Ricardo Müller

Pró-Reitor de Graduação
Ricardo Prates Macedo

Pró-Reitor Adjunto de Graduação

Pedro Antonio Gonzalez Hernandez

Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação

Erwin Francisco Tochtrop Júnior

Pró-Reitor de Extensão e Assuntos Comunitários

Ricardo Willy Rieth

Capelão Geral
Gerhard Grasel

Ouvidor Geral
Sara Beatriz del Cueto Moraes

VETERINÁRIA EM FOCO

Disponível eletronicamente no site
www.ulbra.br/veterinaria/ffoco.htm

Indexadores
AGROBASE - Base de Dados da Pesquisa
Agropecuária (BDPA), CAB Abstracts, LATINDEX

Comissão Editorial
Prof. Ms. Carlos Santos Gottschall
Profa. Dra. Norma Centeno Rodrigues
Prof. Dr. Sérgio José de Oliveira

Conselho Editorial
Prof. Dr. Adil K. Vaz (Univ. Estadual de Lages)
Prof. Dr. Angelo Berchieri Jr. (UNSSP - Jaboticabal)

Prof. Dr. Antonio Bento Mancio (UFMG)
Prof. Dr. Carlos Tadeu Pippi Salle (UFRGS)
Profa. MSC Cristine Bastos Dossin Fischer (ULBRA)
Prof. Dr. Eduardo Malschitzky (ULBRA)
Prof. Dr. Emerson Contesini (UFRGS)
Prof. Dr. Francisco Gil Cano (Univ. Murcia/ Espanha)
Prof. Dr. Franklin Riet-Correa (UFPEL)
Prof. Ms. João Sérgio Coussirat de Azevedo (ULBRA)
Prof. Dr. Joaquim José Ceron (Univ. Murcia/Espanha)
Prof. Dr. Julio Otávio Jardim Barcellos (UFRGS)
Prof. Dr. Luiz Alberto Oliveira Ribeiro (UFRGS)
Prof. Dr. Luiz Cesar Fallavena (ULBRA)
Profa. MSC Maria Helena Amaral (CRMV/RS)
Profa. Ms. Mariangela da Costa Allgayer (ULBRA)
Prof. Paulo Ricardo Centeno Rodrigues (ULBRA)
Prof. Dr. Paulo Ricardo Loss Aguiar (ULBRA)
Dra. Sandra Borowski (FEPAGRO)
Prof. Dr. Victor Cubillo (Univ. Austral do Chile)
Prof. Dr. Waldyr Stumpf Junior (EMBRAPA)

Secretaria do Curso de Medicina Veterinária
ULBRA - Av. Farroupilha, 8001 - Canoas - Prédio 60 - Sala 01
CEP: 92425-900 - Fone/fax: (51) 3477.9284
E-mail: secagrarias@ulbra.br
Carlos Gottschall: carlostgott@cpovo.net
Sergio Oliveira: serjol@terra.com.br

Editora da ULBRA
Diretor - Astomiro Romais
Coordenador de periódicos - Roger Kessler Gomes
Capa - Everaldo Manica Ficanha
Editoração - Roseli Menzen

Endereço para permuta
Universidade Luterana do Brasil
Biblioteca Central - Setor Aquisição
Av. Farroupilha, 8001 - Prédio 05
CEP: 92425-900 - Canoas/RS, Brasil
E-mail: bibpermuta@ulbra.br

Solicita-se permuta
We request exchange
On demande l'échange
Wir erbitten Austausch

Matérias assinadas são de responsabilidade dos autores.
Direitos autorais reservados. Citação parcial permitida
com referência à fonte.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação - CIP

V586 Veterinária em foco / Universidade Luterana do Brasil. – Vol. 1, n. 1
(maio/out. 2003). –
Canoas : Ed. ULBRA, 2003-
v. ; 27 cm.

Semestral.

ISSN 1679-5237

1. Medicina veterinária – periódicos. I. Universidade Luterana do Brasil.

CDU 619(05)



35º conbravet

Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária

1º Encontro de Saúde Veterinária do Conesul

17º Congresso Estadual de Medicina Veterinária

3º Congresso Estadual da Anclivepa/RS

5º Congresso de Médicos Veterinários do Conesul

11º Expovet – Feira de Produtos e Serviços e Serviços em Medicina Veterinária

19 a 22 de outubro de 2008 - ExpoGramado - Gramado/RS

Comissão Organizadora – 35º CONBRAVET

Presidente do Evento

Dr. Gilson Renato Evangelista de Souza

Comissão de Relacionamento

Dra. Marilisa Costa Petry – Presidente da Comissão de Relacionamento

Comissão Científica

Dra. Mariah Angélica Zollin de Almeida – Presidente da Comissão Científica

Dr. Albino Belotto – Saúde Pública

Dr. Aley Cheuichi – História da Veterinária

Dr. Alexandre de Carvalho Braga – Virologia

Dr. Bernardo Todeschini – Políticas Sanitárias

Dr. Carlos Eduardo W. Nogueira – Equinos

Dr. Carlos Gottschall – Produção Animal

Dr. Celso Pianta – Leite

Dr. Claudiomar Brod – Leptospirose

Dr. Eduardo Amato – Pequenos Ruminantes

Dr. Eduardo Caldas – Saúde Pública

Dr. Eduardo Malschitzky – Equinos

Dr. Fernando Castilhos Karam – Plantas Tóxicas

Dr. Flávio Antônio Pacheco de Araújo – Consultor

Dr. Gilfredo Darsie – Biossegurança

Dra. Gloria Jancowski Boff – Toxicologia / Segurança no Trabalho

Dr. João Antonio Tadeu Pigatto – ANCLIVEPA

Dr. João Ricardo Martins – Parasitologia

Dr. Julio Barcellos – Produção Animal

Dr. Lauro Vargas – Aqüicultura
Dr. Luis Cardoso Alves – Imagens
Dra. Mariah Angélica Zollin de Almeida – Mercado de Trabalho
Dr. Mario Renck Real – Homeopatia
Dr. Moacir Cerqueira da Silva – Consultor
Dra. Norma Centeno Rodrigues – Ensino / Bem-Estar / Direito dos Animais
Dr. Paulo Ricardo Loss Aguiar – Clínica de Bovinos
Dr. Paulo Roberto Moreira Ene – Produção Animal
Dr. Rafael Renner – Bem-Estar Animal
Dra. Raquel Von Hohendorff – Animais Silvestres
Dra. Rosane Maia Machado – Espaço Livre
Dra. Susana Cardoso – Inspeção Produtos de Origem Animal
Dra. Telma Abdalla – Biossegurança

Avaliadores de trabalhos e áreas temáticas desta edição

Alexandre de Carvalho Braga
Benito Brito
Bernardo Todeschini
Carlos Eduardo W. Nogueira
Celso Pianta
Eduardo Amato
Eduardo Caldas
Fernando Castilhos Karam
Gilfredo Darsie
Gloria Jancowski Boff
João Antonio Tadeu Pigatto
João Ricardo Martins
Júlio Barcellos
Lauro Vargas
Luisa Maria Gomes de Macedo Braga
Luiz Alberto Oliveira Ribeiro

Maria Angelica Zollin de Almeida

Norma Centeno Rodrigues

Paulo Ricardo Loss Aguiar

Raquel Von Hohendorff

Sandra Borowski

Susana Cardoso

Telma Abdalla

Sumário

102 Editorial

Artigos científicos

- 103** Avaliação de pressão arterial em eqüinos com síndrome cólica
Adriana Machado de Campos de Caroli, Carla Bargi Belli
- 111** Análise do sêmen e morfometria da cabeça espermática em diferentes porções do epidídimo em touros de corte
Débora N. Sodré, Carlos Eurico Fernandes, Adriane L. Zart, Laryssa J. F. Campos
- 116** Efeito do frame e da altura de garupa sobre o desempenho reprodutivo de novilhas Braford
Leonardo de Melo Menezes, Cássio Cassal Brauner, Felipe Geraldtes Pappen, Jean Pierre Martins Machado, José Carlos Ferrugem Moraes, Marcelo Alves Pimentel
- 121** Avalia o do bem-estar animal em bovinos abatidos em frigorífico do Pará
Giselda Rodrigues Nascimento, Wagner Borges Rodrigues, Nekita  vely Ximenes Martins, Francisca Elda Ferreira Dias, Tânia Vasconcelos Cavalcante, Fagner Luiz da Costa Freitas, Mateus Hernandes Leira, Katyane de Sousa Almeida
- 128** Caracteriza o da raiva dos herbívoros no estado da Bahia, no período de 2006 a 2007, utilizando técnicas de geoprocessamento
J. C. M. Santos, M. G. O. G. Campana, T. A. C. Maia, L. G. Moura, J. N. M. Alves, T. Peneluc, J. R. L. Ribas
- 134** Expressão da COX-2 nos carcinomas mamários de cadelas
Lorena G. R. Ribeiro, Karine. A. Damasceno, José M. Costa Neto, Mário Jorge M. H. D'Assis, Altemar T. Costa, Nairléia S. Silva, Paulo Henrique P. Aguiar, Geovanni D. Cassali, Alessandra Estrela-Lima
- 140** Imunorreatividade   glicoproteína-p nos diferentes tipos citomorfológicos de tumor venéreo transmissível canino
Lu z Fernando Jantzen Gaspar, Anne Santos do Amaral, Sandra Bassani-Silva, Noeme Sousa Rocha
- 147** Níveis de metais pesados em piramutabas (*Brachyplatystoma vailantii*) capturadas na Baía de Marajó e comercializadas no município de Belém/PA
E. C. V. Colino, D. da C. Palheta, A. F. Saraiva, E. C. Cardoso

- 154** Xantana como adjuvante em vacina contra herpes suíno tipo 1
Talita B. Roos, Carina M. Moraes, Telmo Vidor, Claire T. Vendruscolo, Fábio P. L. Leite
- 159** Pesquisa de genes de virulência em *Salmonella* Hadar em amostras provenientes de material avícola
Marco Aurélio de Oliveira Cesco, Francielli Cordeiro Zimmermann, Diana Bertani Giotto, João Guayba, Anderlise Borsoi, Sílvio Luís Rocha, Hamilton L. S. Moraes, Vladimir Pinheiro Nascimento
- 165** Avaliação hematológica de nove pingüins-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*, Foster 1781) mantidos em cativeiro
Shanna Destri Emmerick Campos, Júlia Mara Dourado Sóccio, Renata Rezende Guedes Correia Oliveira, Pedro Bittencourt Velho, André Luiz Paiva Sena Maia, Ananda Müller Pereira, Nádia Regina Pereira Almosny
- 172** O mapa conceitual como estratégia de aprendizagem significativa na formação da Medicina Veterinária
Bruna Helena Kipper, Maria Helena dos Santos, Carlos Efrain Stein
- 179** Veterinário mirim: ferramenta na educação em saúde e promoção de cultura sobre guarda responsável e bem-estar animal no município de Pinhais/PR
Cristiane da Conceição de Barros, Raquel Pampuch, Alexander Welker Biondo, Antonio Felipe Paulino de Figueiredo Wouk, Roberson José Annunziato, Dorli da Silva Junior Amora, Graziela Ribeiro da Cunha, Karina Francini Braga, Bruna Sczepanski, Jonatas Campos de Almeida
- 185** Parasitos de animais silvestres com potencial zoonótico no Rio Grande do Sul
Gertrud Müller, Tatiana Cheuiche Pesenti, Carolina Silveira Mascarenhas
- 191** Normas editoriais

Editorial

É com imensa satisfação que lançamos eo volume 6, nº 2 da revista *Veterinária em Foco*, abrindo um espaço para a divulgação dos melhores trabalhos científicos inscritos e selecionados conforme critérios da Comissão avaliadora do 35º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária (CONBRAVET).

O 35º CONBRAVET promovido pela Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária (SBMV) e Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul (SOVERGS) realizado na cidade de Gramado, Rio Grande do Sul, entre os dias 19 e 22 de outubro de 2008, contou com 2.041 participantes e 1.048 trabalhos inscritos. O evento trouxe como tema “A veterinária no contexto qualidade de vida humana, bem-estar animal e respeito ao meio ambiente”, com o intuito de discutir o papel do médico veterinário na construção de uma sociedade mais consciente que nos una enquanto espécie e promova nossa distinção enquanto indivíduos. A ampla programação científica, composta por 40 painéis e 105 palestras em diferentes áreas temáticas, demonstra a importância e pujança do evento. Foram envolvidos 252 palestrantes e painelistas integrando o conhecimento entre profissionais liberais e de diferentes Instituições de Pesquisa e Universidades, provenientes do Brasil, Argentina, Chile, Espanha, Estados Unidos, Inglaterra, Paraguai e Uruguai.

Como veículo de divulgação técnico-científico, ficamos extremamente honrados de podermos compartilhar de um evento dessa magnitude e contribuir para a divulgação dos melhores trabalhos. Temos a certeza de que a tarefa da Comissão Avaliadora deve ter sido muito árdua e difícil em eleger os 14 melhores trabalhos em meio a mais de um milhar. A interação entre o ensino, pesquisa e extensão, integrando o conhecimento científico materializado pela experiência de diferentes profissionais, resume o objetivo principal dessa publicação, que contempla diferentes áreas da Ciência Veterinária.

Finalmente gostaríamos de agradecer à Comissão Organizadora do 35º CONBRAVET e a SBMV e SOVERGS por oportunizarem a nossa contribuição como meio de divulgação e instrumento de desenvolvimento e fortalecimento intelectual e científico da Medicina Veterinária Brasileira.

Comissão Editorial

Avaliação de pressão arterial em eqüinos com síndrome cólica

Adriana Machado de Campos de Caroli
Carla Bargi Belli

RESUMO

A cólica eqüina, síndrome de alta ocorrência, vem acompanhada de desidratação e hipovolemia, devendo ser corrigida rapidamente. A avaliação da pressão arterial, embora não utilizada rotineiramente, é um bom indicador da condição cardiovascular e um parâmetro menos subjetivo a ser avaliado nesses pacientes. Este trabalho visou à mensuração da pressão arterial, através do método indireto na artéria coccígea, de eqüinos com síndrome cólica, antes e após a fluidoterapia, e sua comparação com grupos de animais submetidos e não ao estresse de transporte, sem alterações circulatórias. Nos animais com cólica, as avaliações foram realizadas antes, após metade do volume e ao final da fluidoterapia. O estresse de transporte aumentou a pressão arterial dos animais, não havendo diferença em relação aos cavalos com cólica, provavelmente devido às alterações de hipovolemia neste último grupo. Quanto maior a desidratação dos cavalos com cólica, menor o valor da pressão arterial. Ao instituir a fluidoterapia, ocorre restabelecimento da pressão em eqüinos com baixos valores da mesma no início do atendimento. Já animais que possuem pressão arterial normal ou alta tendem a manter ou elevar discretamente a pressão. A maioria dos animais com cólica com baixa pressão arterial veio a óbito. Concluiu-se que o método utilizado é de fácil execução, principalmente para pressão sistólica, sendo a mesma de grande auxílio em casos de cólica, possuindo alta correlação inversa com desidratação. Valores muito baixos de pressão arterial em casos de cólica indicam mau prognóstico, não sendo possível determinar um valor de corte pelo pequeno número de animais analisados.

Palavras-chave: Cólica. Eqüinos. Desidratação. Pressão Arterial.

Arterial pressure assessment in horses with colic

ABSTRACT

The equine's colic, a syndrome of high incidence, occurs together with dehydration and hypovolemia, which must be quickly addressed. The assessment of blood pressure, although not routinely used, is a good indicator of cardiovascular condition and a less subjective parameter to be evaluated in these patients. This work aimed at measuring the arterial blood pressure, through the indirect method by the coccygeal artery in horses with colic syndrome before and after the fluid therapy, and comparisons were made among groups of animals that did and did not suffer stress from transportation, without circulatory modification. In animals with colic the evaluation was performed before the fluid therapy, after half of the volume and at the end of the fluid therapy. The stress caused by transportation increased the animals' arterial blood pressure, but no significant differences were measured on the animals with colic, probably due to alterations caused by the hypovolemia on this group. The greater the dehydration

Adriana Machado de Campos de Caroli é Aluna de Graduação FMVZ/USP.

Carla Bargi Belli é Professora Doutora do Departamento de Clínica Médica da FMVZ/USP.

Endereço para correspondência: Carla Bargi Belli – FMVZ/USP, Departamento de Clínica Médica. Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87 – Cidade Universitária – São Paulo/SP – CEP: 05508-270.

Veterinária em Foco	Canoas	v.6	n.2	p.103-110	jan./jun. 2009
---------------------	--------	-----	-----	-----------	----------------

levels on the horses with colic syndrome, the lower the arterial blood pressure values. As soon as the fluid therapy starts, the low arterial blood pressure indexes from the beginning of the procedure were reestablished. The animals with normal or high arterial blood pressure usually kept those indexes or elevated them a little. The majority of the studied horses that had low values of arterial blood pressure and colic died. The present work presents an easy method to measure the systolic blood pressure, being especially helpful in colic cases, which have a high inverse correlation with dehydration. Lower values of arterial blood pressure in colic syndrome indicate a poor prognosis, though it was not possible to determine a bottom line due to the small amount of studied animals.

Keywords: Colic. Equine. Dehydration. Arterial pressure.

INTRODUÇÃO

A cólica eqüina é uma síndrome de alta ocorrência e importância, e as principais alterações orgânicas que o animal pode apresentar situam-se na esfera das manifestações hemodinâmicas. A administração de fluidos é necessária para repor o líquido que está sendo perdido ou seqüestrado durante os distúrbios gastrintestinais, mantendo a volemia, a função cardiovascular, perfusão tecidual e oxigenação (WHITE II, 1990).

A quantidade de líquido a ser repostado leva em consideração a porcentagem de desidratação do animal (GOLOUBEFF, 1993) que é, em termos práticos, mensurada através da análise da elasticidade da pele, do tempo de preenchimento capilar, da umidade das mucosas e do hematócrito (SEAHORN; CÖRNICK-SEAHORN, 1994).

Métodos menos subjetivos para avaliar o estado de desidratação incluem a determinação da pressão sanguínea sistêmica (WHITE II, 1990). Estudos mostram que a mensuração da pressão arterial coccígea revela-se um excelente guia prognóstico por permitir uma avaliação objetiva da condição circulatória do paciente (PARRY, 1994b).

A medição da pressão arterial é uma técnica precisa que detecta alterações cardiovasculares graves antes de ocorrer alteração na frequência cardíaca (GOLOUBEFF, 1993). Sua mensuração é importante tanto para estabelecer a linha de base antes do início da fluidoterapia quanto para indicar uma efetiva restauração do volume hídrico durante a mesma (SEAHORN; SEAHORN, 2003).

Com aferição na artéria coccígea, local preferencial para esta medida, os valores são usualmente registrados como CUCV (valores coccígeos não corrigidos). Eles podem ser utilizados dessa forma ou então corrigidos para o nível cardíaco (do “ombro”, ou seja, da articulação escápulo-umeral), adicionando ao registro CUCV a diferença em centímetro entre o nível do “ombro” e o local da mensuração da pressão multiplicado por 0,77 (PARRY, 1994a).

A pressão sistólica normal eqüina varia entre 80 e 140 mmHg CUCV. Casos de cólica que apresentam pressões sistólicas superiores a 100mmHg CUCV têm um índice de sobrevivência de 95%. Aqueles cujo valor é menor que 60mmHg CUCV têm um índice de sobrevivência de apenas 10% (PARRY, 1994b).

A aferição da pressão sistólica em casos de cólica, comparado com outros parâmetros, apresentou-se como o teste isolado que teve melhor valor prognóstico,

classificando 86% dos casos de vida ou morte. Analisada conjuntamente com concentração de lactato sanguíneo, uréia sérica e hematócrito permitiu a classificação de 93% dos casos (PARRY et al., 1983a). Em casos de cólica, a pressão diastólica apresenta um menor valor prognóstico que a pressão sistólica (PARRY, 1994a).

Este trabalho visou a mensuração da pressão arterial de forma indireta de eqüinos adultos com síndrome cólica, antes e após a fluidoterapia, e sua comparação com valores de pressão de animais não submetidos a dor ou alterações circulatórias (eqüinos saudáveis e eqüinos transportados para atendimento), na tentativa de estabelecer os valores de pressão arterial em eqüinos com e sem Síndrome Cólica, estimativa da desidratação, sua melhora com a fluidoterapia e o valor prognóstico desses resultados.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 40 eqüinos adultos, os quais foram distribuídos em 3 grupos: Grupo 1, contendo 20 eqüinos clinicamente saudáveis e não submetidos ao estresse de transporte; Grupo 2, com 10 eqüinos transportados para atendimento, sem enfermidades que causassem dor ou alteração circulatória; Grupo 3, com 10 eqüinos com sintomas de Síndrome Cólica.

A pressão arterial foi mensurada pelo método indireto na artéria coccígea, utilizando-se um esfigmomanômetro e um Doppler vascular. A cada aferição foram realizadas três leituras consecutivas e a média entre as três foi registrada como valor final da pressão arterial. A pressão arterial média foi calculada como a média aritmética das pressões sistólica e diastólica. Os valores obtidos foram corrigidos para o nível cardíaco, através da adição do fator de correção (PARRY, 1994a).

Para os grupos 1 e 2 foi realizada apenas uma avaliação, tomando-se apenas o cuidado de realizar a medida da pressão arterial dos animais do Grupo 2 durante a fase de atendimento clínico, logo após admissão no hospital. Para os animais do Grupo 3, foram realizadas mensurações em três tempos diferentes: antes da instituição da fluidoterapia; após fornecimento de metade do volume total de fluido, e após término da fluidoterapia. A desidratação foi estimada através da avaliação do turgor de pele, do TPC e do hematócrito, segundo tabela apresentada por Seahorn e Cornick-Seahorn (1994), e o volume a ser repostado foi calculado pela multiplicação do peso do animal pela porcentagem estimada de desidratação.

Os animais do Grupo 3 foram acompanhados e classificados quanto a sua evolução. Dessa forma, foram criadas 3 categorias, sendo elas: Categoria 1 – animais que receberam alta do hospital com resolução completa do quadro; Categoria 2 – animais que evoluíram para óbito em consequência do diagnóstico inicial; Categoria 3 – animais que evoluíram para óbito devido a outras complicações, sem relação com diagnóstico inicial.

Os resultados de pressão arterial sistólica, diastólica e média corrigidas obtidos nos três grupos foram analisados estatisticamente e comparados entre si, além de comparados os valores obtidos nos três diferentes momentos de avaliação dos animais do Grupo 3. Os resultados foram analisados e comparados através de média e desvio padrão. Utilizou-se o teste de ANOVA e o teste de comparação múltipla de Tukey, teste de Fisher e teste de regressão linear, conforme a necessidade. Utilizou-se para estas avaliações o programa de

computador GrafPad InStat™ (GraphPad Software, versão 3.01, 1998), considerando-se $P < 0,05$ para indicar significância estatística.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A técnica de mensuração da pressão arterial pelo método indireto na artéria coccígea mostrou-se de fácil execução. Isso se aplica principalmente à pressão arterial sistólica (PAS), sendo o aparecimento do som facilmente percebido. Já a pressão arterial diastólica (PAD), apresenta dificuldade inicial para determinação. Com treinamento, em animais com pressão normal ou alta essa dificuldade diminui, porém pode ser impossibilitada em animais com pressão muito baixa.

No presente estudo tem-se, para os animais do Grupo 1, uma média de $112,54 \pm 18,22$ mmHg de PAS e de $69,94 \pm 12,19$ mmHg de PAD, ambas não corrigidas. Estes valores encontram-se, portanto, de acordo com a literatura consultada (PARRY, 1994b). Ainda no Grupo 1, a média obtida para os valores de PAS corrigida foi $124,77 \pm 16,87$ mmHg e de PAD corrigida $82,17 \pm 12,34$ mmHg. A média de pressão arterial média (PAM) corrigida desses animais foi $103,47 \pm 13,95$ mmHg. Nos animais do Grupo 2, a média obtida para os valores de PAS corrigida foi $142,62 \pm 18,08$ mmHg e de PAD corrigida $95,94 \pm 17,95$ mmHg. A média dos valores de PAM corrigida para esses animais foi $119,28 \pm 17,58$ mmHg.

Os animais do Grupo 3 tiveram valores iniciais corrigidos de $133,70 \pm 41,72$ mmHg, $95,37 \pm 29,92$ mmHg e $118,08 \pm 33,51$ mmHg, para PAS, PAD e PAM, respectivamente. Na avaliação realizada quando metade do volume de fluido havia sido instituído, os valores corrigidos para as pressões foram em média $150,58 \pm 27,15$ mmHg, $99,44 \pm 24,28$ mmHg e $126,34 \pm 25,49$ mmHg para PAS, PAD e PAM. Ao final da fluidoterapia, os valores corrigidos das pressões foram em média $151,53 \pm 23,85$ mmHg para sistólica, $98,48 \pm 17,35$ mmHg para diastólica e $125,00 \pm 20,41$ mmHg para média.

Comparando-se os valores de pressão arterial encontrados nos diferentes grupos, observou-se uma diferença significativa entre valores de pressão arterial de equinos submetidos ao estresse de transporte e equinos ambientados ao local de mensuração ($P=0,0126$, $P=0,0198$ e $P=0,0121$ para PAS, PAD e PAM respectivamente), sendo o efeito do estresse de aumentar a pressão. Não foi encontrada diferença estatística significativa entre as pressões arteriais dos animais dos Grupo 1 e 3.

O fato dos animais com cólica também terem sido transportados para o hospital pode explicar a proximidade dos valores encontrados nos Grupos 2 e 3. Outro fato que sabidamente eleva a pressão arterial é a dor. Esse fator estava presente na maioria dos casos de cólica, o que poderia aumentar ainda mais a pressão, fato que não ocorreu provavelmente devido às alterações hemodinâmicas provocadas pela cólica. Assim, a influência do transporte em combinação com a dor é diminuída pela da hipovolemia.

Foi verificada correlação inversa significativa no Grupo 3 entre valores de PAS antes da fluidoterapia e a porcentagem de desidratação ($6,20 \pm 2,30\%$), de forma que quanto maior a desidratação, menor o valor da pressão arterial ($r = -0,8142$; $P=0,0041$).

A relação entre desidratação e pressão arterial já foi descrita por Seahorn e Seahorn (2003) e White II (1990). O uso da PAS pode complementar o exame do animal de forma significativa,

e o fato de ser de fácil e rápida mensuração auxilia muito na avaliação da desidratação, já que a determinação da proteína plasmática total pode não ser acessível em muitos locais. Como a desidratação é muitas vezes analisada com base em parâmetros subjetivos, a introdução de um fator objetivo como a pressão sistólica pode auxiliar positivamente no atendimento.

A evolução da pressão arterial sistólica, diastólica e média ao longo da fluidoterapia, disposta na Tabela 1, não apresentou diferença estatística ($P=0.4457$; $P=0.9396$; $P=0.8037$ para PAS, PAD e PAM).

TABELA 1 – Valores de pressão arterial sistólica, diastólica e média corrigidas dos animais do Grupo 3 antes, na metade e ao final da fluidoterapia.

		Antes	Meio	Fim
1	PAS c.	69,85	126,55	**
	PAD c.	*	*	**
	PAM c.			
2	PAS c.	101,92	126,92	118,52
	PAD c.	61,92	73,52	73,52
	PAM c.	81,92	100,22	96,02
3	PAS c.	147,68	153,08	151,38
	PAD c.	96,38	100,58	93,08
	PAM c.	122,03	126,83	122,23
4	PAS c.	122,19	147,19	**
	PAD c.	80,52	87,19	**
	PAM c.	101,36	117,19	
5	PAS c.	131,29	137,13	134,63
	PAD c.	91,29	97,13	94,63
	PAM c.	111,29	117,13	114,63
6	PAS c.	166,03	166,03	176,03
	PAD c.	111,03	104,36	116,03
	PAM c.	138,53	135,20	146,03
7	PAS c.	148,66	139,49	**
	PAD c.	106,16	92,82	**
	PAM c.	127,41	116,16	
8	PAS c.	76,16	119,49	147,82
	PAD c.	46,16	69,49	92,82
	PAM c.	61,16	94,49	120,32
9	PAS c.	192,44	199,11	**
	PAD c.	144,11	149,11	**
	PAM c.	168,28	174,11	
10	PAS c.	180,78	190,78	180,78
	PAD c.	120,78	120,78	120,78
	PAM c.	150,78	155,78	150,78

* Não foi possível realizar essa avaliação. O valor extremamente baixo impedia a identificação.

**Animal encaminhado para cirurgia após instituído metade do volume de fluido

PAS = Pressão Arterial Sistólica; PAD = Pressão Arterial Diastólica; PAM = Pressão Arterial Média

Apesar de não haver diferença estatística, podia-se notar melhora clínica e restabelecimento de hematócrito, turgor de pele e hidratação, havendo inclusive diferença estatística significativa dos mesmos ao longo da fluidoterapia ($P=0,0033$ para desidratação; $P=0,0021$ para hematócrito e $P=0,0152$ para turgor), com diminuição crescente dos valores. Ao analisar a evolução da pressão arterial em cada caso individualmente, nos animais com valores de pressão muito baixos no início do atendimento houve grande aumento da pressão durante a fluidoterapia. Os animais que já possuíam valores altos de pressão apresentaram manutenção ou discreta elevação. Isso pode ser explicado devido à manutenção da homeostasia, onde o organismo tende a melhorar a pressão e perfusão sanguínea em situações onde há deficiência, tendendo a manter valores de pressão que já estão relativamente normais e efetivos, distribuindo o líquido recebido para os tecidos.

De acordo com as categorias de evolução dos casos de cólica, cinco animais foram enquadrados na Categoria 1, quatro na Categoria 2 e um na Categoria 3. As PAS, PAD e PAM corrigidas dos animais das Categorias 1 e 2 foram comparadas estatisticamente, e não foi encontrada diferença significativa entre os valores médios de pressão desses grupos ($P=0,1369$, $P=0,3999$, $P=0,3454$ para PAS, PAD e PAM). Apesar da diferença não ser significativa estatisticamente, podem ser observados valores de PAS, PAD e PAM muito menores nos animais da Categoria 2, excluindo-se um animal.

Analisando-se os valores de pressão arterial corrigida da Categoria 2, na Tabela 2, três dos quatro animais que vieram a óbito em consequência da cólica apresentavam PAS menor que 101,93mmHg e PAM menor que 81,93mmHg. Esses valores de pressão mostraram-se significativos para avaliação da evolução ($P=0,0476$).

TABELA 2 – Categoria e valores de pressão arterial sistólica, diastólica e média antes da fluidoterapia dos animais do Grupo 3

Animal	Categoria	PAS	PAS corrig.	PAD	PAD corrig.	PAM	PAM corrig.
1	2	63,30	69,85	*			
2	2	105,00	101,92	65,00	61,92	85,00	81,92
3	1	144,60	147,68	93,30	96,38	118,95	122,03
4	3	108,33	122,19	66,66	80,52	87,50	101,36
5	1	116,66	131,29	76,66	91,29	96,66	111,29
6	1	158,33	166,03	103,33	111,03	130,83	138,53
7	1	142,50	148,66	100,00	106,16	121,25	127,41
8	2	70,00	76,16	40,00	46,16	55,00	61,16
9	2	181,66	192,44	133,33	144,11	157,50	168,28
10	1	170,00	180,78	110,00	120,78	140,00	150,78

PAS = Pressão Arterial Sistólica; PAD = Pressão Arterial Diastólica; PAM = Pressão Arterial Média

Avaliando os resultados do Grupo 3, tem-se que 2 dos 4 animais que vieram a óbito devido ao quadro de cólica apresentavam PAS acima de 100mmHg, correspondendo a

50% dos casos de óbito por cólica. Esse resultado difere do apresentado na literatura, que relata porcentagens de 4% (PARRY et al., 1983b) ou 5% (PARRY, 1994b). Essa diferença pode ser explicada pelo diferente número de animais utilizados nos estudos. Como no presente estudo foram apenas 10 animais com cólica, havendo 4 óbitos, tem-se um número restrito de dados para concluir um valor exato confiável no que diz respeito ao prognóstico.

Ao analisar os valores de pressão arterial dos animais de forma individual, pode-se concluir que a hipotensão deve representar maior valor prognóstico comparada a hipertensão. Isso é reforçado por Gay et al. (1977), em trabalho onde os autores encontraram um grande número de animais com baixa pressão que evoluíram para óbito, porém encontraram animais com pressão normal ou alta que tiveram a mesma evolução. Os resultados encontrados no presente estudo mostram-se de acordo com a conclusão mencionada.

CONCLUSÕES

A mensuração da pressão arterial pelo método indireto na artéria coccígea é de fácil execução, principalmente a da pressão arterial sistólica. A pressão sistólica é de grande auxílio em casos de cólica, por possuir alta correlação inversa com a desidratação. Ao instituir a fluidoterapia ocorre aumento e restabelecimento da pressão arterial em animais que possuem baixos valores de pressão no início do atendimento. Animais com valores normais ou altos tendem a manter ou elevar discretamente a pressão arterial com a fluidoterapia. Valores muito baixos de pressão arterial em eqüinos com cólica indicam mau prognóstico, não sendo possível pelo pequeno número de animais analisados determinar um valor de corte.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo).

REFERÊNCIAS

- GAY, C. C. et al. The value of arterial blood pressure measurement in assessing the prognosis in equine colic. *Equine Veterinary Journal*, v.9, n.4, p.202-204, 1977.
- GOLOUBEFF, B. *Abdome agudo equino*. São Paulo: Livraria Varela, 1993. 174 p.
- PARRY, B. W. Practical assessment of the circulatory status of equine colic cases. *Abominal Disease- in equine practice*. The compedium collection. New Jersey: Veterinary Learning Systems Co. p.63-65. 1994a.
- PARRY, B. W. Prognostic evaluation of equine colic cases. *Abominal Disease – in equine practice*. The compedium collection. New Jersey: Veterinary Learning Systems Co. p.34-36. 1994b.

PARRY, B. W.; ANDERSON, G. A.; GAY, C. C. Prognosis in equine colic: A comparative study of variables used to assess individual cases. *Equine Veterinary Journal*, v.15, n.3, p.211-215, 1983a.

PARRY, B. W.; ANDERSON, G. A.; GAY, C. C. Prognosis in equine colic: A study of individual variables used in case assessment. *Equine Veterinary Journal*, v.15, n.4, p.337-344, 1983b.

SEAHORN, J. L.; SEAHORN, T. L. Fluid therapy in horses with gastrointestinal disease. *Veterinary Clinics of North America: equine practice*, v.19, n.3, p.665-679, 2003.

SEAHORN, T. L.; CORNICK-SEAHORN, J. Fluid therapy. *Veterinary Clinics of North America: equine practice*. v.10, n.3, p.517-525, 1994.

WHITE II, N. A. *The equine acute abdomen*. Pensilvania: Lea & Febiger. p.144-145; 160-161. 1990.

Análise do sêmen e morfometria da cabeça espermática em diferentes porções do epidídimo em touros de corte

Débora N. Sodr e
Carlos Eurico Fernandes
Adriane L. Zart
Laryssa J. F. Campos

RESUMO

Os objetivos desse estudo foram estabelecer o perfil seminal e morfométrico da cabeça espermática em diferentes regiões epididimais de touros de corte conforme aptidão reprodutiva. Foram utilizados 101 touros da raça Nelore que, após o exame de sêmen, foram classificados quanto   condi o reprodutiva em aptos e inaptos. Desses, 8 (10,4%) aptos e 7 (29,0%) inaptos foram submetidos a orquiectomia. Foram feitas impressões em lâminas da cabeça, corpo e cauda de um dos epidídimos escolhidos ao acaso, para avalia o da morfologia espermática (rea o de Feulgen) e perfil morfométrico nuclear (colora o de Panótico). Para essa análise, utilizou-se o sistema KS-400 adaptado em microscópio de campo claro, estimando-se as medidas da base, largura, comprimento (μm) e área (μm^2) de, no mínimo, 30 núcleos espermáticos. Houve intera o ($P < 0,05$) entre regiões epididimais e condi o reprodutiva para espermatozóides normais e defeitos de cabeça, gota citoplasmática proximal e cabeça isolada normal. Defeitos de núcleo foram superiores ($P < 0,05$) apenas na cauda do epidídimo ($11,3 \pm 2,2\%$) nos inaptos em rela o aos aptos ($4,0 \pm 2,0\%$). Das mensura es morfométricas, apenas a base apresentou efeito interativo entre região e condi o reprodutiva. Touros inaptos apresentaram maior ($P < 0,05$) estreitamento em todas as regiões epididimais ($2,42 \pm 0,25\mu\text{m}$) em rela o aos aptos ($2,65 \pm 0,23\mu\text{m}$). Da mesma forma, a área do núcleo espermático foi menor nos inaptos ($34,3 \pm 0,22\mu\text{m}^2$) em rela o aos aptos ($35,0 \pm 0,21\mu\text{m}^2$). Conclui-se que há varia es importantes na compacta o da cromatina nuclear espermática em touros com redu o na qualidade seminal e indícios de processo degenerativo testicular. Espermatozóides mais estreitos na base estão associados a maiores percentuais de defeitos nucleares e permanecem ao longo do trânsito epididimal.

Palavras-chave: Morfologia espermática. Morfometria nuclear. Bovinos.

Débora N. Sodr e e Laryssa J. F. Campos são Acad micas de Medicina Veterinária, bolsistas do CNPq, FAMEZ, UFMS, Campo Grande/MS.

Carlos Eurico Fernandes   Professor Orientador, Doutor, Dept. de Patologia, CCBS, UFMS, Campo Grande/MS. E-mail: cefernandes@nin.ufms.br

Adriane L. Zart   Acadêmica de Medicina Veterinária, PIBIC/PROPP, FAMEZ, UFMS, Campo Grande/MS.

Veterinária em Foco	Canoas	v.6	n.2	p.111-115	jan./jun. 2009
---------------------	--------	-----	-----	-----------	----------------

Analysis of the semen and morphometric parameters of the spermatic head in different portions of epididymis in beef cattle bulls

ABSTRACT

The aims of this study were to establish the profile of seminal and morphometric sperm head in different regions of epididymis of beef bulls as reproductive ability. Nelore bulls (n=101) were classified in agreement to semen evaluation and clinic conditions. Of these, 8 (10.4%) apt and 7 (29.0%) inapt were subjected to orchiectomy. Impressions in slides of the caput, corpus and cauda of the epididymis were made for evaluation of sperm morphology (Feulgen stain) and morphometric nuclear profile (Panótico cytologic stain) in bright field microscopy adapted with KS-4000 system. Base, width and length (μm) and area (μm^2) were estimated at least in 30 sperm nucleus. There was interaction ($P<0.05$) between epididymal regions and reproductive condition for normal sperm and head defects, cytoplasmic proximal drop and decapitated sperm. Nuclear defects were higher ($P<0.05$) only in the tail of the epididymis ($11.3 \pm 2.0\%$) in inapt bulls in contrast to apt ($4.0 \pm 2.0\%$). Inapt bulls had higher ($P<0.05$) narrow-base in all regions epididymis ($2.42 \pm 0.25\mu\text{m}$) in relationship to apt ($2.65 \pm 0.23\mu\text{m}$). Similarly, the area of the spermatic nucleus was lower in inapt ($34.3 \pm 0.22\mu\text{m}$) in contrast to apt ($35.0 \pm 0.21\mu\text{m}$). We conclude that there are important variations in the compaction of chromatin nuclear bulls with reduced sperm quality and evidences of testicular degenerative process. Sperm narrower at the base are associated with the largest percentage of nuclear defects that remains along the epididymal transit.

Keywords: Sperm morphology. Nucleus morphometry. Bovine.

INTRODUÇÃO

A análise de importantes defeitos, como os de cabeça e núcleo espermático, na avaliação do sêmen bovino, ainda se baseia na microscópica visual. Embora seja rápida e útil para o diagnóstico, é passível de erros por não permitir a identificação e quantificação de pequenas variações entre subpopulações espermáticas. Ambos os defeitos são os mais importantes para o diagnóstico e prognóstico das alterações reprodutivas no touro, porém sua relação nem sempre pode ser estimada em termos de fertilidade. Neste contexto, diferentes defeitos morfológicos na estrutura nuclear, contorno, forma da cabeça espermática e compactação da cromatina, têm sido empregados com o objetivo de identificar diferenças entre indivíduos e seu impacto sobre a fertilidade (OSTERMEIER et al., 2001). Desta forma, a morfometria digital têm tido usada com resultados promissores em relação a estimativa de diferentes medidas do núcleo espermático e relação com anormalidades na cromatina (FERNANDES et al., 2005).

Análise morfométrica refere-se ao emprego de diferentes medidas em imagens captadas digitalmente com objetivo de estimar e comparar mudanças estruturais em células e tecidos. Sua aplicação é de extrema utilidade no diagnóstico e esclarecimento das alterações histológicas decorrentes de inúmeros processos patológicos (MICKLEM; SANDERSONS, 2001). Nos bovinos, a análise da morfometria do núcleo espermático permite e tem sido útil para estabelecer parâmetros relacionas diretamente com o nível de alterações nucleares provenientes da espermiogênese (BELETTI et al., 2004).

Em touros Nelore, a variação da área da cabeça espermática (μm^2) pode diminuir 21 dias após início de um processo degenerativo por estresse térmico. Isso representa severa alteração na formação e organização nuclear das espermátides, resultando em falhas na integridade da cromatina com subsequente diminuição do tamanho da cabeça espermática (FERNANDES et al., 2005).

Os objetivos deste estudo são estabelecer o perfil seminal em touros com e sem processo degenerativo comparando-o com diferentes regiões epididimais e estimar a variação de medidas morfométricas do núcleo espermático entre distintas regiões epididimais, relacionando-as com o perfil morfológico seminal.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas amostras de 101 touros Nelore de propriedades de Mato Grosso do Sul, com peso variando entre 287 a 862kg e idade entre 2 e 10 anos. Após exame clínico geral e especial, os animais foram submetidos à colheita de sêmen (eletro-ejaculação) e classificados quanto à condição reprodutiva em aptos ($n=77$) quando apresentaram no mínimo 50% de motilidade, vigor 3 e 70% espermatozóides normais; e inaptos ($n=24$), quando apresentaram valores inferiores aos reportados acima. Espermatozóides normais foram quantificados em microscopia de contraste de fase em 1000x.

Do total de animais avaliados, 8 aptos (10,4%) e 7 inaptos (29,0%) foram submetidos à orquiectomia. Fragmentos do parênquima testicular e das regiões da cabeça, corpo e cauda do epidídimo, selecionados ao acaso, foram recuperados e usados em impressões em lâminas para avaliação da morfologia do núcleo espermático pela reação de Feulgen (BARTH; OKO, 19989). Para avaliação dos núcleos espermáticos estimou-se em 200 células (microscopia de contraste de fase, 1000x) os percentuais de vesículas nucleares (pouch, vacúolos, crateras e condensação anormal de cromatina) e defeitos de cabeça (piriforme, estreito na base, estreito e forma anormal).

Para as análises da morfometria da cabeça espermática, impressões dos distintos fragmentos foram coradas com Panótico (BEHMER et al., 2003). Para cada lâmina, a área (μm^2), comprimento (μm), largura superior (μm) e inferior ou base (μm) de, no mínimo, 30 núcleos espermáticos foram mensurados para estimar sua variância entre as regiões epididimais de acordo com a condição reprodutiva. Para isso foi usado o sistema de captação e processamento de imagens digitais KS400-2 (Kontron Elektronik Imaging System) de acordo com Fernandes et al. (2005).

A análise estatística foi feita com base no modelo linear multivariado, verificando-se os efeitos de condição reprodutiva (apto x inapto), região epididimal (cabeça, corpo e cauda) e sua interação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em geral esses resultados do exame de sêmen demonstram os critérios adotados para classificação dos touros mediante exame andrológico e tem sido amplamente usados. Destaca-se que defeitos morfológicos geralmente atribuídos à função epididimal, tais como

defeitos de cauda e de cabeça isolada normal foram superiores nos inaptos, indicando, possivelmente distúrbios nesse segmento do aparelho reprodutivo.

A análise morfométrica, revelou efeito interativo para a base e comprimento (μm). Esse resultado demonstra variações importantes na forma e no tamanho do núcleo espermático durante o trânsito epididimal. Os touros inaptos apresentaram núcleos mais finos e mais longos após liberação para o ducto eferente e região da cabeça epididimal. Isso sugere remodelação diferenciada na forma e contorno da matriz nuclear com origem na espermiogênese e maior tendência na formação de defeitos do tipo delgado na base, delgado e piriforme (BARTH; OKO, 1989). Essa característica nuclear relaciona-se com o maior percentual de vesículas nucleares no corpo e cauda do epidídimo.

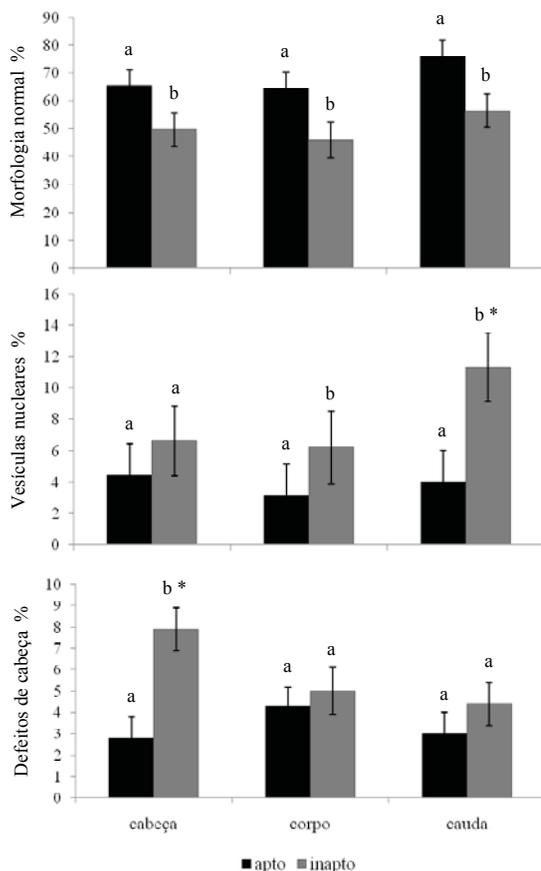


FIGURA 1 – Comparação do percentual médio de espermatozoides com morfologia normal, com vesículas nucleares e defeitos de cabeça pela reação de Feulgen. Letras distintas entre colunas denotam diferença ($P < 0,05$) entre aptos inapto, *denota efeito ($P < 0,05$) entre regiões epididimais.

Embora os resultados deste estudo ainda sejam parciais, é possível inferir que há variações importantes na organização do núcleo espermático em touros com redução na qualidade seminal e indícios de processo degenerativo testicular. Esses aspectos seriam importantes para serem estudados em grandes populações, bem como o seu impacto sobre a fertilidade. Espermatozoides mais estreitos na base estão associados a maiores percentuais de defeitos nucleares e permanecem ao longo do trânsito epididimal constituindo uma subpopulação importante na redução da qualidade seminal em touros de corte.

AGRADECIMENTOS

FUNDECT, CNPq e PROPP/UFMS, pelo apoio financeiro e pelas bolsas de iniciação científica.

REFERÊNCIAS

- BARTH, A. D.; OKO, R. J. *Abnormal morphology of bovine spermatozoa*. Ames: Iowa State University Press, 1989.
- BELETTI, M. E.; COSTA, L. da; VIANA, M. P. A computational approach to characterization of bovine sperm chromatin alterations. *Biot. Histoc.* v.79, n.1, p.17-23. 2004.
- FERNANDES, C. E. et al. Effect of the testicular degeneration on the sperm head morphometry in Nelore bulls. In: ICAR 2004 - *15th International Congress on Animal Reproduction*. Porto Seguro, BA. *Anais...* v.1, p.269. 2005.
- FOOTE, R. H. Fertility estimation: a review of past experience and future prospects. *Anim. Reprod. Sci.* v.75, p.119-139. 2003.
- HORN, M. M.; MORAES, J. C. F.; EDELWEISS, M. A. Evidence of differential selection of spermatozoa in the epididymes of hybrid bulls with altered spermatogenesis. *Rev. Port. Cienc. Vet.*, v.97, p.171-174. 2002.
- MICKLEM, K.; SANDERSONS, J. Digital imaging in pathology. *Cur. Diag. Pat.*, v. 7, p. 131-140. 2001.
- OSTERMEIER, G. C. et al. Relationship of bull fertility to sperm nuclear shape, *J. Androl.*, v.22, p.595-603. 2001.

Efeito do frame e da altura de garupa sobre o desempenho reprodutivo de novilhas Braford

Leonardo de Melo Menezes
Cássio Cassal Brauner
Felipe Geraldes Pappen
Jean Pierre Martins Machado
José Carlos Ferrugem Moraes
Marcelo Alves Pimentel

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do frame e da altura de garupa sobre o desempenho reprodutivo de novilhas de corte. Sessenta e uma novilhas Braford de 24 meses de idade, em boa condição corporal (CC4 em escala de 1-5) foram classificadas em dois grupos, altura de garupa (grupo Alto entre 129 a 135 cm e grupo Baixo entre 118 e 128 cm) e em dois grupos de frame (Maior entre 5.8 a 7.1 e Menor entre 3.5 e 5.7). As variáveis analisadas foram a frequência de novilhas cíclicas e gestantes e o peso pré-acasalamento. Não houve efeito significativo ($P < 0,05$) do frame e altura de garupa sobre a frequência de novilhas cíclicas e gestantes. O peso pré-acasalamento foi maior ($P > 0,05$) no grupo Alto do que no grupo Baixo ($359,4 \pm 3,1$ e $331,4 \pm 3,5$, respectivamente). Em um rebanho de novilhas Braford de 24 meses, pequenas variações na altura de garupa e frame não são capazes de afetar o desempenho reprodutivo das fêmeas. Mesmo havendo uma diferença superior a 25kg no início do acasalamento, as novilhas de diferentes tamanhos apresentaram desempenho reprodutivo igual.

Palavras-chave: Bovinos de corte. Braford. Frame. Novilhas. Reprodução.

Frame effect and hip height on reproductive performance in Braford heifers

ABSTRACT

The objective of this study was evaluated the frame and hip height effects on reproductive performance in beef heifers. Sixty one twenty four months-old Braford heifers, in the same body

Leonardo de Melo Menezes é Médico Veterinário, Mestrando em Zootecnia (PPGZ – FAEM – UFPel) e Pós-Graduando em Administração de Empresas (Fundação Getúlio Vargas – FGV).

Cássio Cassal Brauner é Médico Veterinário, Mestre em Zootecnia e Doutorando em Zootecnia (PPGZ – FAEM – UFPel).

Felipe Geraldes Pappen é Médico Veterinário, Mestre em Veterinária e Doutorando em Veterinária (PPMV – UFPel).

Jean Pierre Martins Machado é Engenheiro Agrônomo, Mestrando em Zootecnia (PPGZ – FAEM – UFPel).

José Carlos Ferrugem Moraes é Doutor, Pesquisador da Embrapa CPPSul.

Marcelo Alves Pimentel é Doutor em Zootecnia, Professor do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

Endereço para correspondência: Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Departamento de Zootecnia. Campus Universitário. CEP 96010-900 – Pelotas/RS – Caixa-Postal: 354.

E-mail: menezes@veterinario.med.br

Veterinária em Foco	Canoas	v.6	n.2	p.116-120	jan./jun. 2009
---------------------	--------	-----	-----	-----------	----------------

condition score (BCS4 in a 1-5 scale) were allocated into two groups by hip height (Alto group between 129 a 135 cm and Baixo group between 118 e 128 cm) and into two groups by frame (Maior between 5.8 a 7.1 scores and Menor between 3.5 e 5.7 scores). The variables analyzed were heifers exhibited ovarian cyclicity and pregnancy frequency and prebreeding weight. There were no significant effect ($P>0.05$) of frame and hip height on heifers exhibited ovarian cyclicity and pregnancy frequency. The prebreeding weight was heavier ($P<0.05$) in the Alto group than in the Baixo group (359.4 ± 3.1 and 331.4 ± 3.5 , respectively). In a 24 months-old Braford herd, small variation in hip height and frame do not affect the reproductive performance. Even with a 25 kg difference in the beginning of breeding season the heifers with different frame have same reproductive performance.

Keywords: Beef cattle. Braford. Frame. Heifers. Reproduction.

INTRODUÇÃO

O início da atividade reprodutiva em fêmeas de corte tem grande influência no desempenho do rebanho de cria. O longo período em que as fêmeas são mantidas na propriedade sem produzir eleva os custos de produção de bezerras, bem como atrasa o processo de seleção genética do rebanho (RESTLE et al., 1999). Na literatura é freqüente a utilização do critério peso como principal instrumento nas avaliações de níveis de crescimento (SCHILLO et al., 1992). Entretanto, nos últimos anos nota-se que aumentou a atenção ao estudo do tamanho corporal adequado para bovinos de corte devido aos requisitos de produção e manutenção que, em última análise, influenciam o grau de maturidade fisiológica de alguns eventos como a puberdade e retorno econômico da atividade (ROCHA et al, 2003). De acordo com Northcutt et al (1992), as mensurações corporais são mais precisas na determinação do tamanho à maturidade do que o peso, uma vez que este pode apresentar flutuações periódicas, e grande variabilidade de acordo com os diversos grupos genéticos dos animais. Estes mesmos autores sugerem que os estudos em termos de peso devem ser ajustados às condições corporais do animal, ou seja, deve ser estabelecida uma relação entre peso e altura.

Buscando facilitar a interpretação e aplicabilidade, as medidas de altura (medida na altura da garupa) são convertidas em *frame scores*. O *frame* de um animal é um índice caracterizado pela relação existente entre peso, sexo e a idade do animal (CARTWRIGHT, 1979; BIF, 2002). Animais de *frame* grande tendem a ser mais pesados em qualquer idade, ter maior quantidade de carne magra na carcaça e ser mais tardios. Animais de *frame* pequeno tendem a ser mais leves, ter maior deposição de gordura e ser mais precoces (BIF, 2002). A aplicabilidade desta medida está na utilização de biotipos adaptados a cada sistema de produção, já que podem ou não produzir uma relação custo/benefício economicamente viável. Em ambientes livres de estresse e alimentação farta, animais de *frame* grande podem ser mais rentáveis, enquanto que em situações adversas são preferíveis animais mais rústicos e de *frame* médio ou pequeno (BUTTRAM et al., 1989). Vários estudos relatam um efeito negativo do aumento do *frame* sobre o desempenho reprodutivo de vacas, afetando idade à puberdade, período de gestação (VARGAS et al., 1999;), índice de concepção, taxa de parição (BUTTRAM et al, 1989), taxa de sobrevivência de terneiros em novilhas e índice de desmama (VARGAS et al, 1999). O

objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do *frame* e altura de garupa sobre o desempenho reprodutivo em novilhas de corte Braford.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas 61 novilhas de corte da raça Braford, com 24 meses de idade média em condição corporal 4, numa escala de 1 a 5 (MORAES et. al. 2006) e peso médio ao início do experimento de 347,3 kg. Os dados coletados foram: altura da garupa (cm), *frame score*, calculado de acordo com metodologia de BIF (2002), ciclicidade (considerada pelo exame das estruturas ovarianas), ao início da estação de acasalamento, com auxílio de ultra-sonografia (BRAUNER et al., 2008), peso e diagnóstico de gestação por palpação retal. Os fatores fixos considerados foram altura de garupa e *frame*. Para altura as novilhas foram divididas em Grupo Alto (entre 129 a 135 cm) e Grupo Baixo (entre 118 e 128 cm); e para *frame* em Grupo Maior (para escores compreendidos entre 5,8 a 7,1) e Grupo Menor (entre 3,5 e 5,7). A frequência de novilhas dentro dos grupos de *frame* e altura dentro dos fatores taxa de gestação e ciclicidade foi analisada através do teste de Qui-quadrado (Cross tabulation). Na análise de variância foram incluídos no modelo como fatores fixos o grupo do *frame* (Maior e Menor) e altura (Alto e Baixo), tendo como variável resposta o peso pré-acasalamento, sendo os dados submetidos à análise de variância (ANOVA GLM). Para análise dos dados foi utilizado o programa NCSS 7.0 (2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta os índices de prenhez, ciclicidade e peso pré-acasalamento das novilhas, de acordo com seus respectivos grupos. Não houve variação ($P>0,05$) nos índices de prenhez e ciclicidade ovariana em função do *frame* e altura de garupa. A única variável que apresentou diferença ($P<0,05$) foi o peso, para o fator altura. Este resultado era esperado, pois animais mais altos tendem a pesar mais, considerando que estas duas características apresentam correlação positiva que varia de 0,53 a 0,73 (VARGAS 2000; BOURDON; BRINKS, 1986). A seleção destes animais em determinados ambientes pode resultar em animais mais tardios e menos eficientes nutricionalmente, levando a um maior tempo para puberdade e menores índices de reprodução (EUCLIDES FILHO et al., 1984; KRESS et al., 1990; PRICHARD; MARSHALL, 1993). Apesar deste indicativo, as novilhas de maior altura nesse trabalho não apresentaram diferenças no desempenho reprodutivo, sendo que foi semelhante os resultados de porcentagem de novilhas cíclicas pré-acasalamento e índice de gestação entre os grupos de maior e menor altura. Neste contexto, sabe-se que a novilha é extremamente sensível ao fator peso (SCHILLO et al., 1992), e neste trabalho a diferença encontrada não interferiu na resposta final, ou seja, no percentual de prenhez. Pelo fato das novilhas estudadas no presente trabalho apresentarem uniformidade de peso e altura, bem como de idade, não foi possível detectar diferenças importantes no desempenho reprodutivo. Porém, existe um indicativo de que as novilhas de altura de garupa e *frame* maiores podem ser selecionadas, pois as características de desempenho reprodutivo foram semelhantes ao outro grupo estudado.

TABELA 1 – Percentuais de gestação e ciclicidade ovariana e peso pré-acasalamento (kg) das novilhas de acordo com respectivo grupo *frame* e altura de garupa.

Fator	Gestação (%)		Ciclicidade (%)		Peso (kg)
	Prenha	Vazia	Anestro	Ciclando	
ALTURA					
Alto (34)	94,1	5,9	50,0	50,0	359,4 ± 3,1 ^a
Baixo (27)	85,2	14,8	40,7	59,3	331,4 ± 3,5 ^b
FRAME					
Maior (34)	94,1	5,9	50,0	50,0	341,8 ± 3,3
Menor (27)	85,2	14,8	40,7	59,3	349,0 ± 3,1
Geral (61)	90,2	9,8	45,9	54,1	345,77

^{ab} P<0,0001

CONCLUSÕES

Em um rebanho de novilhas Braford de 24 meses, pequenas variações na altura de garupa e frame não são capazes de afetar o desempenho reprodutivo das fêmeas. Mesmo havendo uma diferença superior a 25 kg no início do acasalamento, as novilhas de diferentes tamanhos apresentaram desempenho reprodutivo igual.

REFERÊNCIAS

- BEEF IMPROVEMENT FEDERATION. Guidelines, 8.ed. 2002. p.12-34.
- BOURDON, R. M.; BRINKS, J. S. Scrotal circumference in yearling Hereford bulls: Adjustment factors, heritabilities and genetic, environmental and phenotypic relationship with growth traits. *Journal of Animal Science*, v. 62, p. 958-967, 1986.
- BRAUNER, C. C. et al. Reprodução de vacas de corte em lactação e solteiras submetidas à indução/sincronização de estro. *Revista Ciência Rural*, v.38, n.4, p.1067-1072; 2008.
- BUTTRAM, S. T.; WILHAM, R. L. Size and management effects on reproduction in first-second-and third parity beef cows. *Journal of Animal Science*, v.67, p.2191-2196, 1989.
- CARTWRIGHT, T. C. Size as a component of beef production efficiency: cow-calf production. *Journal of Animal Science*, 48, n.4, p.974-980, 1979.
- EUCLIDES FILHO, K.; et al. Medidas de eficiência na produção de terneiros a partir de vacas de tamanho e habilidade leiteira diferentes. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 21, 1984, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: SBZ, 1984. p.138.
- KRESS, D. D.; DOORNBOS, D. E.; ANDERSON, D. C. 1990. Performance of crosses among Hereford, Angus and Simmental cattle with different levels of Simmental breeding: V. Calf production, milk production and reproduction of three- to eight-year-old dams. *J. Anim. Sci.*, 68(7):1910-1921.

MORAES, J. C. F.; JAUME, C. M.; SOUZA, C. J. H. Bovinos: condição corporal e controle da fertilidade. Brasília, DF: *Embrapa Informação Tecnológica*, 2006. 54p.

NORTHCUTT, S. L.; WILSON, D. E.; WILLHAM, R. L. Adjusting weight for body condition score in Angus cows. *Journal of Animal Science*, v.70, p.1342-1345, 1992.

PRICHARD, D. L.; MARSHALL, T. T. Effects of cow size and milk production on nutrient requirements. In: ANNUAL FLORIDA BEEF CATTLE SHORT COURSE, 42, 1993, Gainesville. Proceedings... Gainesville, USA: University of Florida, 1993. p.28-33.

RESTLE, J; POLLI, V. A.; SENNA, D. B. Efeito de grupo genético e heterose sobre a idade e peso à puberdade e sobre o desempenho reprodutivo de novilhas de corte. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.34, n.4, p.701-707, 1999.

ROCHA, E. D. et al. Mature Nelore cow size and its effects on beef cattle production system. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.55, n.4, p.474-479, 2003.

ROSA, A. N. *Variabilidade fenotípica e genética do peso adulto e da produtividade acumulada em matrizes de rebanhos de seleção da raça Nelore no Brasil*. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, 1999. 120p. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, 1999.

SCHILLO, K. K.; HALL, J. B.; HILEMAN, S. M. Effects of nutrition and season on the onset of puberty in the beef heifer. *Journal of Animal Science*, v.70, n.7, p.3994-4005, 1992.

VARGAS, C. A; OLSON, T. A; CHASE JR. et al. Influence of frame size and body condition score on performance of Brahman cattle. *Journal of Animal Science*, v.77, p. 3140-3149, 1999.

VARGAS, C. A. *Estimation of phenotypic and genectic relationship among hip height and productive performance in Brahman cattle*. Gainesville: University of Florida, 2000. 133p. Dissertation (Doctor of Philosophy) – University of Florida, 2000.

Avaliação do bem-estar animal em bovinos abatidos em frigorífico do Pará

Giselma Rodrigues Nascimento
Wagner Borges Rodrigues
Nekita Évely Ximenes Martins
Francisca Elda Ferreira Dias
Tânia Vasconcelos Cavalcante
Fagner Luiz da Costa Freitas
Mateus Hernandez Leira
Katyane de Sousa Almeida

RESUMO

O bem-estar animal está difundido em todas as criações de animais incluindo as etapas de abate, onde se tem o “abate humanitário” que compreende desde o embarque dos animais na propriedade até a operação de sangria. Para se determinar se essas condições estão sendo aplicadas, pode-se avaliar a presença e classificação das contusões nas carcaças, pois estas podem indicar a ocorrência de problemas relacionados ao bem-estar animal. Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar as contusões em um grupo de animais abatidos em um frigorífico do Estado do Pará, verificando sua localização e classificação e relacionando-as com o bem-estar dos animais abatidos e a etapa do processo onde ocorreu o problema. De um total de 800 animais abatidos ao dia, foram selecionados, aleatoriamente, 400 animais divididos em dois grupos, sendo 200 machos e 200 fêmeas. Após a esfola dos animais, as contusões observadas foram registradas quanto à localização e classificadas de acordo com o tempo de aparecimento e grau da contusão. Foi observado que, dos 400 animais, 66% apresentaram contusões, sendo as fêmeas mais acometidas. A maior prevalência foi observada nos quartos, tanto nos machos como nas fêmeas, sendo que os quartos traseiros foram mais acometidos que os dianteiros. Quanto à extensão das lesões, não foram observadas lesões de grau III (que atingissem o tecido ósseo) e, segundo o tempo de aparecimento das contusões, todas foram classificadas como novas, apresentando coloração vermelho escuro e/ou aspecto hemorrágico.

Palavras-chave: Bem-estar animal. Bovinos. Frigorífico.

Giselma Rodrigues Nascimento é Aluna de Medicina Veterinária da UFT.

Wagner Borges Rodrigues é Aluno de Medicina Veterinária da UFT.

Nekita Évely Ximenes Martins é Aluna de Medicina Veterinária da UFT.

Francisca Elda Ferreira Dias é Dra., Curso de Medicina Veterinária – UFT/TO.

Tânia Vasconcelos Cavalcante é Dra., Curso de Medicina Veterinária – UFT/TO.

Fagner Luiz da Costa Freitas é MSc., Curso de Medicina Veterinária – UFT/TO.

Mateus Hernandez Leira é MSc., Curso de Medicina Veterinária – UFT/TO.

Katyane de Sousa Almeida é Dra., Curso de Medicina Veterinária – UFT/TO.

Endereço para correspondência: Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal do Tocantins, Rodovia BR 153, Km 112, Caixa Postal 132, Zona Rural, CEP: 77804-970. E-mail: katyanefreitas@gmail.com

Veterinária em Foco	Canoas	v.6	n.2	p.121-127	jan./jun. 2009
---------------------	--------	-----	-----	-----------	----------------

Evaluation of animal welfare in a cattle abattoir house of the State of Pará, Brazil

ABSTRACT

Animal welfare is widespread in all the animal husbandry including the steps of slaughter, where it has the “humanitarian slaughter” that extends from the shipment of animals in the property until the operation of bleeding. To determine whether these conditions are being applied it is possible to assess the presence and contusions on the classification of carcasses because they may indicate the occurrence of problems related to animal welfare. Thus the present study aimed to evaluate the injuries found in a group of animals cattle slaughtered in an abattoir of the State of Pará – Brazil, described its location and classification as well as the relationship with the animal welfare and the stage of the phase in which the lesions occurred during the killing process. Of a total of 800 animals slaughtered a day, were selected at random, 400 animals divided into two groups with 200 males and 200 females. After the skinning of the animals observed injuries were recorded on location and classified according to the time of onset and degree of contusion. It was observed that of 400 animals, 66% had injuries, were the most frequent in both female cattle. As the extent of the injuries were not observed injuries at grade III and the second time of appearance of injuries, all were classified as new, displaying dark red in colour and / or appearance bleeding.

Keywords: Animal welfare. Bovine. Abattoir.

INTRODUÇÃO

Há algumas décadas, o abate de animais era considerado uma operação tecnológica de baixo nível científico e não se constituía em um tema pesquisado seriamente por universidades, institutos de pesquisa e indústrias (CIVEIRA et al., 2006). A tecnologia do abate de animais destinados ao consumo somente assumiu importância quando se observou que os eventos que ocorrem desde a propriedade rural até o abate do animal tinham grande influência na qualidade da carne (ROÇA, 2002).

Do ponto de vista de produtividade, o trato humanitário dos animais destinados ao sacrifício repercute em benefícios como: menor dano para a carne, menor perda e maior valor atribuído devido principalmente aos poucos defeitos e lesões; menor mortalidade dos animais; melhor qualidade da carne graças a redução do estresse e, melhor qualidade e valor do couro e da pele (FAO, 2001).

Para atender às normas de bem-estar animal dentro das etapas de abate, criou-se então o termo “abate humanitário” que é definido como sendo o conjunto de diretrizes técnicas e científicas que garantam o bem-estar dos animais desde a recepção até a operação de sangria (BRASIL, 2000), incluindo também o embarque na propriedade rural (ROÇA, 2002).

Segundo Almeida (2005), um aspecto prático e objetivo, utilizado para avaliar as condições do pré-abate (transporte, alojamento, descanso e manejo) é a quantificação das contusões observadas nas carcaças dos animais abatidos. A avaliação da extensão das contusões pode indicar a ocorrência de problemas relacionados ao bem-estar animal. Para Civeira et al. (2006), a presença de hematomas é um indicativo de um manejo inadequado,

manejo esse que pode ter ocorrido em qualquer etapa do processo: na propriedade rural, durante o transporte, no desembarque e, no próprio frigorífico.

A extensão das contusões nas carcaças é um indicativo de problemas com o bem estar animal e representa uma forma de avaliação (COSTA et al., 2003). Segundo Renner (2005) as contusões podem ser ainda classificadas de acordo com o tempo de aparecimento da lesão. As contusões novas ou recentes, com menos de um dia de lesão, apresentam-se hemorrágicas e com uma coloração vermelho-escura, enquanto que as consideradas velhas ou antigas, com mais de um dia ou até semanas, mostram-se com uma coloração amarelada.

Por falta de estudos desta natureza nos frigoríficos do Pará, decidiu-se realizar o presente trabalho que objetivou avaliar as contusões em um grupo de animais abatidos em frigorífico localizado em Marabá, Estado do Pará, verificando sua localização e classificação relacionando-as com o bem-estar dos animais e a etapa do processo onde ocorreu o problema.

METODOLOGIA

De um total de 800 animais abatidos ao dia, provenientes de Marabá-PA e regiões circunvizinhas, foram selecionados, aleatoriamente, 400 animais, divididos em dois grupos sendo 200 machos e 200 fêmeas. Após a esfolagem dos animais as contusões observadas foram registradas quanto à localização e ao tempo de aparecimento conforme Renner (2005) sendo:

- Contusões novas ou recentes: lesões hemorrágicas de coloração vermelho escuro
- Contusões velhas ou antigas: coloração amarelada

As contusões observadas nos quartos traseiro e dianteiro foram ainda classificadas em graus segundo a extensão da lesão de acordo com Civeira et al. (2006):

- Grau I: lesões que afetam somente o tecido subcutâneo
- Grau II: lesões que afetam tanto o tecido subcutâneo como o muscular
- Grau III: lesões que afetam tecido subcutâneo, muscular e ósseo

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado que dos 400 animais examinados 66% apresentaram contusões (Tabela 1) sendo 23 % em animais machos e em 43% das fêmeas, o que concorda com os resultados de Grandin (2000), entretanto, no trabalho deste autor foram encontradas lesões antigas, diferindo do presente trabalho. Já nos trabalhos de Renner (2005) e Civeira et al. (2006) essa diferença entre os sexos não foi verificada. Sugere-se que, como as fêmeas

enviadas ao abatedouro são geralmente descartes, estas possivelmente são embarcadas sem cuidados e destinadas à região posterior dos caminhões boiadeiros, onde o pisoteio e os solavancos do transporte são sentidos mais severamente.

TABELA 1 – Percentual de contusões em bovinos abatidos em frigorífico no Estado do Pará, 2008.

Sexo do animal	Número de animais avaliados	Número de animais com presença de contusão (%)
Machos	200	23
Fêmeas	200	43
Total	400	66

As principais causas de contusões são decorrentes da movimentação muito rápida de animais, pisos molhados, escorregadios e irregulares, projeções pontiagudas em portões e paredes, densidades de carga muito elevadas durante o transporte e períodos longos de dieta e estresse crônico (RENNER, 2005). De acordo com Almeida (2005) outros pontos importantes que podem levar à contusão dos animais são a sua mudança de postura durante o transporte e as freadas e curvas em alta velocidade, que podem predispor ao pisoteio dos animais. Essas causas irão refletir em perdas da qualidade de carcaças nos frigoríficos, prejudicando economicamente tanto os produtores rurais, os frigoríficos, e os consumidores, como, principalmente, o responsável pela existência desta cadeia produtiva, o animal (CIVEIRA et al., 2006).

Outro ponto importante são as condições das rodovias no Estado do Pará, em especial na região de Marabá, onde a precariedade das estradas dificulta o transporte. De acordo com Barbosa e Silva (2004) as características das rodovias devem ser levadas em consideração, pois este aspecto está ligado diretamente às condições do estresse provocado por solavancos e trepidações constantes durante o percurso da viagem, o que pode causar, em alguns casos mais sérios, fraturas ou torções nos animais e, conseqüente comprometimento da carcaça.

A maior prevalência das contusões foi observada nos quartos (Tabela 2), tanto nos machos como nas fêmeas, sendo que os quartos traseiros foram mais afetados que os dianteiros. Diversos fatores podem contribuir para este achado, entretanto pode-se verificar que o desnível entre a rampa de recepção e o caminhão era visível (Figura 1) podendo ter contribuído para estas lesões tanto nos quartos dianteiros pelo impulso do animal para sair do caminhão e cair na rampa, como também nos quartos traseiros pelo desequilíbrio causado durante o salto.

TABELA 2 – Localização das contusões em bovinos abatidos em frigorífico no Estado do Pará, 2008.

	Quartos (%)	Lombo e vazio (%)
Machos	78	22
Fêmeas	74	26



FIGURA 1 – Desembarque dos animais em frigorífico no Estado do Pará, 2008.

Segundo Almeida (2005), os bovinos devem ser desembarcados e colocados nos currais de maneira calma e controlada, sendo necessários os mesmos cuidados adotados para o embarque dos animais na fazenda, evitando-se o uso de bastões elétricos ou ferrões para auxiliar os animais a descerem do caminhão, atentando-se para correta inclinação da rampa de desembarque e à possibilidade de escorregamento dos animais, que podem causar fraturas ou torções, comprometendo a qualidade da carne.

O presente trabalho, semelhante ao já observado por Renner (2005) e Civeira et al. (2006), mostrou que a maior prevalência de contusões foi nos quartos, segundo esses autores esse fato se deve provavelmente, devido a utilização de guizos e paus para a condução dos animais. E ainda de acordo com Rodrigues et al. (2003) pode estar relacionado à queda de portões dos caminhões durante o desembarque.

De acordo com a Tabela 3, quanto a extensão das lesões, não foram observadas lesões de grau III nos quartos porém, verificou-se que as lesões de grau I foram mais prevalentes nos machos e as de grau II nas fêmeas isto para o quarto traseiro. Para o quarto dianteiro, prevaleceram as lesões de grau I para ambos os sexos. Segundo o tempo de aparecimento das contusões, todas foram classificadas como sendo contusões novas (Figura 2) se apresentando de coloração vermelho escuro e/ou aspecto hemorrágico, indicando, conforme Renner (2005) ser de ocorrência recente, provavelmente devido ao transporte ou ao manejo realizado no abatedouro.

TABELA 3 – Percentual de acordo com a classificação do grau de contusão nos quartos, traseiro e dianteiro, em bovinos abatidos em frigorífico no Estado do Pará, 2008.

	Traseiro (%)			Dianteiro (%)		
	Grau I	Grau II	Grau III	Grau I	Grau II	Grau III
Machos	77	33	Zero	65	35	Zero
Fêmeas	48	52	Zero	67	33	Zero

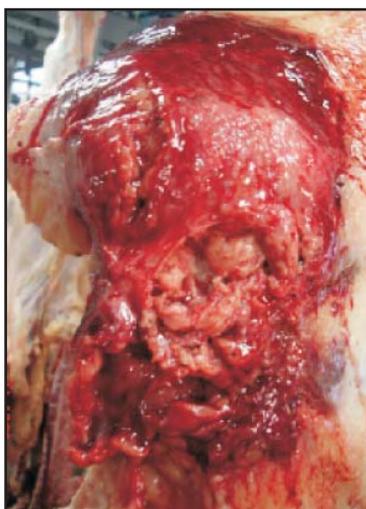


FIGURA 2 – Contusão em bovino abatido em frigorífico no Estado do Pará, 2008.

CONCLUSÃO

Observando os resultados encontrados onde mais da metade dos animais apresentaram contusões, verifica-se a necessidade de melhorias nas condições de manejo dos animais desde a propriedade até o abate, com atenção especial ao transporte visto que as estradas no Pará se apresentam em condições insatisfatórias devido ao logo período chuvoso e ao intenso tráfego de caminhões. Por estarem relacionadas as contusões e as perdas econômicas, é evidente a necessidade de adoção de medidas que visem o bem estar dos animais destinados ao abate.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L. A. M. *Manejo no pré-abate de bovinos: aspectos comportamentais e perdas econômicas por contusões*. 2005. 53f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

BARBOSA, J. A.; SILVA, I. J. Abate humanitário: ponto fundamental do bem-estar animal. *Revista Nacional da Carne*, n.328, 2004.

CIVEIRA, M. P.; VARGAS, R. E. S.; RODRIGUES, N.C.; RENNER, R. M. Avaliação do bem-estar animal em bovinos abatidos para consumo em frigorífico do Rio Grande do Sul. *Revista Veterinária em Foco*, v.4, n.1, p.5-11, 2006.

COSTA, M. P. et al. Manejo e qualidade da carne: bem-estar animal. *Revista Gestão Pecuária*, n.23, p.30, 2003.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations Regional Office for Asia and Pacific. *Abate Humanitário*, 2001. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 03/06/2008.

GRANDIN, T. *Cómo detectar la causa de las contusiones*, 2000. Disponível em: <<http://www.grandin.com/spanish/como.detector.cause.contusimes.html>>. Acesso em: 23 de maio de 2008.

RENNER, R. M. *Fatores que afetam o comportamento, transporte, manejo e sacrifício de bovino*. UFRGS, 2005. 87p. Tese (Especialização em tecnologia dos produtos de origem animal) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

ROÇA, R. O. *Abate humanitário de bovinos*. I conferência virtual global sobre produção orgânica de bovinos de corte, 2002. Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/agenzia/congressovirtual>>. Acesso em 01 jun. 2008.

RODRIGUES, N. C. et al. O. Causas de óbitos em animais durante exposições agropecuárias (Expointer) nos anos de 1996 a 2001. *A Hora Veterinária*. Porto Alegre: v.132, p.24–30, 2003.

Caracterização da raiva dos herbívoros no estado da Bahia, no período de 2006 a 2007, utilizando técnicas de geoprocessamento

J. C. M. Santos
M. G. O. G. Campana
T. A. C. Maia
L. G. Moura
J. N. M. Alves
T. Peneluc
J. R. L. Ribas

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo analisar a distribuição espacial da raiva, antroponozoonose 100% letal, na Bahia, utilizando tecnologias de geoprocessamento, contribuindo com o órgão responsável para seu controle. Foram estudados 79 casos de raiva nas espécies bovina, eqüina, caprina e ovina, através das notificações dos casos de raiva dos herbívoros no Estado, juntamente com os identificação dos relatórios de visitas às propriedades no período compreendido entre janeiro de 2006 a agosto de 2007, bem como, através dos resultados positivos confirmados laboratorialmente e pelos arquivos da Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia. A espécie bovina representou o principal animal envolvido na doença. Pode-se observar que a Raiva está distribuída por todo Estado, no entanto, a identificação de áreas sem notificação, como as Coordenadorias de Paulo Afonso e Guanambi, cercadas por área de risco, sugere uma situação de sub-notificação, o que implica na necessidade de maior vigilância epidemiológica para a doença, além do incremento de educação sanitária da população dessas áreas. O Sistema de informação geográfica permitiu a manipulação, espacialização e visualização dos dados, sendo fundamental para a análise da situação epidemiológica evidenciada. O Geoprocessamento permitiu ainda iniciar a formação de um banco de dados com todas as variáveis importantes para a patologia em questão.

Palavras-chave: Raiva dos herbívoros. Geoprocessamento. Saúde pública.

Characterization of rabies of herbivores in the State of Bahia, the period 2006 to 2007 using technologies of geoprocessing

ABSTRACT

This study aimed to analyze the spatial distribution of rabies, antroponozoonose 100% lethal in Bahia, using technologies of geoprocessing, contributing to the government organization responsible for its control. It was studied 79 cases of rabies in cattle, horse, sheep and goats through the notifications of cases of rabies in the state of herbivores, together with the identification of reports of visits to the

J. C. M. Santos, M. G. O. G. Campana, T. A. C. Maia, L. G. Moura e J. N. M. Alves são Especialistas.
T. Peneluc e J. R. L. Ribas são Mestres.

Endereço para correspondência: Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB) – Avenida Adhemar de Barros, 967, Ondina, Salvador –Bahia. CEP: 40.170-110

Veterinária em Foco	Canoas	v.6	n.2	p.128-133	jan./jun. 2009
---------------------	--------	-----	-----	-----------	----------------

properties in the period January 2006 to August 2007, and, through the positive results confirmed by laboratory and files of the Agency for Defense Agropecuaria State of Bahia. Bovine were involved in the major animal disease. It can be observed that the Rabies is spread across the State, however, the identification of areas without notification, and the Coordination for Paulo Afonso and Guanambi, surrounded by area of risk, suggests a situation of under-reporting, which involves need for greater surveillance for the disease, in addition to increased health education of the population of these areas. The Geographical Information System has allowed the manipulation, and spatial visualization of data, is central to the analysis of the epidemiological situation highlighted. The Geoprocessing yet allowed to start training for a database with all the important variables for the disease in question.

Keywords: Rabie of herbivores. Geoprocessing. Public Health.

INTRODUÇÃO

O estado da Bahia, cuja capital é Salvador, está situado ao sul da região Nordeste, faz divisa com oito estados, possui 417 municípios e uma área de 564.669 km². O clima tropical é predominante apresentando distinções quanto aos índices de precipitação nas diferentes regiões (IBGE, 2005).

A raiva é uma zoonose responsável por encefalomielite aguda e invariavelmente fatal, atingindo todos os mamíferos inclusive o Homem (ACHA; SZYFRE, 2003; CEARÁ, 2005), causada por um vírus da família *Rabdoviridae*, gênero *Lyssavirus*, que ataca o Sistema Nervoso Central (SNC). A transmissão do vírus, contido na saliva do animal, se dá pela sua penetração através da mordedura e lambedura (PARÁ, 2004).

Todas as espécies de sangue quente podem ser acometidas de raiva, contudo relatos demonstram que no Brasil a incidência maior é em bovinos, eqüídeos e caninos (SILVA, 2000). A raiva dos herbívoros é responsável por enormes prejuízos econômicos diretos na América Latina, da ordem de 30 milhões de dólares/ano, sendo que no Brasil este valor se aproxima de 15 milhões de dólares, com a morte de cerca de 40.000 cabeças bovinas (SÃO PAULO, 1998). Além de gastos indiretos que podem ocorrer com a vacinação de milhões de bovinos e inúmeros tratamentos pós-exposição (sorovacinação) de pessoas que mantiveram contato com animais suspeitos (BRASIL, 2005).

O geoprocessamento permite a rápida apresentação de mapas, bem como a superposição e interação entre estes, trabalhados como camadas ('layers') contendo diferentes informações. Para isso, deve contar com bases de dados que estejam relacionadas às unidades espaciais, o que traz problemas comuns a outros sistemas de informação, como a acessibilidade, qualidade e atualização de dados (MORAES, 1994).

A análise em um SIG possibilita integrar informações referentes aos fatores de risco para o desenvolvimento de doenças permitindo o mapeamento de zonas de risco, o que pode contribuir na prevenção e controle, uma vez que permite delinear intervenções com o objetivo de reduzir as populações de vetores, controlar as populações de reservatório e implementar ações de vigilância (CORREIA et al., 2004).

Num país de dimensão continental como o Brasil, com uma grande carência de informações adequadas para a tomada de decisões sobre os problemas urbanos, rurais

e ambientais, o Geoprocessamento apresenta um enorme potencial, principalmente se baseado em tecnologias de custo relativamente baixo, em que o conhecimento seja adquirido localmente. Neste sentido, o presente trabalho objetivou mapear as áreas de ocorrência da raiva dos herbívoros no estado da Bahia e, desta forma, fornecer subsídios através do geoprocessamento auxiliando a defesa sanitária animal e saúde pública.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se base cartográfica SICAR/RMS produzida pela Companhia de Desenvolvimento Urbano do Estado da Bahia, no ano de 2003. As informações cartográficas foram digitalizadas na escala de 1:2.000, projeção Universal Transversa Mercator – UTM, Zona 24, Meridiano Central 39°W (CONDER, 2000). Foram pesquisadas as notificações dos casos de raiva dos herbívoros na Bahia juntamente com os relatórios de visitas às propriedades, nos anos de 2006 e 2007, através dos resultados positivos confirmados laboratorialmente pelo Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN) e dos arquivos da Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Estado da Bahia (ADAB).

As visitas às propriedades foram realizadas de acordo com as notificações de suspeita de raiva, e em todas elas foram coletados fragmentos de cérebro devidamente identificados e enviados ao laboratório de referência do estado. As coordenadas geográficas dos focos foram obtidas durante as visitas através do GPS (Garmin) e lançado em formulário próprio (FORM-IN). Com esses dados, foi possível a confecção de mapas com a distribuição destes focos e conseqüentemente, a identificação das áreas de risco. As seguintes informações foram registradas: coordenadoria, município, dia, mês e ano de ocorrência, nome do criador, propriedade, espécie animal, coordenadas geográficas e resultado laboratorial.

As informações foram tabuladas em Excel 2000 e transferidas para o Sistema de Informações Geográficas (SIG), através do “software” Arc View 3.3 (Environmental Systems Research Institute – ESRI, 1996).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se a ocorrência da raiva dos herbívoros em 13 (treze) coordenadorias regionais e o Escritório local de Salvador entre os anos de 2006 e 2007, podendo com isso considerar a Bahia como área endêmica para a doença. As coordenadorias regionais de Guanambi e Paulo Afonso não registraram ocorrência da doença. Entretanto algumas coordenadorias regionais registraram a ocorrência em 01(um) único ano (Santa Maria da Vitória, Irecê, Miguel Calmon, Salvador, Itabuna, Itapetinga e Teixeira de Freitas) (Figura 1 e 2).

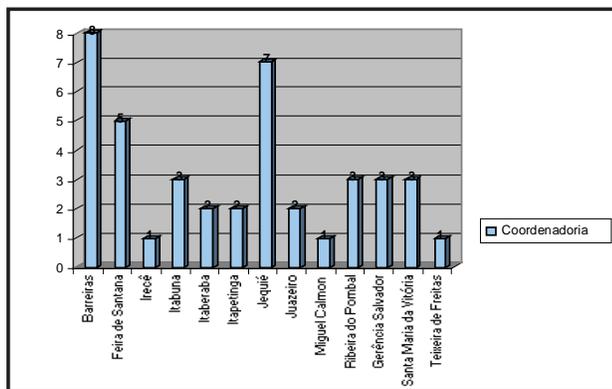


FIGURA 1 – Ocorrência de raiva de herbívoros, por coordenadoria regional, no estado da Bahia, no ano de 2006.

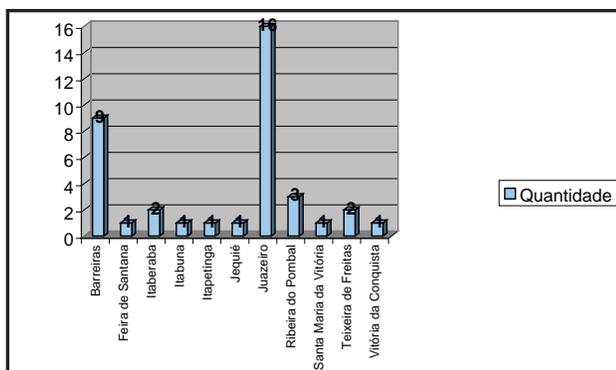


FIGURA 2 – Ocorrência de raiva de herbívoros, por coordenadoria regional, no estado da Bahia, no ano de 2007.

Pela análise univariada do Banco de dados epidemiológicos, pode-se observar que, no período estudado, foram registrados 81 casos de raiva dos herbívoros na Bahia, a maioria (87,3%) ocorrendo na espécie bovina, seguida da espécie equina (12,6%) e depois da caprina e ovina (0,1%).

Nenhum caso de raiva em ovinos e caprinos foi diagnosticado no ano de 2006, no entanto, em 2007, foi registrado um caso em cada uma destas espécies. No ano de 2006, notificou-se um maior número de casos de raiva dos herbívoros na coordenadoria regional de Juazeiro (20,3%), seguida de Barreiras e Ribeira do Pombal. Já no ano de 2007 o registro maior foi na coordenadoria de Barreiras (19,5%) seguida de Jequiê (17,0%) (Figuras 03 e 04).

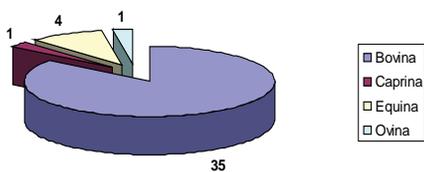


FIGURA 3 – Ocorrência de raiva de herbívoros, por espécie animal, no estado da Bahia, no ano de 2006.

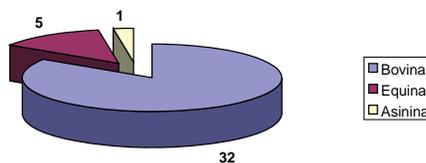
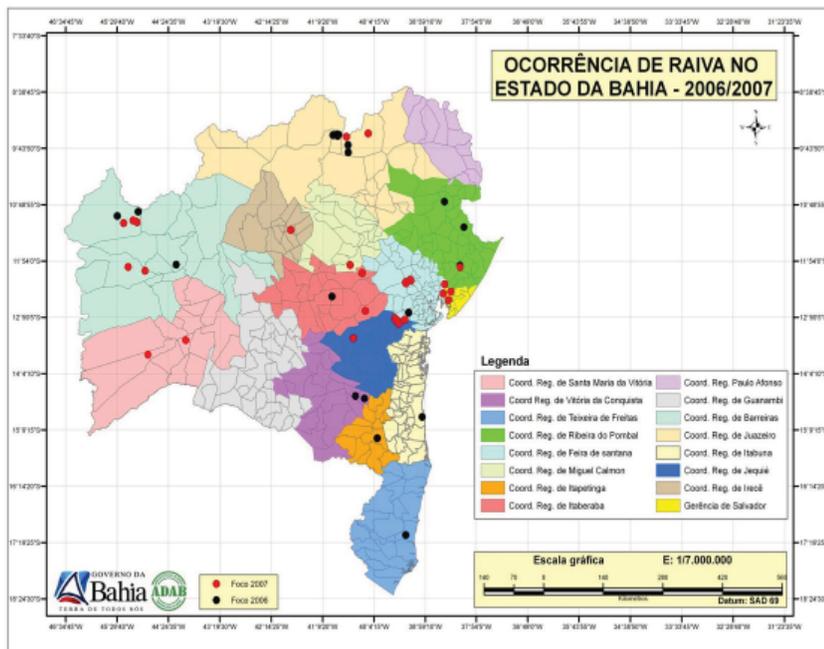


FIGURA 4 – Ocorrência de raiva de herbívoros, por espécie animal, no estado da Bahia, no ano de 2007.

Cabe ressaltar que a maioria dos estudos de raiva em bovinos não se beneficiou de tecnologias de geoinformação como os desenvolvidos por Pozzetti (2001) e Silva (2001). Desde que, em 1911, Carini concluiu que a raiva entre bovinos era transmitida pelo morcego hematófago *Desmodus rotundus* (ALMEIDA et al., 1994) estudos relacionados ao controle desta enfermidade vêm sendo direcionados paralelamente aos estudos de comportamento, controle e dinâmica de populações desse morcego e sua relação com características geográficas que favorecem a existência de abrigos para a perpetuação dessa espécie. Um exemplo é o trabalho realizado por Rocha (2003) na distribuição espacial da raiva desmodina no Município de Araguari – MG no período de 2000 a 2002 (Figura 5).



CONCLUSÃO

A presença de áreas sem notificação cercada por área de risco sugere uma situação de subnotificação, o que implica a necessidade de maior vigilância epidemiológica para a doença, além do incremento de educação sanitária da população dessas áreas. Essas informações puderam ser mais bem visualizadas através do Sistema de Informações Geográficas indicando a necessidade de realizar um constante trabalho através das ações previstas pelo Programa Nacional de Controle da Raiva de Herbívoros. O Geoprocessamento permitiu ainda iniciar a formação de um banco de dados com todas as variáveis importantes para a patologia em questão.

Enfatiza-se o potencial das Técnicas de Geoprocessamento como ferramenta de análise epidemiológica para a descrição da magnitude dos problemas de saúde. Tais técnicas utilizadas em nosso estudo mostraram ser um desafio prático de colocar a autonomia tecnológica conquistada pela razão do serviço do Homem, permitindo uma descrição espacial da situação de um evento de saúde em uma área geográfica.

REFERÊNCIAS

- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. Washington: Organización de la Salud, 2003.
- ALMEIDA, M. F. et al. Diagnóstico laboratorial de raiva em quirópteros realizado em área metropolitana na região sudeste do Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v.5, n.28, p.341-344, 1994.
- BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Controle da Raiva dos Herbívoros. *Manual Técnico*, 2005.
- CONDER. Companhia de Desenvolvimento Urbano do estado da Bahia. Malha de Zonas de Informação, 2000.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Dados Populacionais da cidade do Salvador, Bahia*. 2005. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: 30 ago. 2008, 15:55:55.
- PARÁ. Secretária de vigilância em saúde. Surto de raiva transmitida por morcegos no município de Portel – Pará. *Boletim epidemiológico*, ano 4, n.6, 2004.
- POZZETI, P. S. *Estudo epidemiológico da raiva em animais herbívoros no Estado de São Paulo nos anos de 1996-1999*. 2001. 181p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária e Saúde Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo. 2001.
- ROCHA, C. H. B. *Geoprocessamento: tecnologia transdisciplinar*. Juiz de Fora, Minas Gerais, 2003. 220p.
- SILVA, L. P. *Desequilíbrio Ecológico e a Raiva dos Herbívoros no Município de Luis Alves*. 2000. 24p. Monografia (Curso de Especialização em Sanidade Animal) – Centro de Ciências Agroveterinária da Universidade Estadual de Santa Catarina, Lages, 2000.

técnicas utilizadas em nosso estudo mostraram ser um desafio prático de colocar a autonomia tecnológica conquistada pela razão do serviço do Homem, permitindo uma descrição espacial da situação de um evento de saúde em uma área geográfica.

REFERÊNCIAS

- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. Washington: Organización de la Salud, 2003.
- ALMEIDA, M. F. et al. Diagnóstico laboratorial de raiva em quirópteros realizado em área metropolitana na região sudeste do Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v.5, n.28, p.341-344, 1994.
- BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Controle da Raiva dos Herbívoros. *Manual Técnico*, 2005.
- CONDER. Companhia de Desenvolvimento Urbano do estado da Bahia. Malha de Zonas de Informação, 2000.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Dados Populacionais da cidade do Salvador, Bahia*. 2005. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: 30 ago. 2008, 15:55:55.
- PARÁ. Secretária de vigilância em saúde. Surto de raiva transmitida por morcegos no município de Portel – Pará. *Boletim epidemiológico*, ano 4, n.6, 2004.
- POZZETI, P. S. *Estudo epidemiológico da raiva em animais herbívoros no Estado de São Paulo nos anos de 1996-1999*. 2001. 181p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária e Saúde Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo. 2001.
- ROCHA, C. H. B. *Geoprocessamento: tecnologia transdisciplinar*. Juiz de Fora, Minas Gerais, 2003. 220p.
- SILVA, L. P. *Desequilíbrio Ecológico e a Raiva dos Herbívoros no Município de Luis Alves*. 2000. 24p. Monografia (Curso de Especialização em Sanidade Animal) – Centro de Ciências Agroveterinária da Universidade Estadual de Santa Catarina, Lages, 2000.

Expressão da COX-2 nos carcinomas mamários de cadelas

Lorena G. R. Ribeiro
Karine. A. Damasceno
João M. Costa Neto
Mário Jorge M. H. D'Assis
Altamar T. Costa
Nairléia S. Silva
Paulo Henrique P. Aguiar
Geovanni D. Cassali
Alessandra Estrela-Lima

RESUMO

Na cadela, a frequência dos tumores mamários espontâneos é duas a três vezes superior à observada na mulher. A identificação de marcadores tumorais é um método valioso para prever o comportamento da neoplasia e determinar o prognóstico da doença. Alguns trabalhos relacionam a elevada expressão da ciclooxigenase-2 (COX-2) ao aumento da capacidade proliferativa das células neoplásicas, diminuição da taxa apoptótica, e neovascularização, fatores que indiscutivelmente ampliam o potencial metastático das células tumorais, representando um prognóstico extremamente desfavorável. Foram selecionadas e acompanhadas 30 cadelas apresentando neoplasia mamária atendidas do HOSPMEV-UFBA no período de agosto/2007 a Junho/2008. Foi realizado o estadiamento clínico, classificação e gradação histológica e imunomarcção para COX-2. A partir do diagnóstico histopatológico, os animais foram divididos em dois grupos: carcinoma evoluindo em tumor misto benigno (CATMB) e outros carcinomas (CA). Foi observada uma frequência significativamente maior de CATMB. A comparação da imunomarcção ainda que maior no segundo grupo, não apresentou diferença estatisticamente significativa. A COX-2 apresentou correlação significativa e positiva com tamanho tumoral ($p=0,042$) e envolvimento linfonodal ($p=0,005$). A maior taxa de sobrevida global foi observada em cadelas cujos tumores apresentavam menor

Lorena G. R. Ribeiro é Bolsista de Iniciação Científica (PIBIC/FAPESB), Curso de Medicina Veterinária, Laboratório de Anatomia Patológica, UFBA, Salvador/BA.

Karine. A. Damasceno é Bolsista de Iniciação Científica (PIBIC/FAPESB), Curso de Medicina Veterinária, Laboratório de Anatomia Patológica, UFBA, Salvador/BA.

João M. Costa Neto é Médico Veterinário, Doutor, Professor do Curso de Medicina Veterinária da UFBA, Salvador/BA.

Mário Jorge M. H. D'Assis é Médico Veterinário, Mestrando do Programa de Pós graduação em Ciência Animal, UFBA, Salvador/BA.

Altamar, T. Costa é Biólogo, Técnico do Laboratório de Anatomia Patológica HOSPMEV/UFBA, Salvador/BA.

Nairléia S. Silva é Graduanda de Medicina Veterinária e Bolsista PIBIC.

Paulo Henrique P. Aguiar é Médico Veterinário, Doutor, Professor aposentado do Curso de Medicina Veterinária da UFBA, Salvador/BA.

Geovanni D. Cassali é Médico Veterinário, Doutor, Professor do Departamento de Patologia Geral ICB/UFMG, Belo Horizonte/MG.

Alessandra Estrela-Lima é Médica Veterinária, Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Patologia/UFMG, Professora do Curso de Medicina Veterinária da UFBA, Salvador/BA.

Endereço para correspondência: Laboratório de Anatomia Patológica, Hospital de Medicina Veterinária da UFBA. Av. Ademar de Barros, 500, 40.170-110, Salvador/BA. E-mail: aestrela@ufba.br

Veterinária em Foco	Canoas	v.6	n.2	p.134-139	jan./jun. 2009
---------------------	--------	-----	-----	-----------	----------------

quantidade de células positivas para COX-2. Com base nos resultados observados podemos concluir que a COX-2 apresenta-se como um marcador potencial para câncer de mama da cadela trazendo perspectivas para desenvolvimento de novas terapias anti-tumorais.

Palavras-chave: Cão. Carcinoma-mamário. COX-2.

Expression of COX-2 in canine mammary tumors

ABSTRACT

In the female dog, the frequency of the spontaneous mammary tumors is two to three times higher than that observed in women. The identification of tumors markers is a valuable method for predicting the behavior of the tumor and determine the prognosis of the disease. Some studies relate the high expression of ciclooxigenase-2 (COX-2) to the increase of the proliferation capacity of the cancer cells, decrease apoptosis and angiogenesis, factors which undoubtedly increased the metastatic potential of tumors cells, representing an extremely poor prognosis. Were selected and monitored 30 female dog with mammary cancer attended the UFBA HOSPMEV-in period of August/2007 to June/2008. Were carried clinical tumor evolution, classification and histological grade and immunoreactive for COX-2. From the histopathologic diagnosis, the animals were divided into two groups: carcinomas develop in benign mixed tumor (CATMB) and other carcinomas (CA). There was a significantly higher frequency of CATMB. A comparison of immunoreactive even higher in the second group, showed no statistically significant difference. COX-2 showed significant and positive correlation with tumor size ($p = 0.042$) and lymph node involvement ($p = 0005$). The highest rate of overall survival was observed in bitches whose tumors had fewer cells positive for COX-2. Based on the observed results can conclude that the COX-2 is a potential marker for breast cancer the dog bringing new prospects for development of anti-tumor therapy.

Keywords: Canine. Mammary tumours. COX-2.

INTRODUÇÃO

Os tumores mamários espontâneos dos caninos apresentam várias características epidemiológicas, clínicas, biológicas e genéticas, semelhantes ao da espécie humana. Assim, as neoplasias mamárias espontâneas da cadela têm sido propostas, em muitos trabalhos, como modelo adequado para estudos comparativos com a espécie humana (CASSALI, 2000). Dados comprovam que dentre as neoplasias, o câncer de mama é o mais freqüente entre as mulheres no Brasil, representando aproximadamente 15% do total de mortes por câncer e em cadelas correspondem a metade do total de tumores diagnosticados, dos quais 50% apresentam caráter maligno (CASSALI, 2000). Na cadela, a freqüência dos tumores mamários espontâneos é duas a três vezes superior à observada na mulher. São encontrados em animais de meia idade a idosos, sem predisposição de raça e quando diagnosticada no início, a neoplasia de mama tem elevada chance de cura.

A identificação de marcadores tumorais é um método valioso para prever o comportamento da neoplasia e determinar o prognóstico da doença. A Ciclooxigenase-2 (COX-2) apresenta-se como um marcador potencial para câncer de mama, uma vez que é expressa em resposta a processos inflamatórios, que freqüentemente acompanham as neoplasias e alteram o seu prognóstico. Alguns trabalhos relacionam a elevada expressão da COX-2 ao aumento da capacidade proliferativa das células neoplásicas, diminuição da

taxa apoptótica e neovascularização, fatores que indiscutivelmente ampliam o potencial metastático das células tumorais, representando um prognóstico extremamente desfavorável. A expressão aumentada e freqüente da COX-2 é relatada nos carcinomas, principalmente de cólon, apresentando correlação com o estadiamento clínico e potencial metastático, características que apoiam o papel da COX-2 na tumorigênese (DORÉ et al., 2003).

Entretanto, o mecanismo de atuação desta enzima na carcinogênese ainda não está completamente elucidado. Neste contexto, caracterizar a expressão da COX-2 nos carcinomas mamários de cadelas, bem como verificar a existência de correlação com alguns fatores considerados prognósticos no câncer de mama da cadela é atual, complementar e pertinente. Assim, conhecer a expressão da COX-2 nas neoplasias dos animais domésticos cria perspectivas para o desenvolvimento e utilização, na rotina oncológica dos hospitais veterinários, de drogas como inibidores seletivos da COX-2 (Celecoxib e Firocoxib especialmente se combinada com substâncias inibidoras da aromatase) no tratamento do câncer, a exemplo do que já ocorre na medicina humana. Desta forma, o presente estudo visa analisar e quantificar a expressão da COX-2 nos carcinomas de mama em cadelas e verificar a existência de correlação desta com outros fatores prognósticos e com a taxa global de sobrevivida.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram selecionadas e acompanhadas trinta fêmeas caninas com diagnóstico de neoplasia mamária atendidas no Hospital Veterinário da UFBA (Bahia-Brasil) no período de agosto/07 a junho/08. Todos os animais foram submetidos ao exame clínico detalhado e realização de raio-x simples de tórax para pesquisa de metástase pulmonar. Nenhum dos animais estudados fez uso prévio de drogas anti-neoplásicas, anti-inflamatórias e antibióticos, sendo esse aspecto um critério de exclusão. Foi realizado acompanhamento trimestral dos animais para determinação da taxa de sobrevivida livre da doença até um ano após a cirurgia. Foi realizada a necropsia dos animais que vieram a óbito, quando autorizadas pelos proprietários. O estadiamento clínico utilizado foi o sistema TNM modificado de Owen, 1980. Esta classificação baseia-se no tamanho do tumor primário (T), envolvimento neoplásico de linfonodos regionais (N) e a presença ou ausência de metástases a distância (M). Para a análise histopatológica, os fragmentos da(s) mama(s) afetada(s) (incluindo pele e tecido subcutâneo) e linfonodos regionais foram imediatamente coletados após a cirurgia e fixados em formol neutro e tamponado com fosfato a 10% e processados pela técnica rotineira de inclusão em parafina, coradas pelas técnicas da Hematoxilina-Eosina e posteriormente classificadas, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) para tumores e displasias da glândula mamária de cães e gatos (MISDORP et al., 1999).

Os microarranjos de tecido (TMA) foram construídos utilizando blocos representativos de carcinoma mamário. As áreas de interesse previamente marcadas na lâmina e identificadas nos blocos doadores foram retiradas e transferidas para os blocos receptores. Para cada caso, foram retirados dois cilindros de 2,0 mm (core) de duas áreas distintas do tumor. O anticorpo anti-COX-2 foi utilizado em seções histológicas de blocos TMA. Foi utilizada a técnica de estreptavidina-biotina-peroxidase (Ultra vision

large volume detection system anti-polyvalent, HRP – ready to use – Lab Vision) com recuperação antigênica por calor úmido (solução recuperadora antigênica - Dako).

A imunomarcção da COX-2 foi analisada quanto a sua distribuição percentual, com escore variando de 0 a 4 (0 = 0%, 1 = < 10%, 2 = 10 - 30%, 3 = 31 - 60% e 4 = > 60%) e intensidade (baixa (+), moderada (++) e intensa (+++)(escore variando de 0 a 3). O escore total foi obtido pelo produto da distribuição pela intensidade, segundo Heller et al., 2005. Foram analisados 10 campos lâmina/tumor. Para a quantificação foi realizada a captura de imagens (câmera digital adaptada a um microscópio Olympus BX-40). A contagem das células consideradas COX-2 positivas, positividade citoplasmática, foi realizada com base na análise destas imagens (software Corel Draw versão 7.468).

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software SPSS versão 13.0. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste Student-Newman-Kewls (SNK) e correlação de Pearson. Para avaliação do tempo de sobrevida livre da doença, foi utilizada a análise da Kaplan Meyer. Pelo teste log-rank os valores foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$. Os animais cujo contato foi perdido foram considerados censurados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A idade das cadelas estudadas variou entre seis e 14 anos, sendo 10,2 anos a média de acometimento, semelhante ao que ocorre em outros trabalhos, onde se observa uma maior frequência de neoplasias mamárias entre nove e 11 anos de idade, com baixa incidência em animais menores que dois anos (MEUTEN, 2002). Constatou-se, ainda, um maior envolvimento de cães da raça poodle (12/40%), seguida por cães sem raça definida (8/26,7%). Entretanto, com base no tamanho amostral, não foi possível afirmar a existência de predisposição desta raça. A maioria das cadelas apresentou acometimento bilateral da cadeia mamária (23/76,6%), sendo o número de mamas acometidas superior a cinco (12/40%), localizadas com maior frequência nas mamas abdominal caudal (30/24,6%) e inguinal (41/33,6%). Meuten (2002) afirma que estas mamas são mais acometidas, devido a maior quantidade de parênquima mamário, sofrendo assim maior alteração proliferativa em resposta aos hormônios. Na avaliação do estadiamento clínico, foram observadas as frequências de 30% (9), 30% (9), 23,3% (7), 3,3% (1), 13,3% (4) para os estádios I, II, III, IV e V respectivamente. Para a análise do tamanho tumoral, foram avaliados apenas os tumores obtidos de cadelas linfonodo-negativas (N0) e livres de metástase a distância (M0), correspondente a 24 casos, classificados como T1 (9/37,5%), T2 (9/37,5%) e T3 (6/ 25%). A existência de imagem radiográfica compatível com metástase pulmonar foi observada em 13,3% (4) dos casos.

Todas as fêmeas com estadiamento V, ou seja, com presença de metástase a distância, vieram a óbito antes dos 100 dias de acompanhamento, enquanto 80% das cadelas em estágio I e 60% das cadelas que apresentaram apenas alterações circulatórias nos linfonodos regionais sobreviveram ao tempo máximo de acompanhamento (309 dias). Esses resultados refletem a significativa correlação existente entre a taxa de sobrevida, envolvimento linfático e presença de metástase a distância, dois fatores utilizados na determinação do grau de estadiamento. A partir do diagnóstico histopatológico, os tumores foram divididos em dois grupos: grupo

1 – carcinoma evoluindo em tumor misto benigno (CATMB) e grupo 2 – outros carcinomas (CA), sendo o último grupo constituído pelos subtipos tubular, papilar e sólido. Foi observada uma incidência significativamente maior de CATMB (22/73,3%). Esses tumores consistem na transformação maligna do componente epitelial dos tumores mistos benignos. Desta forma, apesar de não ter sido observada diferença significativa entre os grupos CATMB e CA, a média de sobrevida livre da doença foi superior no primeiro grupo indicando um melhor prognóstico. Na avaliação do grau histológico foram obtidos 23 casos (76,7%) grau I, destes reforçando um melhor prognóstico para as cadelas com CTMB. O exame microscópico dos linfonodos revelou que quatro casos (13,3%) corresponderam a hiperplasia reacional; cinco casos (16,7%) a alterações circulatórias; 15 casos (50%) apresentaram hiperplasia associado à alterações inflamatórias; 5 casos (16,7%) metástase de carcinoma mamário, e apenas 1 caso (3,3%) não apresentou nenhuma alteração significativa.

O tempo máximo de sobrevida de 309 dias foi alcançado por 15 animais, o mínimo, zero dia, referente à cadela que veio a óbito logo após a cirurgia, sendo a média de 197,83 dias. O grupo CATMB embora tenha apresentado uma média de sobrevida global (202,95±120,29) superior ao grupo dos CA (183,75±134,87), não foi observada diferença significativa entre os grupos. Os episódios de metástase a distância corresponderam a (4/13,3%) e todos eles vieram a óbito; recidiva local representou (7/23,3%) e em apenas dois casos houve perda de contato com os proprietários, sendo estes animais considerados censurados. Os três animais submetidos à necropsia apresentaram como *causa mortis* insuficiência respiratória aguda em consequência da metástase pulmonar de tumor mamário resultando em hemotórax. A sobrevida apresentou relação com envolvimento linfático ($p=0,030$), estágio ($p=0,008$) e metástase ($p=0,003$). Todas as amostras analisadas foram positivas para a COX-2, apresentando intensidade e distribuição variadas, sendo predominante uma distribuição difusa (17/56,7%) de intensidade moderada (13/43,3%). A atuação da COX-2 na progressão tumoral ainda requer inúmeras pesquisas. Entretanto, pode ser visualizado com base na curva de sobrevida, embora não significativa, a existência de uma relação proporcionalmente inversa, ou seja, quanto maior a expressão da COX-2 menor é a taxa de sobrevida, corroborando com dados da literatura.

Alguns estudos já verificaram maior expressão da COX-2 nos tumores mamários malignos de cadelas em relação aos benignos (DORÉ et al., 2003; HELLER et al., 2005) e atribuem um score que varia de 1 a 12, obtido a partir do produto da intensidade pela distribuição da COX-2. Desta forma um elevado score retrata um tipo histológico mais agressivo, consequentemente em um pior prognóstico. No presente estudo foi verificado maior frequência do score oito (8/26,6%), considerado intermediário, entretanto, em sua maioria os scores mais elevados corresponderam aos carcinomas de pior prognóstico. A comparação da imunomarcagem entre os grupos dos CATMB (2855 ±1264) e CA (3333 ± 1965), ainda que maior no segundo grupo, não apresentou diferença estatisticamente significativa, não sendo observada correlação da COX-2 com o tipo histológico. Estes resultados provavelmente resultaram da falta de homogeneidade da amostra, constituída basicamente por carcinomas evoluindo em tumores mistos benignos.

A expressão da COX-2 apresentou correlação significativa e positiva com tamanho tumoral ($p=0,042$) e envolvimento linfonodal ($p=0,005$). Dos cinco animais diagnosticados com metástase para linfonodo, três apresentaram contagem de COX-2 acima do valor da média

total dos casos e dois apresentaram recorrência local (3/60%). Segundo Grudzinski et al (2006), a expressão elevada da COX-2 é um fator de pior prognóstico, principalmente na presença de metástase linfática, devido a correlação desta enzima com a angiogênese e recidiva local. A expressão elevada da COX-2 é correlacionada com vários parâmetros de malignidade para tumor de mama, dentre eles estão o tamanho do tumor, presença de recidiva e grau histológico (RISTIMÄKI et al, 2002). Neste estudo, dos 11 animais com tamanho tumoral superior a cinco centímetros oito apresentaram contagem de COX-2 superior a média e quatro deles também apresentavam metástase a distância. Estes dados estão refletidos na curva de sobrevida, onde 80% dos animais que apresentavam contagem de COX-2 no intervalo 1, ou seja, até 1500 células imunomarcadas apresentaram maior taxa de sobrevida global.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados observados podemos concluir que a COX-2 apresenta-se como um potencial e importante fator prognóstico, tendo em vista sua maior concentração em tumores de pior evolução e sua correlação inversa com a taxa de sobrevida global. Desta forma, verificar expressão desta enzima e correlacioná-la a fatores prognósticos traz perspectivas para desenvolvimento de novas terapias antitumorais.

REFERÊNCIAS

- CASSALI, G. D. Estudo morfológico, imuno-histoquímico e citométrico de tumores mamários da cadela – aspectos comparativos com as neoplasias da mama humana. Belo Horizonte: Univ. Fed. de Minas Gerais, p.72, *Tese de Doutorado*, 2000.
- CAVALCANTI, M. F. Fatores prognósticos na abordagem clínica e histopatológica dos carcinomas mamários de cadelas: estadiamento TNM e sistema de nottingham. Belo Horizonte: UFMG, *Dissertação de Mestrado*, p.106, 2006.
- DORÉ, M.; LANTHIER, I.; SIROIS, J. Cyclooxygenase-2 expression in canine mammary tumors. *Vet. Pathol*, v.40 p.207-212, 2003.
- GRUDZINSKI, M. et al. Expressão da COX-2 e CD105 no câncer de mama e sobrevida livre de doença. *Vet. Ass. Med. Bras.*, p.275-280, 2006.
- HELLER, D. A. et al. Cyclooxygenase-2 expression is associated with histologic tumor type in canine mammary carcinoma. *Vet Pathol*, v.42, p.776-780, 2005.
- MENDELSON, C. R.; HARDY, D. B. Role of the progesterone receptor (PR) in the regulation of inflammatory response pathways and aromatase in the breast. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* SBMB-2660, 2006.
- MEUTEN, D. J. *Tumors in domestic animals*. 4.ed. Iowa State: Univ. California. 2002. 788p.
- MISDORP, W. et al. Histological classification of mammary tumors of the dog and the cat. 2nd Series. v. VII. Washington DC, *Arm. Forc. Inst. Pathol*. American Registry of Pathology and the World Health Organization Collaborating Center for Worldwide Reference on Comparative Oncology. p.1-59, 1999.
- RISTIMÄKI, A. et al. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase-2 expression in breast cancer. *Cancer Res*. v.62, p.632-635, 2002.

Imunorreatividade à glicoproteína-p nos diferentes tipos citomorfológicos de tumor venéreo transmissível canino

Luiz Fernando Jantzen Gaspar

Anne Santos do Amaral

Sandra Bassani-Silva

Noeme Sousa Rocha

RESUMO

O tumor venéreo transmissível é uma neoplasia contagiosa de caninos. A glicoproteína-p faz parte dos transportadores ABC, uma bomba de efluxo dependente de ATP, que translocam drogas para o exterior da célula, relacionada com a resistência à quimioterapia antineoplásica. No presente trabalho, foram avaliadas 103 massas de tumor venéreo transmissível, procedentes de pacientes do Hospital Veterinário da FMVZ-UNESP (campus Botucatu), com o objetivo de observar a expressão da glicoproteína-p nos diferentes tipos citomorfológicos. Preparações citológicas das massas foram coletadas em duplicata: uma, corada pelo método de Giemsa para, segundo critérios estabelecidos, a divisão em três grupos segundo o tipo citomorfológico dominante: linfocitóide, misto ou plasmocitóide. As massas também foram agrupadas de acordo com comportamento biológico em primárias e não primárias. As outras amostras foram marcadas por imunocitoquímica com o anticorpo antiglicoproteína-p clone C494. O tipo plasmocitóide apresentou imunorreatividade significativamente superior à do grupo linfocitóide; as massas não primárias tiveram um maior percentual de marcação da glicoproteína-p que as primárias, ainda que não significativo. A expressão de glicoproteína-p pelo TVT pode estar envolvida na resistência à quimioterapia, e a maior expressão pelos tumores plasmocitóides apontam para maior malignidade desta linhagem. A determinação da reatividade pode se constituir numa ferramenta para determinação de prognóstico para esta neoplasia.

Palavras-chave: Glicoproteína-p. Resistência à quimioterapia. Tumor venéreo transmissível.

Immunoreactivity of the p-glycoprotein in the different cytomorphic types of canine transmissible venereal tumor

ABSTRACT

The transmissible venereal tumor (TVT) is a contagious neoplasm that affects only canine. The p-glycoprotein participates of ABC transporters, an ATP-dependent efflux bomb, which translocates drugs from cytoplasm to exterior of cell and relates to anti-neoplastic chemotherapy. In this study 103 masses of TVT from Veterinary Hospital of FMVZ-UNESP (Botucatu) patients

Luiz Fernando Jantzen Gaspar é Doutor (UFPel). E-mail: lfjgaspar@ibest.com.br

Anne Santos do Amaral é Doutora (UFSM).

Sandra Bassani-Silva é Doutora.

Noeme Sousa Rocha é Doutora (UNESP).

Endereço para correspondência: Luiz Fernando Jantzen Gaspar – Departamento de Clínica Veterinária, Universidade Federal de Pelotas. Campus Capão do Leão, Caixa Postal 354 – CEP 96001-970 – Pelotas/RS.

Veterinária em Foco	Canoas	v.6	n.2	p.140-146	jan./jun. 2009
---------------------	--------	-----	-----	-----------	----------------

was evaluated, to observe the p-glycoprotein expression in different cytomorphological groups. Cytological preparations from masses were collected in duplicates; one was stained by Giemsa in order to group division, according the dominant cytomorphological type, in lymphocyte-like, plasma-cell-like or mixed patterns. The masses were also grouped by biological behavior as primary and non-primary. Other samples were labeled by immunocytochemistry with anti-p-glycoprotein antibody, C494 clone. The plasma-cell-like pattern presents a significant superior immunoreactivity that lymphocyte-like tumors; the same occurred with non-primary masses, although non-significant. The p-glycoprotein expression by TVT can be related to chemotherapy resistance, and the greater reactivity showed by plasma-cell-like pattern point to malignancy of this lineage. Also, the determination of this reactivity can be a valuable tool to prognostic evaluation in this neoplasm.

Keywords: Chemotherapy resistance. p-glycoprotein. Transmissible venereal tumor.

INTRODUÇÃO

O tumor venéreo transmissível (TVT) é uma neoplasia contagiosa, transmissível pela implantação de células tumorais viáveis nas mucosas que, em condições naturais, afeta somente caninos (ROGERS, 1997). Pode ser transmitido por hábitos sociais como farejar e lambar, justificando os casos primários nas mucosas nasal, oral e conjuntival. Tem sido classificado como tumor indiferenciado de células redondas, e estudos com imunoistoquímica têm apontado para origem mesenquimal e histiocítica (AMARAL et al., 2004).

Casos de ocorrência natural produzem metástases em até 25% dos casos (AMARAL, 2005), podendo ocorrer em todos os órgãos, incluindo linfonodos, subcutâneo, fígado, baço, rins, pulmões e mediastino (BOSCOS et al., 1999).

A quimioterapia é o tratamento mais efetivo, utilizando vincristina, vimblastina, doxorubicina e ciclofosfamida. Sulfato de vincristina como agente único em aplicações semanais é o protocolo mais usado, com quatro a oito aplicações intravenosas para a cura. Em tumores resistentes a alternativa é a doxorubicina (ROGERS, 1997).

A citologia é o melhor método para diagnóstico de TVT (AMARAL et al., 2004). Suas células são redondas ou ovais, com bordos citoplasmáticos definidos, núcleo redondo ou oval de tamanho variável, cromatina grosseira e um ou dois nucléolos proeminentes; a relação núcleo:citoplasma é relativamente alta (BOSCOS et al., 1999). O Serviço de Patologia Veterinária da FMVZ-UNESP Botucatu adota a classificação citomorfológica do TVT desde 1994 (AMARAL et al., 2004); até 2003 a literatura não registrava diferenças de tipos, apesar de descrições que apóiam estas diferenças, como ausência de vacúolos citoplasmáticos (ROGERS, 1997), células maiores e mais ovóides em relação à morfologia típica (BOSCOS et al., 1999) e o registro de “TVTs malignos” com citoplasma abundante (VARASCHIN et al., 2001). Esta morfologia corresponde ao TVT plasmocitóide, que mostrou ser mais agressivo que a forma linfocitóide (AMARAL, 2005; BASSANI-SILVA, 2005; GASPAR, 2005).

A resistência à quimioterapia é um obstáculo no tratamento de pacientes com câncer. Verificou-se que indivíduos podiam apresentar resistência cruzada a drogas de diferentes estruturas, modo de ação e alvo celular. Esta resistência multidrogas é multifatorial,

relacionando-se com defeitos na apoptose, aumento da detoxificação intracelular, alterações no reparo do DNA e superexpressão de moléculas como a glicoproteína-p, capazes de exportar os quimioterápicos para fora da célula (MAIA; RUMJANEK, 2004).

A glicoproteína-p (gp-p) é expressa nas adrenais, rins, fígado, cólon, cérebro, pulmões, sangue e medula óssea normais; faz parte dos transportadores ABC, uma bomba de efluxo dependente de ATP, que translocam drogas para o exterior da célula (MAIA; RUMJANEK, 2004). Tumores derivados destes tecidos expressam grandes quantidades de gp-p, o que pode explicar sua resistência intrínseca a quimioterápicos (BERGMAN, 2000).

Em humanos, a expressão elevada de gp-p correlaciona-se com a falta de remissão após quimioterapia (BERGMAN, 2000). A gp-p canina funciona como sua homóloga no homem (LEE et al., 1996). Nosso grupo comprovou a expressão de gp-p pelo TVT (GASPAR, 2005).

Buscou-se verificar se os grupos citomorfológicos de TVT e se os tumores primários e suas metástases expressam glicoproteína-p na mesma intensidade, já que se observa crescente resistência à quimioterapia nesta neoplasia, especialmente na plasmocitóide.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados cães, sem restrição de sexo, idade ou raça, com diagnóstico clínico-citológico de TVT, atendidos no Hospital Veterinário da FMVZ-UNESP. Cada tumor foi avaliado conforme localização (*genital* ou *extragenital*) e comportamento biológico (*primário*, *metastático* ou *recorrente*).

Amostras de 103 massas foram coletadas por citologia aspirativa com agulha fina, secas ao ar, fixadas em metanol e coradas por Giemsa. Uma segunda amostra era suspensa em 1,5ml de PBS gelado, concentrada em lâmina por citocentrifugação, e as lâminas armazenadas em etanol 95% até o processamento.

Nas lâminas de Giemsa, cada uma de no mínimo cem células foi avaliada e classificada em linfocitóide ou plasmocitóide e a amostra incluída em um grupo de acordo com o seguinte padrão:

- Grupo Linfocitóide: pelo menos 60% de células de TVT redondas, citoplasma escasso e finamente granular, com vacúolos acompanhando a periferia celular, núcleo redondo com cromatina grosseira e um ou dois nucléolos salientes.

- Grupo Plasmocitóide: 60% ou mais de células de TVT ovóides, citoplasma mais abundante (menor proporção núcleo:citoplasma) e núcleo localizado excêntricamente.

- Grupo Misto: presença dos tipos celulares linfocitóide e plasmocitóide, sem que nenhum ultrapasse 59% do total.

Para a imunomarcagem utilizou-se anticorpo monoclonal anti-humano

antiglicoproteína-p C494¹. As lâminas eram hidratadas por passagens em álcool 85% e água. Seguiu-se o bloqueio da peroxidase endógena com água oxigenada 10 volumes, lavagem em água destilada e tampão tris². Para redução de marcações inespecíficas, o material era incubado com BSA 2% por uma hora em temperatura ambiente.

O anticorpo diluído a 1:100 em BSA 1% era incubado em câmara úmida a 4°C *overnight*; seguia-se lavagem em tris e aplicação de sistema de anticorpo secundário e polímero associado a peroxidase³, com incubação em temperatura ambiente durante uma hora e, após, lavados com tris.

Para a revelação utilizou-se o cromógeno 3'-3' diaminobenzidina⁴ líquido, durante 5 minutos, ao abrigo da luz, seguindo-se a lavagem das lâminas durante 10 minutos em água corrente.

As lâminas eram contra-coradas com verde de metila por 5 minutos, lavadas com álcool isopropílico, desidratadas em álcool absoluto, diafanizadas em xilol e montadas com resina sintética.

Como controles positivos foram usados cortes histológicos de fígado canino e como controle negativo, amostras citológicas de TVT incubadas somente com o diluente do anticorpo primário.

As lâminas foram observadas em microscópio óptico sob objetiva de 40x e os resultados expressos como percentual de células positivas em 10 campos aleatórios, contando-se no mínimo 100 células por amostra. Foram consideradas positivas as células com membrana citoplasmática e citoplasma marrom, independente da intensidade da marcação. Para a amostra ser considerada positiva, mais de 10% das células analisadas deveriam estar marcadas. As amostras foram comparadas de acordo com o tipo citomorfológico e comportamento biológico e analisadas pelo teste de Chi Quadrado (χ^2) com a aplicação do teste de Goodman para comparação de proporções multinominais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As células de TVT tiveram marcação da membrana citoplasmática variando de discreta a intensamente corada, geralmente acompanhada de marcação citoplasmática difusa (Figura 1). Das 103 amostras testadas, 47 (45,63%) apresentaram expressão da glicoproteína-p, em padrões variáveis de intensidade, e 56 (54,37%) foram negativas.

¹ Anti-glicoproteína-P humana de camundongo, clone C494, monoclonal, código 8720-01. Signet Laboratories, Inc. Dedham, MA, USA.

² 8,5g NaCl; 6g trizma base; 1l de água destilada, ajustando pH em 7,4.

³ DAKO LSAB+ kit, peroxidase, código K0690. Dako Corporation, Carpinteria, CA, USA.

⁴ DAB líquido Dako. DakoCytomation. Carpinteria, CA, USA.

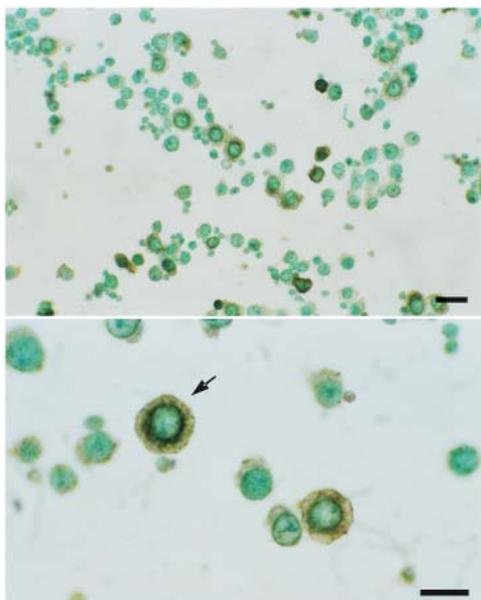


FIGURA 1 – Amostras citológicas imunocoradas com anticorpo antiglicoproteína-p clone C494 (Signet Laboratories) mostrando a marcação de citoplasma e membrana (barra: 10µm).

O grupo plasmocitóide apresentou uma imunorreatividade significativamente maior do que aquela do grupo linfocitóide (Tabela 1). Portanto, comparando os três tipos, de forma preliminar, podemos considerar que o tipo plasmocitóide apresenta um potencial para expressar resistência à droga.

TABELA 1 – Número de casos (*n*) e percentagem (%) de marcação da glicoproteína-P em amostras dos diferentes grupos citomorfológicos do tumor venéreo transmissível.

Grupo	Positivo		Negativo		Total
	n (casos)	%	n (casos)	%	
Linfocitóide	4 ^a	15,79	15	84,21	19
Misto	14 ^{ab}	43,75	18	56,25	32
Plasmocitóide	29 ^b	55,76	23	44,24	52

^{a,b} Letras diferentes representam diferenças significativas para $p < 0,05$ (Teste de Goodman para contraste entre proporções multinominais)

Quando os preparados citológicos foram reagrupados em massas primárias em não primárias (Tabela 2), observou-se que a glicoproteína-p apresentou imunorreatividade superior (58,80%) no grupo de massas não primárias, comparado com o das massas primárias (38,58%), porém sem que houvesse diferença significativa. Este resultado sugere que as neoplasias não primárias podem apresentar um potencial para expressar resistência à quimioterapia.

TABELA 2 – Percentagem de marcação da glicoproteína-p em amostras de neoplasias primárias e não primárias no tumor venéreo transmissível.

Glicoproteína-P	Primário		Não primário	
	n	%	N	%
Marcação positiva	27	38,58	19	58,80
Marcação negativa	43	61,42	14	41,20
Total	70	100	33	100

$p=0,11$ pelo teste χ^2

A hipótese de que o TVT apresenta diferentes linhagens de variada agressividade já motivava o uso desta classificação desde 1994 pelo Serviço de Patologia Veterinária da FMVZ-UNESP de Botucatu (AMARAL et al., 2004), uma vez que os TVTs plasmocitóides apresentam alta frequência de anormalidades nucleares, resistência aumentada à ação antitumoral da própolis, além de que quase todos os casos de metástases são do tipo plasmocitóide (AMARAL, 2005; BASSANI-SILVA, 2005; GASPAR, 2005). Neste contexto, associado à maior expressão de glicoproteína-p, admite-se que o padrão plasmocitóide é mais agressivo, ou mais maligno, que os tipos linfocitóides ou mistos.

Estudo semelhante realizado por Bergman et al. (1996) em cães com linfoma constatou níveis de expressão da gp-p maiores na recidiva e na necropsia do que no momento do diagnóstico. O mesmo estudo encontrou correlação negativa entre a expressão de gp-p e remissão e tempo de sobrevivência. A maior expressão da gp-p pelos TVTs plasmocitóides pode ser uma das causas das remissões parciais observadas cada vez mais frequentemente neste tipo citomorfológico. Ainda, estes achados estão de acordo com o observado no experimento de Lee et al. (1996), que concluíram que a expressão da gp-p antes do início do tratamento é um fator preditivo independente negativo de sobrevivência.

A expressão de glicoproteína-p pelo TVT, à semelhança do citado por Miyoshi et al. (2002), em mastocitomas caninos, e por Bergman et al. (1996) e Lee et al. (1996) em linfoma canino, sugere que ela possa desempenhar um papel importante na resistência à quimioterapia também nesta neoplasia.

CONCLUSÃO

A expressão de glicoproteína-p pelo TVT pode estar envolvida na resistência à quimioterapia. A expressão superior pelos tumores do tipo plasmocitóide apontam para maior malignidade desta linhagem, conforme já sugerido por outros estudos do nosso grupo. A determinação da reatividade pode se constituir numa ferramenta para determinação de prognóstico para esta neoplasia.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, A. S. *Tumor venéreo transmissível canino: critérios citológicos de malignidade e caacterização citomorfológica correlacionada a imunocitoquímica e lesões de DNA*. Tese (Doutorado – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista) Botucatu, 2005.
- AMARAL, A. S. et al. Diagnóstico citológico do tumor venéreo transmissível na região de Botucatu, Brasil (estudo descritivo: 1994-2003). *Rev. Port. Ciênc. Vet.*, v.99, n.551, p.167-171, 2004.
- BASSANI-SILVA, S. *Efeito da própolis sobre a agressividade do tumor venéreo transmissível canino: ensaios in vitro*. Dissertação (Mestrado – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista) Botucatu, 2005.
- BERGMAN, P. J. Multidrug resistance. In: BONAGURA JD. (Ed.). *Kirk's current veterinary therapy XIII: small animal practice*. Philadelphia : Saunders, 2000. Sec.6, p.479-482.
- BERGMAN, P. J.; OGILVIE, G. K.; POWERS, B. E. Monoclonal antibody C219 immunochemistry against P-glycoprotein: sequential analysis and predictive ability in dogs with lymphoma. *J. Vet. Intern. Med.*, v.10, p.354-359, 1996.
- BOSCOS, C. M.; TONTIS, D. K.; SAMARTZI, F. C. Cutaneous involvement of TVT in dogs: a report of two cases. *Canine Pract.*, v.24, n.4, p.6-11, 1999.
- GASPAR, L. F. J. *Caracterização citomorfológica do tumor venéreo transmissível canino correlacionada com danos citogenéticos, taxa de proliferação e resposta clínica à quimioterapia*. Tese (Doutorado – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista), Botucatu, 2005.
- LEE, J. J. et al. P-glycoprotein expression in canine lymphoma. *Cancer*, v.77, p.1892-1898, 1996.
- MAIA, R. C.; RUMJANEK, V. M. Mecanismos moleculares de resistência a múltiplas drogas In: FERREIRA, C. G; ROCHA, J. C. *Oncologia molecular*. São Paulo: Atheneu, 2004. 469p. Cap. 11, p.113-122.
- MIYOSHI N. et al. Immunohistochemical detection of p-glycoprotein (PGP) and multidrug resistance-associated protein (MRP) in canine cutaneous mast cell tumors. *J. Vet. Med. Sci.*, v.64, p.531-533, 2002.
- ROGERS, K. S. Transmissible venereal tumour. *Compend. Contin. Educ.*, v.19, n.9, p.1036-1045, 1997.
- VARASCHIN, M. S. et al. Tumor venéreo transmissível canino na região de Alfenas, Minas Gerais: formas de apresentação clínico-patológicas. *Clín. Vet.*, v.6, n.32, p.332-338, 2001.

Níveis de metais pesados em piramutabas (*Brachyplatystoma vailantii*) capturadas na Baía de Marajó e comercializadas no município de Belém/PA

E. C. V. Colino
D. da C. Palheta
A. F. Saraiva
E. C. Cardoso

RESUMO

Vinte e duas amostras de musculatura de peixes da espécie *Brachyplatystoma vailantii*, popularmente conhecida como piramutaba, capturadas na Baía de Marajó, foram analisadas através de Espectrometria por Emissão Ótica (ICP-OES) para determinação dos níveis de alumínio, chumbo, arsênio e manganês, e Espectroscopia de Absorção Atômica para a determinação de mercúrio total, objetivando subsidiar os órgãos de vigilância sanitária do Estado do Pará para a investigação e controle de possíveis causas da intoxicação por metais pesados adquiridos pelo hábito alimentar de consumo de pescado local. Não foram encontrados níveis significativos de chumbo e arsênio nas amostras analisadas, entretanto, as concentrações de alumínio e manganês foram consideradas elevadas, com valores variando entre 6,28 a 19,93 mg kg⁻¹ e 0,17 a 1,30 mg kg⁻¹, respectivamente. O mercúrio na musculatura do peixe apresentou-se abaixo dos limites estabelecidos pela legislação brasileira. Não houve correlação entre as variáveis comprimento e peso dos peixes e as concentrações dos metais. A investigação revelou a necessidade da realização de maiores estudos envolvendo o chumbo, o arsênio, o alumínio, o manganês e o mercúrio em outras espécies de peixes consumidos, bem como o estabelecimento de padrões máximos de níveis permitidos para o alumínio e o manganês, de modo a não comprometer a saúde dos consumidores belenenses.

Palavras-chave: Piramutaba. Chumbo. Arsênio. Alumínio. Manganês. Mercúrio.

Heavy metals levels in piramutabas (*Brachyplatystoma vailantii*) captured in Marajó Bay and traded in Belém of Pará State

ABSTRACT

Twenty two muscle samples of Piramutabas fish (*Brachyplatystoma vailantii*), captured in Marajó bay, were analysed for aluminium, lead, arsenic and manganese concentrations by means of optical emission spectroscopy assays (ICP-OES); mercury was analysed by atomic absorption

E. C. V. Colino é Mestre.

D. da C. Palheta é Doutor.

A. F. Saraiva é Mestre.

E. C. Cardoso é Doutor.

Endereço para correspondência: D. da C. Palheta – UFRA – ISPA – Av. Presidente Tancredo Neves, nº 2501. Bairro Montese – CEP: 66077-530. CX Postal 917. Belém/PA – Brasil.

Veterinária em Foco	Canoas	v.6	n.2	p.147-153	jan./jun. 2009
---------------------	--------	-----	-----	-----------	----------------

spectrophotometry. This research should provide health authorities from Pará State with data for the investigation and control of possible heavy metals intoxications caused by local fish ingestion. Levels for lead and arsenic were not significant, nevertheless, aluminium and manganese concentrations were considered to be high, varying from 6,28 to 19,93 mg kg⁻¹ and 0,17 to 1,30 mg kg⁻¹, respectively. Mercury concentrations in fish muscle was below the limits established by Brazilian regulations. There was no statistical correlation between fish size and weight and their respective metals levels. This investigation revealed the necessity for more studies concerning these metals accumulation in other consumed fish species from estuarine waters, as well as the establishment of maximum permissible limits for aluminium, lead, arsenic, mercury and manganese in fish, in order to assure consumers health from Belém of Pará.

Keywords: Piramutaba. Lead. Arsenic. Aluminium. Manganese. Mercury.

1 INTRODUÇÃO

O volume de pescado comercializado na Amazônia está estimado em 200 mil toneladas por ano, representando um movimento na economia regional de cerca de US\$ 200 milhões. Hoje o Estado do Pará é o quarto maior produtor de pescado do Brasil, com uma produção de 120 mil toneladas por ano, correspondendo a 20% da produção nacional (BARTHEM; GOULDING, 1997). A poluição aquática por metais pesados tem sido considerada como uma das formas mais nocivas de poluição ambiental, uma vez que tais metais não são biodegradáveis e tendem a acumular-se em organismos vivos cujas conseqüências poderão ir desde o comprometimento da biodiversidade até a intoxicação do ser humano pela ingestão de pescado contaminado (PALHETA; TAYLOR, 1995).

O mercúrio metálico, lançado no ecossistema aquático amazônico, e biotransformado no meio aquático para a forma metilmercúrio, tem se incorporado à cadeia biológica ao longo das últimas décadas. Quando absorvido pelos peixes através do alimento, forma complexos com aminoácidos sulfurados com os quais estabelece uma ligação química estável, o que dificulta sua eliminação e favorecendo sua bioacumulação (MANDARINO et al., 2000). Além disso, peixes carnívoros possuem maior potencial de assimilação do mercúrio que outras espécies onívoras. Os efeitos tóxicos em seres humanos pela contaminação do pescado por metais pesados podem ser extramente prejudiciais, variando desde as propriedades neurotóxicas do mercúrio e manganês até as ações carcinogênicas do arsênio (PALHETA et al., 2008). Na região norte, a fonte de liberação deste metalóide está relacionada com a exploração do minério de manganês na Serra do Navio do Estado do Amapá, onde o armazenamento do material pelotizado durante décadas pode ter favorecido a liberação silenciosa de arsênio para o meio ambiente.

Visando ao monitoramento da qualidade do pescado consumido no Município de Belém – Pará, avaliaram-se as concentração dos metais arsênio (As), chumbo (Pb), manganês (Mn), mercúrio (Hg) e alumínio (Al) no músculo de piramutabas (*Brachyplatystoma vailantii*) procedentes da Baía de Marajó e comercializadas no Município.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Espécie animal

Brachyplatystoma vailantii – A piramutaba (*Brachyplatystoma vailantii*) é peixe de pele, de água doce pertencente à família Pimelodidae, ordem Siluróide e muito conhecida na Amazônia, chegando a medir um metro de comprimento e pesar 10 kg. Piramutaba é a única espécie do gênero que forma grandes cardumes, podendo ser capturada aos milhares ao longo da calha do Rio Solimões. É também muito bem aceita tanto para o consumo local como para exportação, devido seu sabor agradável e boa qualidade nutricional (BARTHEM; GOULDING, 1997).

2.2 Procedência e processamento

Foram utilizadas 22 piramutabas cedidos pela Empresa de Comercialização e Exportação Amazon Catfish, no município de Belém, Estado do Pará procedentes de captura por meio de pesca de arrasto de parelha sem portas, com redes do tipo portuguesa no Estuário da Baía de Marajó.

Os peixes cedidos foram transportados sob refrigeração até o Laboratório de Análises de Minerais do Instituto da Saúde e Produção Animal da Universidade Federal Rural da Amazônia. No laboratório, foram imediatamente pesados em balança de precisão e mensurados o comprimento total através de ictiômetro, considerando a medida da boca até a ponta da nadadeira caudal do peixe, conforme mostrado na Figura 1.

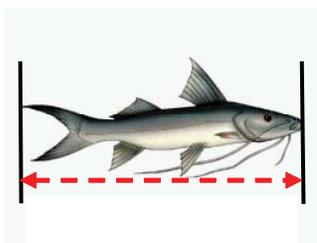


FIGURA 1 – Pontos de tomada de comprimento total do peixe.

Em seguida, separou-se a musculatura, eliminando-se as espinhas e vísceras. Todo o tecido muscular foi triturado em moinho inox para ser novamente pesado e armazenado, em vidros individuais, devidamente esterilizados e identificados, em freezer a uma temperatura de 18°C negativos.

Após o congelamento, as amostras foram liofilizadas com aparelho deofilizador (Thermo Savant Modulyo D), pesadas e armazenadas em sacos plásticos individuais, identificados para posterior análise de chumbo, arsênio, alumínio, manganês e mercúrio.

2.3 Análise dos metais

A determinação de chumbo, arsênio, alumínio e manganês foi realizada através de Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES). A validação do método foi assegurada pelos ensaios de adição e recuperação de padrões e utilização de padrões de referência NIST para peixe. De cada amostras, foi pesada uma quantidade de 0,3g de tecido muscular, em seguida adicionando-se 4mL de HNO₃ e 0,3 mL H₂O₂, sendo colocados em sistema de digestão em microondas fechado. Para o mercúrio utilizou-se a técnica descrita por Deitz e Bristol (1973) onde de cada amostra triturada, retirou-se aproximadamente 4,0g que foi colocada em tubos de hidrólise e adicionado 0,04g de pentóxido de vanádio e 15 ml de ácido nítrico concentrado para digestão e posteriormente a análise pela técnica de absorção atômica por arraste de vapor a frio.

2.4 Análise estatística

Os dados referentes ao peso, tamanho e a concentração dos metais na musculatura do peixe sob estudo foram tabulados e efetuados a análise estatística descritiva com valores médios, desvio padrão e de valores mínimos e máximos. A existência de correlação entre o peso do peixe, o comprimento e a concentração de metais foi testada segundo o coeficiente de correlação de Pearson (r) considerando 0,5% de significância. Todas as análises estatísticas foram efetuadas utilizando-se o Statistical Analysis System – SAS.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das determinações de alumínio, mercúrio, manganês, chumbo e arsênio nas amostras estudadas são apresentados na Tabela 1.

TABELA 1 – Média, desvio padrão e valores mínimos e máximos do peso, comprimento, concentração de chumbo, arsênio, alumínio, manganês e mercúrio.

Variável	Média ± Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Referências
Peso (kg)	809,09 ± 209,15	608,00	1.640,00	-
Comprimento (cm)	39,95 ± 3,90	35,00	52,00	-
Chumbo (mg/kg)	<LD	<LD	<LD	<0,005 ²
Arsênio (mg/kg)	<LD	<LD	<LD	1,0 ⁸
Alumínio (mg/kg)	12,37 ± 4,27	6,28	19,93	0,34 ³
Manganês (mg/kg)	0,43 ± 0,23	0,17	1,30	<0,002 ³
Mercúrio (mg/kg)	0,04 ± 0,03	0,00	0,09	0,5mg/kg ⁷ 1,0mg/kg

Não foram detectados valores significativos para chumbo e arsênio no conjunto das amostras analisadas, que apresentaram níveis abaixo do limite de detecção do método

analítico utilizado na presente investigação. Os dados aqui obtidos são semelhantes aos de Carvalho et al. (1991), uma vez que não existem fontes diretas de contaminação pelo chumbo na região de estudo, sendo necessário a utilização de métodos de análise eletrotérmica com forno de grafite a fim de se determinar concentrações em $\mu\text{g kg}^{-1}$ nas amostras estudadas. Quanto à análise de arsênio, a fonte mais próxima de exposição a este metalóide refere-se ao Porto de Santana, no Estado do Amapá, o que poderia estar relacionado com possíveis concentrações na biota aquática na região do estuário guajarinó, local de obtenção das amostras do presente estudo. Em outras investigações para a determinação do arsênio total na musculatura de peixes de água doce no Canadá, os níveis variaram de 0,57 a 1,15 mg kg^{-1} , acima dos valores aqui obtidos (ROSEMOND et al., 2008), sendo igualmente necessário o emprego de técnicas mais sensíveis para este elemento. As concentrações de alumínio são mostradas na Tabela 1, com um valor médio observado mais elevado do que os encontrados por Carvalho et al. (2000) em várias espécies de peixes em que a concentração média foi igual a 0,34 mg kg^{-1} . Para Roux (1994), concentrações médias equivalentes a 0,12 mg kg^{-1} (peso úmido) foram consideradas elevadas em carpas (*Barbus marequensis*) capturadas no Rio Crocodile, na África do Sul. Os resultados aqui obtidos reforçam a necessidade da realização de mais investigações relativas a presença de alumínio no pescado em face das atividades desenvolvidas pela ALBRAS/ALUNORTE na extração e no beneficiamento desse metal. Com referência aos níveis de manganês em pescado (CARVALHO et al., 1991), a literatura descreve valores médios abaixo de 0,002 mg kg^{-1} . Da mesma forma que para o alumínio, não há referências na legislação brasileira sobre concentrações máximas permitidas para esse elemento, nos alimentos, havendo a necessidade de maiores estudos sobre os níveis de contaminação da biota aquática.

A Tabela 2 mostra as concentrações de mercúrio nas amostras analisadas. Os valores médios obtidos são considerados baixos quando comparadas com os níveis aceitos pela legislação brasileira relativos à ocorrência desse elemento em peixes não carnívoros (0,5 mg kg^{-1}) e peixes carnívoros (1,0 mg kg^{-1}). Todavia esse resultado não permitiu inferir se o pescado comercializado no município de Belém não apresenta níveis de mercúrio capazes de provocar contaminação nos consumidores. Pesquisa realizada por Mandarino et al. (2000) em peixes traíra (*Hoplias malabaricus*), cascudo (*Loricariichthys sp*) e bagres (*Rhamdia sp*) revelou concentrações de mercúrio compreendidas entre 0,009 a 0,206 mg kg^{-1} em traíras, 0,003 a 0,051 mg kg^{-1} em cascudos e 0,009 a 0,120 mg kg^{-1} em bagres, resultados que corroboram os encontrados na presente pesquisa.

Na avaliação da correlação entre as concentrações dos minerais e o tamanho e peso dos peixes, o teste utilizado não mostrou significância ao nível de $p > 0,05$ (Tabela 2). Provavelmente este resultado se deu pelo pequeno número de amostras utilizadas. Para o mercúrio, esses resultados, de certa forma, contrariam os trabalhos de Eysink (1991), que encontrou correlação positiva entre o tamanho e a idade do peixe com a concentração de mercúrio na musculatura e vísceras de animais mais velhos. Igualmente Mandarino et al. (2000) referiram correlação positiva entre a concentração de mercúrio, peso e tamanho em peixes traíra (*Hoplias malabaricus*) e bagre (*Rhamdia sp*), tendo sugerido que o teor de mercúrio nessas espécies esteja relacionado ao tamanho dos peixes e a seu hábito alimentar.

Há de se considerar também que mesmo sendo a piramutaba uma espécie predadora, os baixos níveis de mercúrio detectados podem ter ocorrido pelo tamanho pequeno das amostras estudadas, sobretudo pelo fato de terem sido capturadas no estuário próximo da Baía de Marajó, local onde os alevinos crescem até atingirem maturidade reprodutiva e distante das fontes garimpeiras. Sendo assim, por se tratar de peixes jovens, não pertencem ao topo da cadeia trófica por terem nessa fase de vida uma dieta bastante diversificada, se alimentando de pequenos moluscos, crustáceos e detritos, o que justifica os níveis encontrados.

TABELA 2 – Resultado da correlação efetuada entre peso, comprimento, concentração de alumínio, manganês e mercúrio.

Variáveis	Comprimento	Alumínio	Manganês	Mercúrio
Peso	0,89	- 0,09	0,13	0,18
	S	NS	NS	NS
Comprimento	-	- 0,02	0,10	0,09
		NS	NS	NS
Alumínio	-	-	- 0,21	- 0,01
			NS	NS
Manganês	-	-	-	0,23
				NS

S – Significativo; NS – Não Significativo.

4 CONCLUSÕES

Não foi detectada a presença de chumbo e arsênio na musculatura da espécie comercial *Brachyplatystoma vailantii* – Piramutaba;

Revelou-se a presença de mercúrio, alumínio e manganês, porém sem haver a correlação entre peso e comprimento dos indivíduos;

As concentrações dos metais alumínio e manganês foram consideradas elevadas quando comparadas com outros autores referenciados;

Os estudos aqui descritos, envolvendo o impacto das empresas de mineração sobre a biodiversidade aquática da Amazônia são incipientes quando da análise de outros metais pesados que não o mercúrio dos garimpos;

Deve-se aprofundar a pesquisa sobre esses metais em outras espécies de peixes consumidos pela população, sobretudo nos rios, igarapés e córregos próximos a garimpos e empresas mineradoras industrializadas;

As autoridades responsáveis pela qualidade dos alimentos consumidos pela população, assim como também, pela elaboração de legislação específica, devem atentar para o estabelecimento de valores máximos de alumínio e manganês presentes em pescado para consumo humano no Brasil.

REFERÊNCIAS

- BARTHEM, R. B.; GOULDING, M. The Catfish Connection: Ecology, Migration and Conservation of Amazon Predators. *Columbia University Press, New York*, 1997, 144p.
- CARVALHO, C. E. V. et al. Distribuição de Metais Pesados em Peixes Costeiros Bentônicos da Região de Macaé/RJ, Brasil. *Ecotoxicology and Environmental Restoration* 3 (2) 2000.
- CARVALHO, C. E. V.; LACERDA, L. D.; GOMES, M. P. Heavy Metals contamination of The Marine Bentic Biota of Rio de Janeiro Coast, SE-Brazil.. *Water, Air and Soil Pollution*, 57-58: 645-653. 1991.
- DEITZ, F. D; SLL, J. L.; BRISTOL, D. Metals and Other Elements – Rapid, Sensitive Method for Determination of Mercury in a Variety biological Samples. *Journal of Association Official Analytical Chemistry*, v.56 n.2, p.378–382, 1973.
- EYSINK, G. G. J. A. Presença de Mercúrio nos Ecossistemas Aquáticos do Estado de São Paulo: *CETESB – Companhia de Tecnologia de saneamento Ambiental*, 12-29: 1991.
- MANDARINO, M. et al. Determinação do Grau de Contaminação Mercurial na Musculatura de *Hoplias malabaricus* (Traira), *Loricariichthys* sp (Cascudo) e *Rhamdia* sp (Bagre), Coletados no Rio Paraíba do Sul, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS*, Porto Alegre, v. 28, n.1, p.79–88, 2000.
- PALHETA, D. da C., TAYLOR, A. Mercury in environmental and biological samples from a gold mining area in the Amazon region of Brazil. *The Science of the Total Environment* 168:63-69. 1995.
- PALHETA, D. da C. et al. Intoxicação Experimental por Arsênio em Peixe Amazônico Colossoma Macropomum Exposto Agudamente. In: ANAIS ELETRÔNICOS DO 35º CONBRAVET – Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária – Gramado – de 19 A 22 de outubro de 2008. Disponível em <<http://www.sovergs.com.br/combravet2008>>.
- ROSEMOND, S. de; QIANLI, X.; KARSTEN, L. Arsenic Concentration and Speciation in five freshwater fish species from Back Bay near Yellowknife, NT Canada. *Environ Monit Assess* 147:199-210, 2008.
- ROUX, D. J. et al. Note on the Occurrence of Selected Trace Metals and Organic Compounds in Water, Sediment and Biota of the Crocodile River, Eastern Transvaal, South Africa. *Water S A*, 20 (4): 333 – 340. 1994.

Xantana como adjuvante em vacina contra herpes suíno tipo 1

Talita B. Roos
Carina M. Moraes
Telmo Vidor
Claire T. Vendruscolo
Fábio P. L. Leite

RESUMO

Vacinação tem sido uma prática comum para prevenir ou minimizar os sintomas de doenças causadas por agentes infecciosos. Vacinas têm sido desenvolvidas utilizando-se microrganismos atenuados ou inativados. Recentemente peptídeos sintéticos e proteínas recombinantes constituem a base da nova geração de vacinas. Entretanto, ainda há necessidade de associação destes antígenos a adjuvantes para potencializar seu efeito imunológico. Embora várias substâncias tenham sido avaliadas para sua utilização em vacinas de uso veterinário, a produção de vacinas continua atrelada à utilização dos sais de alumínio ou de emulsões oleosas. O polissacarídeo produzido pela bactéria *Xanthomonas* sp. é uma nova alternativa para utilização como adjuvante vacinal. O objetivo deste estudo foi avaliar a ação adjuvante da Xantana na resposta humoral de camundongos a uma vacina de herpes suíno tipo 1 (SuHV-1). Os animais foram divididos em cinco grupos, utilizando adjuvantes diferentes para cada grupo. Os títulos de anticorpos foram determinados por ELISA, utilizando como antígeno a respectiva cepa vacinal. O adjuvante à base de Xantana apresentou a maior soroconversão dentre os adjuvantes todos adjuvantes testados. Este efeito foi mais pronunciado quando a via subcutânea foi utilizada. Baseado nos resultados obtidos, conclui-se que o polissacarídeo produzido pela bactéria *Xanthomonas* sp. possui ação adjuvante superior ou igual aos adjuvantes utilizados em vacinas comerciais.

Palavras-chave: Imunomodulação. Polissacarídeos. Vacinas.

Xantana as an adjuvant in swine herpes vaccine type 1

ABSTRACT

Vaccination has been a common practice to prevent or minimize the symptoms of diseases caused by infectious agents. Vaccines have been developed using an attenuated or inactivated microorganisms. Recently, synthetic peptides and recombinant proteins form the basis of the new generation of vaccines. However, there is need the association of these antigens with adjuvants to increase its immunological effect. Although several substances have been evaluated for use in

Talita B. Roos é Médica Veterinária MSc. Doutoranda em Veterinária, UFPel – RS.

Carina M. Moraes é Médica Veterinária, Dra., Prof. Substituta do Instituto de Biologia, UFPel – RS.

Telmo Vidor é Médico Veterinário, Dr., Prof. Adjunto da Faculdade de Veterinária, UFPel – RS.

Claire T. Vendruscolo é Química Industrial, Dra., Profa. Associada, UFPel – RS.

Fábio P.L. Leite é Médico Veterinário, Dr., Prof. Adjunto do Instituto de Biologia, UFPel – RS.

Endereço para correspondência: Talita B. Roos – Laboratório de Microbiologia – Prédio 18, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, UFPel. Campus Universitário, s/nº – CEP 96010-900 – Pelotas/RS, Brasil. E-mail: talitaroos@gmail.com

Veterinária em Foco	Canoas	v.6	n.2	p.154-158	jan./jun. 2009
---------------------	--------	-----	-----	-----------	----------------

vaccines for veterinary use the production of vaccine remains tied to the use of aluminum salts or oily emulsions. The polysaccharide produced by the bacterium *Xanthomonas* sp. is a new alternative for use as an adjuvant vaccine. This study aimed to evaluate the effect of adjuvant xanthan in humoral response of mice to a vaccine for pig herpes type 1 (SuHV-1). The animals were divided into five groups, using different adjuvants for each group. The titles of antibodies were determined by ELISA, using as antigen the vaccine strain. The adjuvant-based xanthan had the highest seroconversion among all tested adjuvants. This effect was more pronounced when subcutaneous via was used. Based on the results, we conclude that the adjuvant action of the polysaccharide produced by the bacterium *Xanthomonas* sp. has greater than or equal to the adjuvant used in commercial vaccines.

Keywords: Immunomodulation. Polysaccharides. Vaccines.

INTRODUÇÃO

Vacinação tem sido uma prática comum para prevenir ou minimizar os sintomas de doenças causadas por agentes infecciosos. Vacinas têm sido desenvolvidas utilizando-se microrganismos atenuados ou inativados. Recentemente peptídeos sintéticos e proteínas recombinantes constituem a base da nova geração de vacinas. Entretanto, ainda há necessidade de associação destes antígenos a adjuvantes para potencializar seu efeito imunológico (LEAL et al., 2002).

Apesar de um grande número de adjuvantes de diversas origens ter sido avaliado, grandes partes das vacinas comerciais continuam utilizando sais de alumínio. Em animais de produção são utilizados os adjuvantes à base de óleo, podendo causar lesões musculares ocasionando perdas econômicas. Embora várias substâncias tenham sido avaliadas para sua utilização em vacinas de uso veterinário (JANSEN et al., 2006) a produção de vacinas continua atrelada à utilização dos sais de alumínio ou de emulsões oleosas (LECLERC, 2003).

O reconhecimento de moléculas comuns em patógenos específicos é mediado primariamente pelos membros da família dos receptores Toll-like (TLR). O estímulo através desses receptores resulta em mudanças quantitativas e qualitativas na apresentação do antígeno e ativação celular, com isso relacionando a imunidade adaptativa com a imunidade inata (DOHERTY; ARDITI, 2005). Conseqüentemente, a incorporação dos adjuvantes que se ligue a receptores TLR poderá resultar em vacinas mais eficazes.

O polissacarídeo produzido pela bactéria *Xanthomonas* sp. é uma nova alternativa para utilização como adjuvante vacinal. O objetivo deste estudo foi avaliar a ação adjuvante da Xantana na resposta humoral de camundongos a uma vacina de herpes suíno tipo 1 (SuHV-1).

MATERIAIS E MÉTODOS

Cinqüenta fêmeas, de 21 dias de idade, foram divididas aleatoriamente em cinco grupos de 10 animais cada (Tabela 1).

As vacinas foram preparadas utilizando como antígeno SuHV-1 inativado na concentração de $1 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$, adicionando-se Xantana, Hidróxido de Alumínio ($\text{Al}(\text{OH})_3$), Óleo (Marcol 52 – Esso Standart Oil Co.) ou adjuvante completo de Freud. No dia zero do experimento, os animais foram vacinados com 0,25 mL da respectiva vacina, sendo revacinados no dia 28.

Os adjuvantes foram adicionados ao antígeno para preparo das vacinas, como demonstra a Tabela 2.

TABELA 1 – Divisão dos grupos utilizados no experimento, com o respectivo adjuvante e via de administração utilizados.

Grupo	Adjuvante	Via de aplicação
A	$\text{Al}(\text{OH})_3$	Subcutânea (SC)
B	Xantana	Subcutânea (SC)
C	Xantana	Intramuscular (IM)
D	Óleo	Intramuscular (IM)
E	Freud	Intramuscular (IM)

TABELA 2 – Preparo da vacina, demonstrando as quantidades e concentrações dos adjuvantes utilizados.

Grupo	Adjuvante	Concentração do adjuvante
A	$\text{Al}(\text{OH})_3$ a 4%	15%
B	Xantana	5mg/mL
C	Xantana	5mg/mL
D	Óleo	50%
E	Freud	50%

Os títulos de anticorpos foram determinados por ELISA, utilizando como antígeno a respectiva cepa vacinal. Coletou-se sangue do seio venoso retro-orbital nos dias 0, 14, 28, 42 e 56 do experimento. Os títulos individuais e a média dos grupos foram transformados em soroconversões, dividindo a absorbância respectiva pela da amostra do mesmo animal no dia 0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os cinco grupos apresentaram o efeito da vacinação e revacinação, como demonstra a Figura 1 e 2. O adjuvante à base de Xantana apresentou a maior soroconversão dentre os adjuvantes testados. Este efeito foi mais pronunciado quando a via SC foi utilizada.

Quando comparado o efeito adjuvante na resposta humoral contra SuHV-1, a vacina com xantana foi significativamente superior ($p < 0.05$) ao $\text{Al}(\text{OH})_3$. Esta diferença foi observada já a partir da segunda coleta (7 dias após a vacinação), demonstrando a potencialidade deste polissacarídeo como adjuvante e sugerindo a possível substituição de adjuvantes à base de sais de alumínio.

Nos animais vacinados por via IM, o polissacarídeo apresentou uma resposta humoral semelhante aos demais adjuvantes. Entretanto, a reação local foi menor do que os outros dois adjuvantes (dados não apresentados), tanto na primeira vacinação como no reforço. Observamos o mesmo efeito da soroconversão após sete dias da aplicação da vacina como na via SC sendo superior aos dois adjuvantes. Este fato é relevante, principalmente tratando-se de antígeno inativado, pois houve uma diminuição no período necessário para imunoproteção. Na revacinação, levou a uma soroconversão superior ao adjuvante Freud e similar ao Óleo. Os adjuvantes oleosos possuem uma propriedade importante que é a indução prolongada da resposta imune (COX; COULTER, 1997). Neste experimento com Xantana, este fato não pode ser observado, pois a duração do experimento foi de dois meses. Estes dados mostram que a Xantana pode ser utilizada por via IM o que é de importância, pois dependendo do antígeno esta é a via de eleição (LEVY et al., 1994).

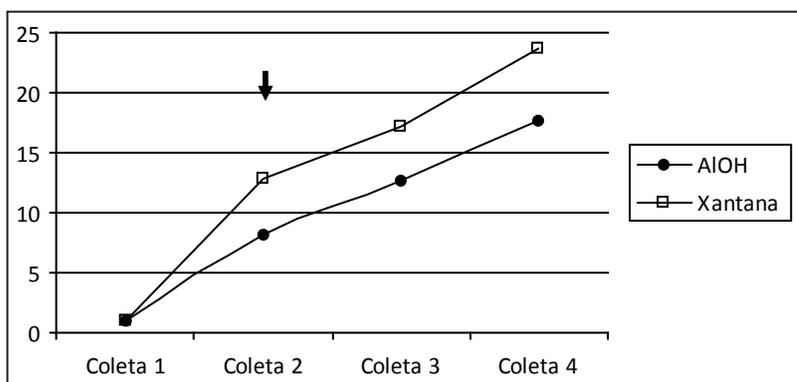


FIGURA 1 – Soroconversão vacinal por via SC. Médias (+/- EPM) das soroconversões avaliadas por ELISA (a seta indica a revacinação, * $p < 0,05$).

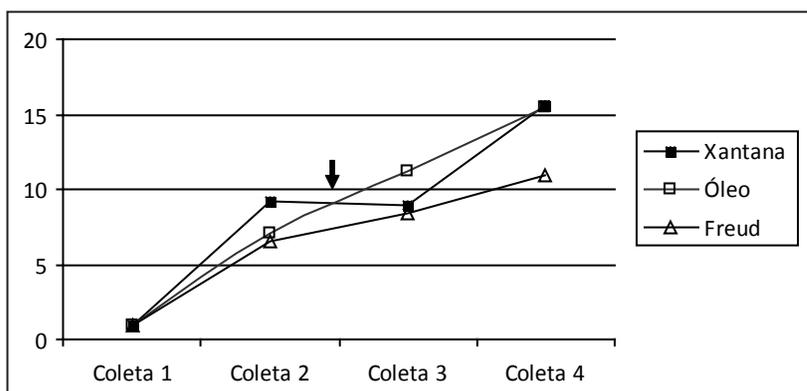


FIGURA 2 – Soroconversão vacinal por via IM. Médias (+/- EPM) das soroconversões avaliadas por ELISA (a seta indica a revacinação, * $p < 0,05$).

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que o polissacarídeo produzido pela bactéria *Xanthomonas* sp. possui ação adjuvante superior ou igual aos adjuvantes utilizados em vacinas comerciais. A mesma apresentou-se inócua aos animais imunizados, sugerindo que a Xantana possui um grande potencial para ser incorporada como adjuvante em vacinas para animais.

REFERÊNCIAS

- COX, J. C.; COULTER, A. R. Adjuvants – a classification and review of their modes of action. *Vaccine*, v.15, p.246-256, 1997.
- DOHERTY, T. M.; ARDITI, M. Innate Immunity, Toll-Like Receptors and Host Response to Infection. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, v.24, p.643–644, 2005.
- JANSEN, T. et al. Structure and oil type-based efficacy of emulsion adjuvants. *Vaccine*, v.24, p.5400-5405, 2006.
- LEAL, A. T. et al. Resposta sorológica de coelhos imunizados com antígenos de *pythium insidiosum* associados a diferentes adjuvantes. *Ciência Rural*, v.32, n.6, p.1027-1032, 2002.
- LECLERC, C. New approaches in vaccine development. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, v.26, p.329-341, 2003.
- LEVY, J. A.; FRAENKEL-CONRAT, H.; OWENS, R. A. 1994. *Virology*, 3.ed. Prentice Hall, New York.447p.

Pesquisa de genes de virulência em *Salmonella* Hadar em amostras provenientes de material avícola

Marco Aurélio de Oliveira Cesco
Francielli Cordeiro Zimmermann
Diana Bertani Giotto
João Guayba
Anderlise Borsoi
Sílvio Luís Rocha
Hamilton L. S. Moraes
Vladimir Pinheiro Nascimento

RESUMO

A salmonelose é uma das mais importantes zoonoses, mundialmente reconhecida por sua implicação em saúde pública e também por resultar em perdas econômicas na produção animal. O resultado das infecções por *Salmonella* é determinado pelo *status* do hospedeiro e o *status* da bactéria. Enquanto idade, genética e fatores ambientais podem determinar o *status* do hospedeiro, o *status* das bactérias é determinado pelos chamados fatores de virulência. No presente trabalho foram pesquisados três genes de virulência relacionados à *Salmonella*, os genes fimbriais *invA*, *agfA* e *lpfA*. Foram testadas 45 amostras isoladas a partir de mecônio, carcaças e cortes de frango no Rio Grande do Sul, pelo Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária (CDPA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Os testes foram feitos através da Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) e as leituras foram feitas em gel de agarose a 1,2% corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta. Os resultados obtidos mostram a presença dos três genes em todas as amostras de *Salmonella* Hadar testadas.

Palavras-chave: *Salmonella*. Hadar. Genes. Virulência. PCR.

Survey of virulence genes in *Salmonella* Hadar in materials coming from chickens

ABSTRACT

Salmonellosis is one of the most important zoonosis, recognized in the entire World for its importance in public health, and resulting in economic lost in animal production. The results of

Marco Aurélio de Oliveira Cesco é Médico Veterinário – CDPA/UFRGS.

Francielli Cordeiro Zimmermann é Médica Veterinária Msc. – CDPA/UFRGS.

Diana Bertani Giotto é Médica Veterinária Msc. – CDPA/UFRGS.

João Guayba é Graduando em Medicina Veterinária – CDPA/UFRGS.

Anderlise Borsoi é Médica Veterinária Msc. – CDPA/UFRGS.

Sílvio Luís Rocha é Biólogo Msc. – CDPA/UFRGS.

Hamilton L. S. Moraes é Médico Veterinário Dr. – CDPA/UFRGS.

Vladimir Pinheiro Nascimento é Médico Veterinário Dr. – CDPA/UFRGS.

Endereço para correspondência: Marco Aurélio de Oliveira Cesco – Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária – CDPA/UFRGS. Fone: (51) 9284.1982. E-mail: maocesco@yahoo.com.br

Veterinária em Foco	Canoas	v.6	n.2	p.159-164	jan./jun. 2009
---------------------	--------	-----	-----	-----------	----------------

Salmonella infection is determined by the host status and the status of bacteria. While age, genetic and environmental factors can determine the status of the host, the status of bacteria is determined by the called virulence factors. In this work tree genes were analyzed, the genus *invA*, *agfA* and *lppA*. 45 samples were tested, isolated from carcass, parts of carcass and feces samples in Rio Grande do Sul, by the Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária (CDPA) from Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). The tests were made by the Polymerase Chain Reaction (PCR) and the reads were made in 1,2% agarose gel colored with etidium bromet and analyzed in UV light. Results show the presence of all three genes in all samples of Salmonella Hadar tested.

Keywords: *Salmonella*. Hadar. Genes. Virulence. PCR.

INTRODUÇÃO

Bactérias do gênero *Salmonella* são bacilos Gram negativos que compõem um dos grupos mais complexos das *Enterobacteriaceae*. É uma das bactérias mais extensivamente estudadas em termos de fisiologia, genética e estrutura celular, sendo uma das bactérias patogênicas melhor caracterizadas em termos de virulência (DARWIN; MILLER, 1999).

A virulência das salmonelas é multifatorial e complexa, incluindo presença de fimbrias, de flagelos, mobilidade, habilidade de penetrar e replicar nas células epiteliais, resistência à ação do complemento, produção de entero, cito e endotoxinas (RODRIGUES, 2005). Alguns desses fatores são chamados de “clássicos” (VAN ASTEN; DIJK, 2005) e podem estar localizados em elementos genéticos transmissíveis, como *transposons*, plasmídeos ou bacteriófagos, assim como fazer parte de regiões específicas do cromossomo da bactéria, as chamadas Ilhas de Patogenicidade (IP), locais que agrupam a maioria dos genes de virulência (VAN ASTEN; VAN DIJK, 2005).

As IPs constituem-se por um grupo de genes envolvidos em codificar fatores específicos de virulência. Até o presente momento, cinco IPs foram descritas em *Salmonella* (HANSEN-WESTER; HENSEL, 2001). A IP-1 encontra-se em todas as variedades de *Salmonella enterica*. Os operons *Inv* (*invasibility*) e *Hil* (*hiper invasibility*) estão presentes nesta ilha, em meio a outros genes e proteínas. Estudos demonstraram que a *Salmonella* Typhimurium tem como célula alvo, para entrada no epitélio intestinal de camundongos, a célula M, e que é necessária a presença do gene *invA* para uma eficiente invasão dessas células (CLARK et al., 1998).

Outro importante influenciador da invasibilidade das *Salmonella* são os sistemas de secreção tipo III (SSTT) (WALLIS; GALYOV, 2000). O SSTT -1, é codificado por alguns genes, inclusive o *invA*, localizado na IP-1 e estes sistemas são responsáveis pela secreção de proteínas bacterianas que promovem a entrada da bactéria para o interior das células alvo.

Assim como outras bactérias patogênicas, as *Salmonellas* produzem apêndices de membrana chamados de fimbrias (TORTORA, et al. 2000). As fimbrias têm um papel fundamental na adesão às superfícies sendo importantes na interação bactéria-hospedeiro, persistência ambiental, formação de biofilmes, colonização e invasão de células (GIBSON et al., 2007).

Em salmonelas já foram identificados 20 *operons* fimbriais. Fazendo parte dos *operons* fimbriais *Salmonella*-específicos, está o *agf* (*aggregative fimbriae*), que codifica a fimbria SEF17 ou Tafi (*thin aggregative fimbriae*), a qual permite estabilidade à salmonela e auto-agregação bacteriana. Este gene está envolvido com o aumento da aderência e invasão às células eucarióticas (revisão de GIBSON et al. 2007).

Na prevalência dos *operons* fimbriais *Salmonella* - específicos, está incluído o *lpf* (*long polar fimbriae*), que regula a expressão de fimbria polar. O gene *lpfA* codifica a maior subunidade da fimbria, sendo que os genes fimbriais *lpf* completos parecem estar presentes somente em algumas sorovares de *Salmonella* subespécie *entéricas* e *S. bongori*.

O presente trabalho teve o objetivo de avaliar a presença dos genes de virulência, *invA*, *agfA* e *lpfA*, em 45 amostras de *Salmonella* Hadar, isoladas a partir de materiais de origem avícola, pelo Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária – CDPA/UFRGS.

MATERIAL E MÉTODO

O trabalho em questão foi realizado no Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária (CDPA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), em Porto Alegre. Foram analisadas 45 amostras de *Salmonella* Hadar, isoladas a partir de mecônio, carcaças e cortes de frango no Rio Grande do Sul, previamente identificadas no Instituto Oswaldo Cruz e que estavam estocadas na bacterioteca do CDPA-UFRGS. As amostras estavam acondicionadas em Agar Estoque e após reativação em caldo BHI, foram passadas para o caldo Rappaport-Vassiliadis que foi colocado em banho-maria a 42°C por 24h. Após, as amostras foram estriadas em Agar Verde Brilhante (BGN) e incubadas novamente a 37°C por 24h, para isolamento das colônias. Então foram selecionadas de 3 a 5 colônias com características compatíveis com as de *Salmonella* e inoculadas em microtubos tipo *ependorf* contendo 1 ml de caldo BHI, sendo estes então incubados por 24h a 37°C. A extração do DNA foi realizada a partir desta alíquota de BHI contida nos *ependorfs*, e seguiu a técnica adaptada de Xuan Guo (2000), a qual é realizada a partir de centrifugações das alíquotas, seguidas de lavagem das mesmas e obtenção do DNA por lise das células bacterianas em banho-maria a 100°C. Os *mixes* utilizados nas três reações eram semelhantes e continham um volume total de 25 µL, compostos de 2,5 µL de solução tampão (10 X), 2 µL de dinucleotídeos (2,5 mM), 1 µL de cada primer (20pmol), 0,2 µL de Taq polimerase (1 U), 1,25 µL MgCl₂ (2,5 mM), (para o gene *lpfA* a quantidade de MgCl₂ foi de 2 µL) e 2 µL do DNA previamente extraído.

Os protocolos para o termociclador também eram muito parecidos. Neles as amostras eram submetidas à desnaturação inicial de 5 minutos a 94 °C, seguida de 35 ciclos de desnaturação a 94 °C por 1 segundo, anelamento a 55°C (para o gene *agfA* a temperatura de anelamento foi de 58°C) por 1 segundo e extensão a 74°C por 21 segundos realizando-

se uma extensão final a 72°C por 7 minutos. Os *primers* para cada gene utilizado nas reações estão descritos na tabela abaixo.

TABELA 1 – *Primers* para os genes *invA*, *agfA* e *lpfA*.

Gene	Primers
<i>invA</i>	F 5' GTG AAA TTA TCG CCA CGT TCG GGC AA 3' R 5' TCA TCG CAC CGT CAA AGG AAC C 3'
<i>agfA</i>	F 5'TCC ACAATG GGG CGG CGG CG 3' R 5'CCT GAC GCA CCA TTA CGC TG 3'
<i>lpfA</i>	F 5'CTT TCG CTG CTG AAT CTG GT 3' R 5'CAG TGT TAA CAG AAA CCA GT 3'

Após a amplificação as amostras foram aplicadas em gel de agarose (1,2%) com 20% de brometo de etídeo, juntamente com um marcador de peso molecular. O gel foi submetido a eletroforese e posterior leitura em luz ultravioleta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nos testes mostram a presença dos três genes investigados em todas as amostras de *Salmonella* Hadar testadas, como pode ser verificado nas Figuras 1 a 3.

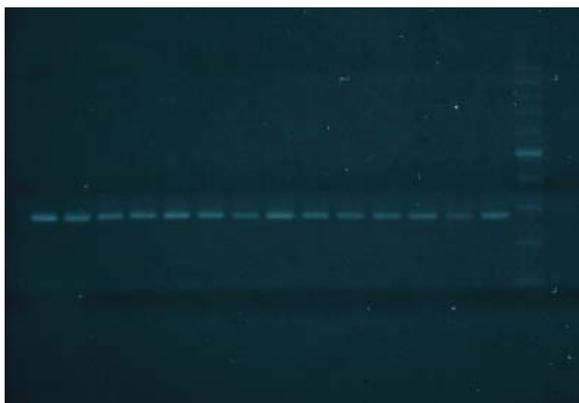


FIGURA 1 – Imagem do gel de agarose. Bandas compatíveis com gene *invA* dos isolados de *S. Hadar* (284 pares de bases). Seta indicando banda de 300pb do marcador de peso molecular.



FIGURA 2 – Imagem do gel de agarose. Bandas compatíveis com gene *agfA* dos isolados de *S. Hadar* (350 pares de bases). Setas indicando banda de 400pb do marcador de peso molecular.



FIGURA 3 – Imagem do gel de agarose. Bandas compatíveis com gene *lpfA* dos isolados de *S. Hadar* (250 pares de bases). Setas indicando banda de 300pb do marcador de peso molecular.

A *Salmonella* Hadar pertence ao grupo das salmonelas partíficas ou zoonóticas, porém, diferente destas, *S. Hadar*, não é considerada, até o momento, pelo *European Union Zoonosis Council Directive 92/117/EEC*, um sorovar invasivo. No entanto, este sorovar já foi isolado de órgãos de aves (DESMIT et al., 1998) e, associando este fato aos resultados desse trabalho, pode-se sugerir que a mesma possui um potencial invasivo. É neste contexto que estudos do genótipo da *S. Hadar*, como o realizado neste trabalho, vêm contribuir para a sua caracterização e maior entendimento da interação da mesma com o hospedeiro.

CONCLUSÃO

A capacidade invasiva das *Salmonellas* é regulada por uma série de fatores. Além dos genes pesquisados nesse trabalho, existem ainda muitos outros que estão envolvidos neste

processo. Desta forma, a continuidade do estudo genético dessa bactéria é de fundamental importância na compreensão do seu mecanismo de patogenicidade.

REFERÊNCIAS

- CLARK, M. A.; HIRST, B. H.; JEPSON, M. A. Inoculum composition and Salmonella pathogenicity island 1 regulate M- cell invasion and epithelial destruction by Salmonella typhimurium. *Infection and Immunity*, v.66, n.2, p.724-731, 1998.
- DARWIN, K. H.; MILLER, V. L. Molecular Basis of the Interaction of *Salmonella* with the Intestinal Mucosa. *Clin. Microbiol. Rev.*, 12: 405-428, 1999.
- DESMIDT, M.; DUCATELLE, R.; HAESEBROUCK, F. Serological and bacteriological observations on experimental infection with *Salmonella* hadar in chickens. *Veterinary Microbiology*, v.60, n.2-4, p.259-269, 1998.
- GIBSON, D. L. et al. AgfC and AgfE facilitate extracellular thin aggregative fimbriae synthesis in *Salmonella* Enteritidis. *Microbiology-Sgm*, v.153, p.1131-1140, 2007.
- GUO, X. et al. PCR detection of *Salmonella enterica* serotype Montevideo in and on raw tomatoes using primers derived from *hlyA*. *Applied and Environmental Microbiology*, p. 5248-5252, 2000.
- RODRIGUES, D. P. Ecologia e prevalência de *Salmonella* spp. em aves e material avícola no Brasil. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005. Santos, SP. *Anais*. Campinas: FACTA, 2005. v.2, p.223-228.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 6.ed. Porto Alegre: Art-med, 2000. p.83.
- WALLIS, T. S.; GALYOV, E. E. Molecular basis of *Salmonella*-induced enteritis. *Molecular Microbiology*, v.36, n.5, p.997-1005, 2000.

Avaliação hematológica de nove pingüins-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*, Foster 1781) mantidos em cativeiro

Shanna Destri Emmerick Campos
Júlia Mara Dourado Sóccio
Renata Rezende Guedes Correia Oliveira
Pedro Bittencourt Velho
André Luiz Paiva Sena Maia
Ananda Müller Pereira
Nádia Regina Pereira Almosny

RESUMO

Atualmente os exames complementares hematológicos em aves vêm sendo bastante úteis na avaliação do curso e prognóstico de muitas enfermidades. O objetivo deste trabalho foi relatar os achados hematológicos de pingüins-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*, Foster 1781) em uma investigação sobre suas causas de mortalidade. Em nove pingüins-de-magalhães jovens procedeu-se exame clínico e coleta de amostras sanguíneas que foram processadas no Laboratório Clínico Veterinário da Universidade Federal Fluminense. O exame clínico revelou mucosas hipocoradas, baixo escore corporal, dispnéia, desidratação e traumas. De acordo com o eritrograma 33,3% e 88,9% dos animais demonstraram diminuição do volume globular e hematimetria, respectivamente, caracterizando anemia, embora não se possa descartar possível redução fisiológica em pingüins jovens. Em 88,9% das aves houve aumento do volume globular médio, indicando componente arregenerativo na eritropoiese. Observaram-se baixos valores de hemoglobina em 22,2% das aves, sustentando a hipótese de anemia, enquanto 55,6% obtiveram aumento de hemoglobinometria e 100% de altas concentrações de hemoglobina globular média, sugerindo hemólise iatrogênica e/ou processos hemolíticos. Não foram encontrados hemoparasitas. 100% dos animais apresentaram leucocitose, heterófilos tóxicos e monócitos ativados. Em resposta à severa doença sistêmica, heterófilos de aves apresentam alterações tóxicas, como as evidenciadas. Pode-se concluir que a leucocitose associada à toxicidade de heterófilos e monócitos ativados sugere a presença de processo inflamatório, com componente infeccioso associado, provavelmente por severa infecção bacteriana. Embora a avaliação hematológica não determine que órgãos são afetados pela infecção e qual a desordem primária, os exames foram essenciais para delineamento e prognóstico da doença.

Palavras-chave: Hematologia. Pingüins-de-magalhães. *Spheniscus magellanicus*.

Shanna Destri Emmerick Campos é Médica Veterinária – UFF.

Júlia Mara Dourado Sóccio é Aluna de Graduação em Medicina Veterinária – UFF.

Renata Rezende Guedes Correia Oliveira é Aluna de Graduação em Medicina Veterinária – UFF.

Pedro Bittencourt Velho é Médico Veterinário – UFF.

André Luiz Paiva Sena Maia é Médico Veterinário – ZooNit.

Ananda Müller Pereira é Médica Veterinária MSc. – UFF.

Nádia Regina Pereira Almosny é Profa. Dra. – UFF.

Veterinária em Foco	Canoas	v.6	n.2	p.165-171	jan./jun. 2009
---------------------	--------	-----	-----	-----------	----------------

Hematological evaluation of nine magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*, Foster 1781) kept in captivity

ABSTRACT

Hematological exams in birds are considered very useful tools in evaluating and establishing prognosis of many diseases nowadays. The aim of this study was to describe hematological findings of Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*, Foster 1781) concerning about some deaths in the group. Nine young penguins were submitted to clinical examination and blood collection. Samples were evaluated in Laboratório Clínico Veterinário from Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, Brazil. Clinical examination revealed pale mucous, low body score, dyspnea, dehydration and body traumas. Eritrogram showed anemia with low Packed Cell Volume (PCV) and low Red Blood Cell Count (RBC) in 33,3% e 88,9% animals, respectively. 88,9% birds probably had a non-regenerative anemia with high Medium Corpuscular Volume (MCV) and low hemoglobin (Hb) concentrations in 22,2%. High Hb results were find in 55,6% and high Medium Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC) in all penguins, suggesting iatrogenic hemolysis and/or hemolytic disorders. Hemoparasites were not found during blood smear analysis. 100% animals presented leukocytosis, toxic heterophils and activated monocytes. Birds heterophils respond to severe systemic illness developing toxic features such as these found in this paper. In conclusion, heterophil leukocytosis, associated to toxic heterophils and activated monocytes suggests inflammatory disease with infectious component, due to severe bacterial infection. Although hematologic evaluation do not determine witch organs are affected by the infection and what was the primary disorder, these exams were the key to establish the disease course and prognosis in this case.

Keywords: Hematology. Magellanic penguins. *Spheniscus magellanicus*.

INTRODUÇÃO

Os pingüins-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*, Foster 1781) são aves marinhas habitantes de regiões frias do hemisfério sul (STOSKOPF, 1993; RUOPPOLO; SANTOS, 1999; RUOPPOLO et al., 2004). Após o período reprodutivo, que ocorre entre os meses de setembro e março, exemplares adultos e jovens deixam as colônias e iniciam uma migração acompanhando as correntes marítimas e o deslocamento dos cardumes de anchoita (*Engraulis anchoita*) que compõem até 72% de sua dieta (SILVA FILHO; RUOPPOLO, 2006). Por procurarem alimentos a grandes distâncias das áreas de reprodução, alguns animais, em especial os jovens podem se perder do grupo na corrente das Malvinas chegando às costas Sul e Sudeste do Brasil, de onde são resgatados e levados para os Jardins Zoológicos ou Centros de Recuperação e, apesar de consideradas aves extremamente resistentes, é freqüente se observarem alterações clínicas nestes indivíduos recém-chegados (STOSKOPF, 1993; RUOPPOLO; SANTOS, 1999; RUOPPOLO et al, 2004; SILVA FILHO; RUOPPOLO, 2006). Estes se apresentam fracos e cansados, em decorrência do longo percurso, dificuldade na caça e busca por alimentos, doenças e contaminação por derramamento de óleo (RUOPPOLO et al, 2004; SILVA FILHO; RUOPPOLO, 2006). A ordem Sphenisciformes constitui uma das ordens de aves com maior carência em padrões hematológicos disponíveis na literatura (HAWKEY et al, 1989). Atualmente a realização de exames complementares em hematologia tem se tornado um instrumento bastante útil na avaliação do curso e prognóstico de muitas

enfermidades, e assim como em mamíferos domésticos, fatores como a espécie, idade, sexo, estado físico e nutricional do animal e estação do ano podem determinar variações no perfil hematológico dos pingüins (HAWKEY et al, 1989).

O objetivo deste trabalho foi relatar os achados hematológicos da avaliação de nove pingüins-de-magalhães jovens, durante uma investigação sobre as possíveis causas de sua mortalidade, correlacionando com as alterações clínicas evidenciadas e com a situação de cativeiro, comparando com os resultados demonstrados na literatura existente.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o presente estudo nove pingüins-de-magalhães jovens (*Spheniscus magellanicus*), mantidos em cativeiro no Zoológico de Niterói, pertencentes a um plantel de aproximadamente 50 animais, dentre os quais alguns haviam apresentado alterações clínicas, foram submetidos a exame físico após contenção mecânica segundo a técnica descrita por Silva Filho e Ruoppolo (2006). Após estarem corretamente posicionados, realizava-se a abertura do bico para inspeção de suas mucosas. Inspeccionaram-se os animais a procura de ferimentos na cavidade oral, geralmente provocados pela ingestão de peixes que em vida livre não participam de seus hábitos alimentares. A palpação da musculatura peitoral foi realizada para determinação do escore corporal. Em seguida procedeu-se a coleta de amostras sanguíneas. Foram coletados aproximadamente 3mL de sangue de cada animal, a partir de punção na veia metatársica média, sendo as amostras acondicionadas em tubos contendo anticoagulante EDTA. Foi confeccionado esfregaço sanguíneo no momento da coleta. As amostras de sangue total foram transportadas sob refrigeração para o Laboratório Clínico Veterinário do Hospital Universitário Veterinário Professor Firmino Mársico Filho, da Universidade Federal Fluminense, onde o material foi processado. Os hemogramas foram realizados a partir de contagem manual de hemácias, trombócitos e leucócitos em hemocítmetro (Câmara de Neubauer Improved®) com diluição de 1:200 em solução fisiológica. Um contador automático de células T-890 (Coulter Corp, Hialeah, Flórida, USA) foi utilizado para as dosagens de hemoglobina. Os resultados encontrados foram conferidos na lâmina de esfregaço sanguíneo e o hematócrito foi mensurado com o auxílio de uma régua após centrifugação em microcentrífuga modelo 241 (Fanem, São Paulo, Brasil). Os esfregaços sanguíneos foram fixados em metanol e corados em solução de Giemsa (Merck, São Paulo, Brasil). A leitura da lâmina consistiu somente na avaliação morfológica de leucócitos (leucocitoscopia) e hemácias (hematoscopia) e pesquisa de hematozoários, em objetiva de imersão, sendo demais resultados encontrados nas contagens globais conferidos na lâmina e correlacionados com os valores de normalidade presentes na Tabela 1. Para o cálculo da média e desvio padrão dos parâmetros hematológicos encontrados foi utilizado o programa EXCEL (Microsoft®). Como não havia valores disponíveis de Leucometria global e trombócitos para a referida espécie (*Spheniscus magellanicus*), os resultados destes parâmetros foram comparados a valores da espécie *Spheniscus humboldti*, sendo considerados como normalidade 13.000 ± 3.700 leucócitos/ μ L e 18.300 ± 4.600 trombócitos/ μ L (VILLOUTA et al., 1997).

TABELA 1 – Valores Hematológicos de referência para a espécie *Spheniscus magellanicus*.

Parâmetros	Valores de Referência*
Hematimetria (x10 ⁶ /μL)	1,57 – 2,41
Hemoglobina (g/dL)	12,1 – 15,7
Volume Globular (%)	38 – 46
VGM ¹ (fL)	181 – 249
CHGM ² (%)	30,3 – 35,9
Trombócitos**	13700 – 22900
Leucometria Global**	9300-16700

* HAWKEY et al. ; **VILLOUTA et al.

¹ Volume Globular Médio, ² Concentração de Hemoglobina Globular Média.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao exame clínico foram detectadas mucosas hipocoradas em aproximadamente 50% dos animais avaliados e peso abaixo do esperado, além de intensa dispnéia, desidratação e eventualmente lesões sugestivas de trauma em diferentes regiões do corpo. Os animais apresentavam, ainda, alterações gastrointestinais, evidenciadas por mudança na coloração das fezes. Os resultados hematológicos dos nove pingüins-de-magalhães avaliados encontram-se na Tabelas 2 e 3.

TABELA 2 – Resultados do eritrograma, contagem de trombócitos e leucometria global de nove pingüins-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*) mantidos em cativeiro na Fundação Zoológico de Niterói.

Animal N°	Hematimetria (x10 ⁶ /μL)	HGB* (g/dL)	Volume Globular (%)	VGM** (fL)	CHGM*** (%)	Trombócitos (/μL)	LG**** (/μL)
1	1,44	16,2	45	312,5	36	22140	59900
2	1,86	17,9	42	225,8	42,6	17160	48800
3	1,00	15,9	38	380	41,8	18480	37500
4	1,13	12,0	29	256,6	41,4	14520	51500
5	1,38	16,4	41	297,1	40	22620	55400
6	1,37	14,8	37	270,1	40	17000	83000
7	1,47	15,6	38	258,5	41	41250	146300
8	1,43	16,8	42	293,7	40	12350	20200
9	0,79	11,1	27	341,7	41	32000	68000
MÉD ¹ ± DP ²	1,0 – 1,6	13,1 – 17,3	32 – 43,4	248,3 – 337,5	38,6 – 42,2	12722 – 31172	24600 – 102187

* Hemoglobinometria, ** Volume Globular Médio, *** Concentração de Hemoglobina Globular Média.

**** Leucometria Global.

¹ Média, ² Desvio Padrão.

TABELA 3 – Resultados da avaliação morfológica de esfregaços sangüíneos (hematoscopia, leucocitoscopia e pesquisa de hemoparasitas) de nove pingüins-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*) mantidos em cativeiro na Fundação Zoológico de Niterói.

Animal Nº	Hematoscopia	Leucocitoscopia	Pesquisa de Hemoparasitas
1	Anisocitose e Policromasia	Heterófilos hipersegmentados, degranulação dos heterófilos, monócitos ativados	Não foram encontrados
2	Anisocitose e Policromasia	Heterófilos hipersegmentados, degranulação dos heterófilos, monócitos ativados	Não foram encontrados
3	Anisocitose e Policromasia	Heterófilos com morfologia normal e alguns segmentados	Não foram encontrados
4	Anisocitose e Policromasia	Heterófilos hipersegmentados, degranulação dos heterófilos, monócitos ativados	Não foram encontrados
5	Anisocitose e Policromasia	Heterófilos hipersegmentados, degranulação dos heterófilos, monócitos ativados	Não foram encontrados
6	Anisocitose e Policromasia	Heterófilos hipersegmentados, degranulação dos heterófilos, monócitos ativados	Não foram encontrados
7	Anisocitose e Policromasia	Heterófilos hipersegmentados, degranulação dos heterófilos, monócitos ativados	Não foram encontrados
8	Anisocitose e Policromasia	Heterófilos com morfologia normal	Não foram encontrados
9	Anisocitose e Policromasia	Heterófilos hipersegmentados, degranulação dos heterófilos, monócitos ativados	Não foram encontrados

De acordo com os resultados do eritrograma (Tabela 2) 33,3% e 88,9% dos pingüins avaliados demonstraram diminuição do volume globular e hematimetria, respectivamente, caracterizando anemia, embora não se possa descartar a hipótese de uma redução fisiológica no volume globular em pingüins jovens, uma vez que os valores de normalidade empregados foram relativos a animais adultos (STOSKOPF et al., 1980; HAWKEY et al, 1984). Mudanças no tamanho dos eritrócitos das aves incluem microcitose, macrocitose e anisocitose (CAMPBELL, 2004). Em aves, os eritrócitos jovens possuem tamanho menor do que os maduros e deste modo, as anemias microcíticas associadas à policromasia são consideradas regenerativas (ALMOSNY; MONTEIRO, 2006). Entretanto, em 88,9% dos animais estudados, o VGM estava acima dos valores de referência e nos demais estava dentro dos limites esperados para a espécie, indicando a presença de um componente arregenerativo na eritropoiese desses exemplares, que em aves pode estar associado às doenças fúngicas e bacterianas, doença inflamatória crônica, doença renal ou hepática crônica ou neoplasias (ALMOSNY; MONTEIRO, 2006). Entretanto, não se pode descartar a existência de sinais de regeneração, evidenciados à hematoscopia (Tabela 3) em função da anisocitose e policromasia (ALMOSNY; MONTEIRO, 2006). Observou-se também que, em relação à hemoglobinometria (HGB), 22,2% demonstraram baixos valores de hemoglobina, sustentando a hipótese de anemia. 55,6% dos animais obtiveram valores

aumentados de hemoglobinometria e 100% altas Concentrações de Hemoglobina Globular Média (CHGM), que podem ser devidos à hemólise iatrogênica e/ou processos hemolíticos (CAMPBELL, 2004). Os resultados encontrados neste trabalho revelaram que 22,2% dos pingüins avaliados apresentavam aumento na contagem de trombócitos, 11,1% apresentavam trombocitopenia, enquanto a maioria das aves apresentou resultados dentro dos valores de normalidade. Tais variações não foram consideradas significantes devido ao fato de que os valores de referência utilizados pertenciam à espécie (*Spheniscus humboldti*) e não ao pingüim-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*), cujos valores de referência não foram encontrados. De acordo com Campbell (2004), a trombocitopenia pode resultar de uma redução na produção medular ou aumento do consumo periférico e, eventualmente pode ser associada à septicemia ou coagulação intravascular disseminada. Na avaliação dos esfregaços sangüíneos não foram encontrados hemoparasitas, o que contrasta com o comum achado de malária (*Plasmodium elongatum* e *Plasmodium relictum*) em pingüins de vida livre e de cativeiro (CLARKE; KERRY, 1993). Por outro lado, um resultado negativo para hemoparasitas não descarta a possibilidade de infecção (CAMPBELL, 2004).

Na Leucometria Global 100% dos animais apresentaram leucocitose, heterófilos apresentando alterações tóxicas (hipersegmentação e degranulação), além de monócitos ativados (Tabela 3). As leucocitoses em animais selvagens estão freqüentemente associadas ao estresse, entretanto, os processos infecciosos agudos, em especial de origem bacteriana, em geral estão acompanhados de leucocitose com aumento de heterófilos (ALMOSNY; MONTEIRO, 2006). Os heterófilos são funcionalmente equivalentes aos neutrófilos de mamíferos. Eles participam ativamente em lesões inflamatórias e são fagócitos (TOPP; CARLSON, 1972). Os grânulos dos heterófilos contêm lisozimas e proteínas necessárias para atividade bactericida. Em resposta à severa doença sistêmica, heterófilos de aves apresentam alterações tóxicas, assim como as evidenciadas nos pingüins-de-magalhães do presente estudo, semelhantes àquelas encontradas em neutrófilos de mamíferos. Heterófilos tóxicos têm aumento de basofilia citoplasmática, vacuolização e granulação anormal, (como degranulação) e degeneração do núcleo da célula (CAMPBELL, 2004) Já os monócitos possuem atividade fagocítica e migram para os tecidos, transformando-se em macrófagos (HARMON; GLISSON, 1993). Estas células possuem substâncias químicas ativas que estão envolvidas na inflamação e destruição de organismos invasores. Monócitos possuem, ainda, um importante papel imunológico no processamento de antígenos (CAMPBELL, 2004). Portanto, a leucocitose, que se demonstrou inclusive bastante marcante em alguns indivíduos, associada à toxicidade dos heterófilos e presença de monócitos ativados sugeriu a presença de um processo inflamatório, com componente infeccioso associado, provavelmente relacionado a uma severa infecção bacteriana nos pingüins deste estudo.

CONCLUSÃO

Com este trabalho, pode-se concluir, correlacionando os resultados hematológicos com os dados clínicos, que os pingüins apresentavam um marcante processo inflamatório com componente infeccioso associado, provavelmente de origem bacteriana e embora a avaliação dos parâmetros hematológicos não permita o diagnóstico preciso sobre localização

do processo infeccioso e sobre qual foi a desordem primária, os exames foram essenciais para delineamento e prognóstico da doença. Muitas vezes a presença de desordens múltiplas nos animais leva ao aparecimento de sinais clínicos inespecíficos, sendo assim necessários exames complementares e mais estudos acerca dos pingüins-de-magalhães para que os diagnósticos sejam cada vez mais precisos e o tratamento iniciado precocemente.

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*. São Paulo: Roca. 2006. 1354p. Cap.59, p.939-966.
- CAMPBELL, T. W. Hematologia de Aves. In: THRALL, M. A. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2004. 582p. Cap.17. p.215-247.
- CLARKE, J. R.; KERRY, K. R. Diseases and parasites of penguins. *Korean Journal of Polar Research*. v.4, n2. p.79-96. 1993.
- HARMON, B. G.; GLISSON, J. R. Disassociation of bactericidal and fungistatic activities from the oxidative burst of avian macrophages. *American Journal of Veterinary Research*. Georgia. v. 51, n.1, p.71-75, jan. 1990.
- HAWKEY, C. M.; HART, M. G.; SAMOUR, H. J. Age-related changes and haemopathological responses in Chilean flamingos (*Phoenicopterus chilensis*). *Avian Pathology*. Londres, v.13, n2, p.223-229, abr. 1984.
- HAWKEY, C. M.; HORSLEY, D. T.; KEYMER, I. F. Haematology of wild penguins (*Sphenisciformes*) in the Falkland Islands. *Avian Pathology*. Londres, v.18, n.3, p.495-502. jul. 1989.
- RUOPPOLO, V. et al. Reabilitação de pingüins afetados por petróleo. *Clínica Veterinária*, São Paulo, ano IX, n.51, p.78-83. jul./ago. 2004.
- RUOPPOLO, V.; SANTOS, M. C. O. Aves e mamíferos visitantes da costa brasileira. *Clínica Veterinária*. São Paulo, ano IV, n.20, p.37-40 maio/jun. 1999.
- SILVA FILHO, R. P.; RUOPPOLO, V. *Sphenisciformes* (Pingüim). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. *Tratado de Animais Selvagens*. São Paulo: Roca. 2006. 1354p. Cap.21, p. 309-323.
- STOSKOPF, M. K. Penguin and Alcid Medicine. In: FOWLER, M. E. *Zoo & Wild Animal Medicine – Current Therapy*. 3.ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1993. 617p. Cap.24, p.189-194.
- STOSKOPF, M. K.; YARBROUGH, B. A.; BEALL, F. B. *Baseline hematology of the African black-footed penguin*. In: MONTALI, R. J.; MIGAKI, G. (eds.). *The symposia of national zoological parks. The Comparative Pathology of Zoo Animals*. Washington: Smithsonian Institution Press. 1980. 684p. p.647-652.
- TOPP, R. C.; CARLSON, H. C. Studies on avian heterophils II: histochemistry. *Avian Diseases*. Ontario. v.16, n2, p.369-373. jan./mar. 1972.
- VILLOUTA, G.; HARGREAVES, R.; RTVEROS, V. Haematological and clinical biochemistry findings in captive Humboldt penguins (*Spheniscus humboldti*). *Avian Pathology*. Santiago. v. 26, n.4, p.851-858. dez. 1997.

O mapa conceitual como estratégia de aprendizagem significativa na formação da Medicina Veterinária

Bruna Helena Kipper
Maria Helena dos Santos
Carlos Efrain Stein

RESUMO

O Ensino Superior no Brasil está modificando alguns princípios de ensino-aprendizagem para melhor preparar o discente à vida profissional. É necessário, pois os métodos de ensino possibilitam a formação de profissionais críticos e reflexivos para a resolução de problemas da saúde animal e humana demandadas pelos serviços. A problematização, baseada no Arco de Maguerez, é priorizada como uma metodologia ativa na formação da Medicina Veterinária da Universidade Regional de Blumenau. Para proporcionar aos discentes uma aprendizagem significativa pode-se utilizar o mapa conceitual. Com o presente estudo objetivou-se avaliar a metodologia da problematização através do mapa conceitual. Realizou-se um questionário estruturado, sendo este aplicado aos discentes do Módulo de Saúde Pública I, da Universidade Regional de Blumenau. Os dados foram analisados através do software EPIINFO versão 3.4.2 e organizados através de tabelas, gráficos e medidas descritivas tais como proporção, média e desvio padrão. Foram realizadas estimativas em forma de intervalos de confiança de 95% e testes qui-quadrado para comparar proporções. Do total entrevistado, 68,4% pertenciam ao sexo feminino, todos já utilizaram o método do mapa conceitual e 97,4% o fizeram em aula. 84,2% ($p < 0,001$) afirmaram gostar do método como estratégia de ensino-aprendizagem. O mapa conceitual possui, de acordo com a pesquisa, nível de significância muito importante na integração dos conteúdos, sendo afirmado por 67,6% dos entrevistados. Os resultados obtidos confirmam a eficácia da metodologia da problematização com a estratégia do Arco de Maguerez. É uma metodologia ativa e um desafio na formação da medicina veterinária.

Palavras-chave: Arco de Maguerez. Ensino superior. Mapa conceitual. Medicina veterinária. Problematização.

The conceptual map meaningful learning how strategy in training of Veterinary Medicine

ABSTRACT

The Higher Education in Brazil is modifying some principles of teaching-learning to better prepare the student to life. It is necessary because the methods of teaching enable the training of

Bruna Helena Kipper é Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária da Fundação Universidade Regional de Blumenau/SC.

Maria Helena dos Santos é Médica Veterinária, Professora da Faculdade de Medicina Veterinária da Fundação Universidade Regional de Blumenau/SC.

Carlos Efrain Stein é Professor da Faculdade de Medicina Veterinária da Fundação Universidade Regional de Blumenau/SC.

Endereço para correspondência: Fundação Universidade Regional de Blumenau. Rua Antônio da Veiga, nº 140 Bairro: Victor Konder, CEP: 89012900 – Blumenau/SC.

Veterinária em Foco	Canoas	v.6	n.2	p.172-178	jan./jun. 2009
---------------------	--------	-----	-----	-----------	----------------

professionals reflective and critical to solving problems of animal health and human services by defendants. The problematization, based on the Arc de Magueréz, is prioritized as a methodology active in the formation of the Regional Veterinary Medicine at the University of Blumenau. To give students a significant learning you can use the conceptual map. With this study aimed to evaluate the methodology of problematization through the conceptual map. There was a structured questionnaire, which is applied to students of Module I of Public Health, the University of Blumenau Regional. The data were analysed by the software EPIINFO version 3.4.2 and organized by tables, charts and descriptive measures such as proportion, average and standard deviation. Estimates were made in the form of intervals at 95% and Chi-square to compare proportions. Of the total interviewed, 68.4% belonged to female, all have used the method of conceptual map and 97.4% did so in class. 84.2% ($p < 0001$) said like the method and strategy of teaching-learning. The conceptual map has, according to the survey, level of significance very important in the integration of content, and affirmed by 67.6% of the interviewees. The results confirm the effectiveness of the methodology of problematization with the strategy of Arc of Magueréz. It is a methodology and an active challenge in the training of veterinary medicine.

Keywords: Arc of Magueréz. Conceptual map. Higher education. Problematization. Veterinary medicine.

INTRODUÇÃO

Atualmente diversas Instituições de Ensino Superior, como a Universidade Regional de Blumenau no curso de Medicina Veterinária, estão inovando seus métodos de ensino, utilizando várias ferramentas para auxiliar o estudo acadêmico. Entretanto, o método de ensino tradicional ainda é muito difundido. Nele cada disciplina é coberta de uma maneira separada das demais. Não ocorre uma relação e uma integração dos conteúdos (BORDENAVE, 2001). Nestes casos ocorre uma séria desvantagem, e muitos profissionais estão sendo prejudicados ao entrar no mercado de trabalho. Este método de ensino não é capaz de gerar pensamentos críticos e de opinião própria. Para se obter uma aprendizagem significativa é necessário que ocorra motivação, concentração, envolvimento com a matéria, memorização e a transferência do aprendizado para outras situações (GIL, 1990).

O curso de Medicina Veterinária da Universidade Regional de Blumenau implantou, juntamente com a divisão dos conteúdos em módulos, a metodologia da problematização. O estudo em módulo, por si só, já é um meio de integração, pois as disciplinas nele contidas são dependentes e caminham juntas. Na prática, busca colocar em foco assuntos que importam na formação do estudante (BORDENAVE, 2001). Esta metodologia é definida, no curso, em função do perfil profissional de saída, bem como das competências previstas para o curso e requeridas pelo mercado profissional.

Uma estratégia da metodologia da problematização é o mapa conceitual, que consiste na construção de um diagrama indicando a relação de conceitos de forma hierárquica. Os conceitos mais gerais aparecem na parte superior, e na parte inferior os mais específicos. As linhas que ligam os conceitos demonstram as relações existentes. Consegue-se, assim, integrar os conteúdos, destacar os pontos mais importantes do assunto e ter uma visão ampla de forma sucinta (ANASTASIOU; ALVES, 2004). Para auxiliar o desenho de

mapas conceituais têm-se o programa CmapTools, uma ferramenta para elaborar esquemas conceituais e representá-los graficamente.

Bordenave e Pereira (2001) utilizaram um esquema de trabalho construído por Charles Maguerez, o chamado Arco de Maguerez, para orientar a prática pedagógica de docentes que se preocupam com o desenvolvimento educacional de seus alunos. Nele os problemas são identificados e ao final se aplica a solução. A primeira etapa, “observação da realidade”, começa com a exposição dos alunos a um problema, que parte da realidade, sendo uma visão global do assunto a ser abordado. A segunda etapa, “construção de uma maquete”, consiste na identificação dos pontos-chave do problema, os quais se modificados poderiam ocasionar a sua resolução. Segue-se a etapa da “teorização”, que segundo Maguerez (1970) é a discussão da maquete. Nesta etapa ocorre a teorização do conteúdo através de leituras, pesquisas e estudos realizados a fim de que a ciência esclareça o assunto. A etapa seguinte é aquela em que os alunos propõem hipóteses de solução, para ser confrontadas com a maquete do problema e aplicá-las a realidade (BORDENAVE; PEREIRA, 2001). As etapas são demonstradas na Fig. 1.

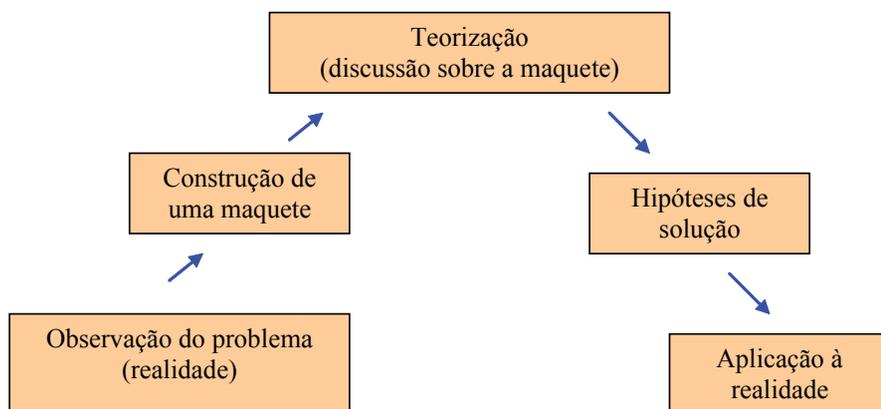


FIGURA 1 – O Arco de Maguerez.

Para analisar e confirmar a eficácia do mapa conceitual, objetivou-se realizar um questionário estruturado e aplicá-lo aos discentes do módulo.

MATERIAL E MÉTODOS

Os discentes de graduação da quarta e quinta fases do curso de Medicina Veterinária da Universidade Regional de Blumenau utilizaram o método do mapa conceitual no Módulo de Saúde Pública I para facilitar, resumir e organizar seus estudos à solicitação do docente, objetivando a integração das áreas de conhecimento do módulo, o raciocínio lógico e o pensamento crítico. Foram abordadas no módulo doenças transmitidas por vetores, gestão e bioestatística.

De acordo com os dados obtidos, fez-se uma correlação entre o entendimento da matéria abordada no módulo e a construção do mapa conceitual. O módulo de Saúde Pública I e a metodologia da problematização nortearam as questões da metodologia empregada.

Os dados foram analisados através do software EPIINFO versão 3.4.2 e organizados através de tabelas, gráficos e medidas descritivas tais como proporção, média, desvio padrão. Foram realizadas estimativas em forma de intervalos de confiança com 95% e testes qui-quadrado para comparar proporções. O número total de discentes é de 42, sendo que a amostra foi de 38 (LOESCH; STEIN, 2008).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Algumas variáveis, tais como sexo, confecção do mapa conceitual e gosto pelo método, são apresentadas na Tab. 1, assim como o número de pessoas, a porcentagem, o intervalo de confiança e o resultado do teste qui-quadrado.

TABELA 1 – Variáveis sobre o mapa conceitual quanto ao número de pessoas, porcentagem e intervalo de confiança.

Variáveis – Mapa Conceitual		Número de Pessoas	%	Intervalo de Confiança (95%)	Resultados do Teste Qui-quadrado
Sexo	Feminino	26	68,4%	51,3% - 82,5%	$\chi^2 = 5,16$ gl = 1
	Masculino	12	31,6%	17,5% - 48,7%	
	Total	38	100,0%	-	p = 0,023
Já fez um mapa conceitual	Sim	38	100%	100%	
	Não	0	0	0	
	Total	38	100%	-	
Gosta do método do mapa conceitual	Sim	32	84,2%	6,0% - 31,3%	$\chi^2 = 17,8$ gl = 1
	Não	6	15,8%	68,7% - 94,0%	
	Total	38	100,0%	-	p < 0,001

Dos 38 discentes entrevistados, 68,4% pertenciam ao sexo feminino, todos já utilizaram o método do mapa conceitual para sintetizar seus estudos sendo este realizado principalmente no ambiente universitário (97,4%). 84,2% (p < 0,001) dos discentes entrevistados afirmaram gostar do método do mapa conceitual como estratégia de ensino-aprendizagem, sendo esta uma evidência significativa. O mapa conceitual possibilita aos seus autores uma mobilização contínua, uma vez que o estudante tem que retomar e complementar o quadro durante toda a caminhada. Ele possibilita também a construção do conhecimento que vai se ampliando à medida que as conexões se processam, e permite a elaboração da síntese numa visão de totalidade (ANASTASIOU; ALVES, 2004).

As variáveis sobre o mapa conceitual relacionadas ao número de pessoas que gostam ou não do método, assim como a porcentagem e o resultado do teste qui-quadrado são apresentados na Tabela 2.

TABELA 2 – Variáveis sobre o mapa conceitual relacionadas ao número de pessoas que gostam ou não do método, porcentagem e o resultado do teste qui-quadrado.

Variáveis – Mapa Conceitual		Gosta do método do Mapa Conceitual			Resultado do teste Qui-quadrado
		Sim	Não	Total	
Sexo	Feminino	23 (71,9%)	3 (50%)	26	$\chi^2 = 0,34$ gl = 1 p = 0,5624
	Masculino	9 (28,1%)	3 (50%)	12	
	Total	32(100%)	6 (100%)	38	
Dificuldade na confecção	Nenhuma	1 (3,1%)	0 (0%)	1	$\chi^2 = 0,15$ gl = 1 p = 0,7032
	Pouco	27 (84,4%)	5 (83,3%)	32	
	Muito	2 (6,3%)	0 (0%)	2	
	Bastante	2 (6,3%)	1 (16,7%)	3	
	Total	32 (100%)	6 (100%)	38	
Importância na integração dos conteúdos	Muito Importante	25 (78,1%)	0 (0%)	25	$\chi^2 = 31,4193$ gl = 2 p < 0,001
	Importante	7 (21,9%)	1 (16,7%)	8	
	Não é importante	0 (0%)	5 (83,3%)	5	
	Total	32 (100%)	6 (100%)	38	
Método que utiliza para estudar	Ler somente	9 (28,1%)	3 (50%)	12	$\chi^2 = 1,12$ gl = 1 p = 0,2901
	Ler e fazer resumos	21 (65,6%)	3 (50%)	24	
	Fazer mapa conceitual	2 (6,3%)	0 (0%)	2	
	Total	32 (100%)	6 (100%)	38	

Quando questionado sobre o gosto pelo método do mapa conceitual, 88,5% dos discentes do sexo feminino e 75% dos discentes do sexo masculino afirmaram estar contentes com o novo método. Dentre os que gostam do método 71,9 % (p = 0,5624) pertenciam ao sexo feminino. Desta forma, pode-se afirmar que o gosto independe do sexo, ou seja, tanto homens quanto mulheres gostam do método do mapa conceitual.

Dos entrevistados que afirmaram gostar do método, 84,4% encontraram poucas dificuldades na confecção do material. Tal fato pode ser confirmado através da aplicação da metodologia da problematização, que prepara o estudante para tomar consciência de seu mundo e atuar também intencionalmente para transformá-lo, sempre para melhor

(BERBEL, 1999). 78,1% ($p < 0,001$) afirmaram que o mapa conceitual é muito importante na integração dos conteúdos, isto indica que significativamente mais alunos gostam do método e o caracterizam de alta importância.

A metodologia da problematização visa formar o aluno com uma visão crítica e opinativa sobre o assunto, e que não aceite tudo que lhe é proposto sem questionar a sua importância. É uma metodologia de ensino-aprendizagem no qual o professor deixa de ser ativo, sendo, portanto um intermediador dos assuntos e um norteador dos objetivos. É muito importante, se bem estruturado e aplicado, de grande importância e sucesso, pois o diferencial está no profissional formado através deste método. Integração de conteúdos, visão ampla, capacidade de criticar e opinar são algumas características trabalhadas com os discentes.

O método de estudo mais evidenciado entre os que afirmaram gostar da metodologia foi leitura e confecção de resumos (65,6%), sendo que apenas 6,3% realizavam seus estudos através da confecção de mapa conceitual. Tal dado não apresenta significância, sendo que o gosto pelo método não interfere na sua utilização para estudo. Isto se deve ao fato de que existem ainda restrições ao uso de novas metodologias de ensino, tal como o uso do mapa conceitual no qual o tipo de informação é mais útil do que respostas memorizadas. E ainda se houver oportunidade de discutir o mapa conceitual com o aluno, os resultados poderão ser mais surpreendentes em termos de uma verdadeira avaliação de aprendizagem (MOREIRA, 1985).

As vantagens que a construção do mapa conceitual possui na formação do profissional obteve maiores valores (50%), entre os que afirmaram gostar do método, no que se refere no auxílio ao acadêmico para desenvolver diversas habilidades, como a interpretação, classificação de aspectos de maior ou menor importância, crítica, organização de dados e do resumo, e ainda a possibilidade de pontuação de aspectos de maior e menor interesse ao autor.

Conforme Moreira (2006) o mapa conceitual proporciona uma visão integrada do assunto e uma espécie de 'listagem conceitual' daquilo que foi abordado nos materiais instrucionais. Outra vantagem é a transdisciplinariedade, na qual a realidade vai além da disciplina, formando uma integração total de todas as disciplinas relacionadas com o tema a ser debatido e estudado. Sendo assim, conhecimento supera a informação, possibilitando o processamento significativo e inteligente da mesma.

CONCLUSÕES

O presente estudo nos leva a concluir que a metodologia da Problematização com o uso do Arco de Magueres apresenta-se como uma alternativa inovadora no ensino da medicina veterinária. Através desta metodologia o discente desenvolve a capacidade da crítica e da investigação interdisciplinar do problema e possui maior facilidade em desenvolver uma visão integral da realidade, o aluno possui visão integradora de conteúdos e está melhor preparado para a vida profissional.

É necessária uma conscientização no ensino superior para adotar esta metodologia, e não somente na medicina veterinária, a fim de formar seus discentes mais preparados à intervir no meio onde vivem.

Vê-se assim, a necessidade de trabalhos que mostrem os resultados positivos da metodologia da problematização, para incentivar docentes a transpor esta metodologia à sala de aula e contribuir para uma aprendizagem significativa de seus alunos.

REFERÊNCIAS

- ANASTASIOU, L. G. C.; ALVES, L. P. *Processos de Ensino na Universidade: Pressupostos para as estratégias de trabalho em aula*. 3.ed., Joinville: Univille, 2004. 145p.
- BERBEL, N. A. N. Metodologia da problematização: uma alternativa metodológica apropriada para o ensino superior. *Semina: Ci. Soc./Hum.*, Londrina, v.16, n.2, Ed. Especial, p.9-19, out. 1995.
- BORDENAVE, J. D.; PEREIRA, A. M. *Estratégias de ensino-aprendizagem*. 22.ed., Petrópolis: Vozes, 2001. 312p.
- GIL, A. C. *Metodologia do Ensino Superior*. São Paulo: Atlas, 1946.
- LOESCH, Cláudio; STEIN, Carlos Efraim. *Estatística descritiva e teoria das probabilidades*. Blumenau/SC: Edifurb, 2008. 213p, il. (Didática).
- MOREIRA, M. A. *A teoria da aprendizagem significativa e sua implementação em sala de aula*. Brasília: Editora Universidade de Brasília, 2006. 186p.
- MOREIRA, M. A. *Ensino na Universidade: questões para o professor*. Porto Alegre: PADES/UFRGS, 1985. 130p.

Veterinário mirim: ferramenta na educação em saúde e promoção de cultura sobre guarda responsável e bem-estar animal no município de Pinhais/PR

Cristiane da Conceição de Barros
Raquel Pampuch
Alexander Welker Biondo
Antonio Felipe Paulino de Figueiredo Wouk
Roberson José Annunziato
Dorli da Silva Junior Amora
Graziela Ribeiro da Cunha
Karina Francini Braga
Bruna Sczepanski
Jonatas Campos de Almeida

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo promover uma mudança cultural da população sobre guarda responsável e bem-estar animal, não omitindo o controle de zoonoses. Foram realizadas atividades sócio-educativas voltadas às crianças da rede fundamental de ensino como alternativa para atingir o objetivo proposto. O projeto de extensão “Controle de Zoonoses em Curitiba e Região Metropolitana” em parceria com o Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) do município de Pinhais/PR, por meio do concurso “Veterinário Mirim”, realizou palestras, em 22 escolas públicas do município, no período de agosto a setembro de 2007. As palestras tratavam sobre zoonoses, bem-estar animal e guarda responsável e foram ministradas pelos acadêmicos do projeto aos alunos de 1ª a 4ª séries. Após isso, foi solicitado aos alunos que produzissem um desenho ou uma redação, ambos sobre os temas em questão, e os melhores trabalhos foram premiados com uma visita ao CCZ de Pinhais ou ao Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná. Foi aplicado um questionário com perguntas sobre os temas abordados na palestra. Do total de 736 crianças, 601 (81,7%) relataram possuir animais em casa, sendo que 583 (96,2%) possuíam cães e gatos totalizando 1.406 animais. 389 (52,9%), afirmaram que seus animais têm acesso a rua e 267 (36,3%) assinalaram que seus animais já mordem alguém. O conceito de guarda responsável foi assinalado corretamente por 718

Cristiane da Conceição de Barros é Médica Veterinária do Centro de Controle de Zoonoses de Pinhais/PR.

Raquel Pampuch é Técnica em Saneamento do Centro de Controle de Zoonoses de Pinhais/PR.

Alexander Welker Biondo e **Antonio Felipe Paulino de Figueiredo Wouk** são Docentes do Departamento de Medicina Veterinária da UFPR. Coordenadores do Projeto de Extensão “Controle de Zoonoses em Curitiba e Região Metropolitana”.

Roberson José Annunziato, **Dorli da Silva Junior Amora**, **Graziela Ribeiro da Cunha**, **Karina Francini Braga**, **Bruna Sczepanski** e **Jonatas Campos de Almeida** são Acadêmicos do Curso de Medicina Veterinária. Participantes do Projeto de Extensão “Controle de Zoonoses em Curitiba e Região Metropolitana”.

Endereço para correspondência: Rua dos Funcionários, 1540, Bairro Juvevê, Curitiba/PR. Site: www.zoonoses.agrarias.ufpr.br. E-mail: zoonoses@ufpr.br

Veterinária em Foco	Canoas	v.6	n.2	p.179-184	jan./jun. 2009
---------------------	--------	-----	-----	-----------	----------------

(97,6%) alunos. Conclui-se que a inclusão do “Veterinário Mirim” como política pública permitiu a incorporação da educação em guarda responsável nas escolas, transformando-as em promotoras de educação em saúde pública.

Palavras-chave: Educação em Saúde Pública. Guarda Responsável. Veterinário Mirim. Zoonoses.

“Junior veterinary”: A tool on young students education in health promoting and responsible custody and animal welfare in the County of Pinhais/PR

ABSTRACT

This study aimed to promote a cultural change of the population regarding the subjects of responsible custody of animals and animal welfare, not omitting the control of zoonoses. Socio-educational activities were carried out aimed at children of the basic education as an alternative to achieve the proposed objective. The extension project “Control of Zoonoses in Curitiba and Surroundings” in partnership with the Zoonoses Control Center (CCZ) of Pinhais/PR, through the competition “Junior Veterinary”, held lectures on 22 public schools on the county, in the period from August to September 2007. The lectures dealt on zoonoses, animal welfare and responsible custody and were administered by academics of the project to students from 1st to 4th grades. After that, students were asked to produce a drawing or writing, both on the issues concerned, and the best works were awarded with a visit to the CCZ of Pinhais or the Veterinary Hospital of the Federal University of Paraná. A questionnaire on the subject of the lectures was applied. Of the total of 736 children, 601 (81.7%) reported having animals at home, totaling 1.406 animals. 389 (52.9%), said that their animals have access to the street and 267 (36.3%) reported that their animals have bitten someone. The concept of responsible custody was correctly answered by 718 (97.6%) students. It can be concluded that the inclusion of “Junior Veterinary” as public policy has allowed the incorporation of education in responsible custody of animals on the schools, transforming them in forwarders of education in public health.

Keywords: Education in public health. Responsible custody. “Junior Veterinary”. Zoonoses.

INTRODUÇÃO

Uma das questões importantes em saúde pública refere-se ao controle das zoonoses, bem como da população de animais de rua, por meio de atividades conjuntas com a comunidade, trabalhando-se nesta, conceitos fundamentais de bem-estar animal e guarda responsável.

Entende-se por educação em saúde quaisquer combinações de experiências de aprendizagem delineadas com vistas a facilitar ações voluntárias conducentes à saúde. A palavra *combinação* enfatiza a importância de combinar múltiplos determinantes do comportamento humano com múltiplas experiências de aprendizagem e de intervenções educativas. A palavra *delineada* distingue o processo de educação de saúde de quaisquer outros processos que contenham experiências acidentais de aprendizagem, apresentando-o como uma atividade sistematicamente planejada. *Facilitar* significa predispor, possibilitar e reforçar. *Voluntariedade* significa sem coerção e com plena compreensão e aceitação

dos objetivos educativos implícitos e explícitos nas ações desenvolvidas e recomendadas. *Ação* diz respeito a medidas comportamentais adotadas por uma pessoa, grupo ou comunidade para alcançar um efeito intencional sobre a própria saúde (CANDEIAS, 1997). Uma educação em saúde ampliada inclui políticas públicas, ambientes apropriados e reorientação dos serviços de saúde para além dos tratamentos clínicos e curativos, assim como propostas pedagógicas libertadoras, comprometidas com o desenvolvimento da solidariedade e da cidadania, orientando-se para ações cuja essência está na melhoria da qualidade de vida e na “promoção do homem” (SCHALL; STRUCHINER, 1999).

Segundo Candeias (1997), na prática, a educação em saúde constitui apenas uma fração das atividades técnicas voltadas para a saúde, prendendo-se especificamente à habilidade de organizar logicamente o componente educativo de programas que se desenvolvem em quatro diferentes ambientes: a escola, o local de trabalho, o ambiente clínico, em seus diferentes níveis de atuação, e a comunidade, compreendida aqui como contendo populações-alvo que não se encontram normalmente nas três outras dimensões.

Todavia, nem sempre é fácil incentivar novos valores em uma comunidade que se encontra presa a costumes antigos, cultivados por diversas gerações. Isso se torna um importante obstáculo na educação em saúde. Assim, o trabalho de educação se volta principalmente para um grupo de indivíduos que esteja aberto ao aprendizado e receptivo a uma nova visão. Esse grupo específico pode ser retratado pelas crianças em idade escolar. Trata-se de uma fase de fácil absorção e compreensão de conceitos, podendo ser utilizada benéficamente para construir uma nova consciência quanto a questões básicas de saúde pública. Essa consciência será carregada para a vida adulta, repassada às gerações futuras e divulgada em seu meio social.

Com essa perspectiva, o Projeto de Extensão, da Universidade Federal do Paraná, intitulado “Controle de Zoonoses em Curitiba e Região Metropolitana”, desenvolveu uma forma objetiva de educação em saúde: o concurso “Veterinário Mirim”, que visa à educação infantil em saúde pública.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram realizadas palestras a respeito de zoonoses, bem-estar animal e guarda responsável em 22 escolas públicas do município de Pinhais, entre os meses de agosto e setembro de 2007, para crianças de 1ª a 4ª séries. O material didático consistiu em apresentação de slides, ilustrando os principais temas da palestra e usando sempre uma linguagem clara e adequada ao público-alvo. As palestras foram ministradas por acadêmicos do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Paraná e estagiários do Centro de Controle de Zoonoses de Pinhais.

Findada esta primeira etapa, foi solicitada aos alunos de 3ª e 4ª séries uma redação com o título “Como cuidar e deixar o meu cão feliz?”, enquanto que para os alunos de 1ª e 2ª séries foi pedido um desenho que ilustrasse o mesmo tema abordado na redação.

Todos os trabalhos foram analisados e selecionados pelos representantes do CCZ de Pinhais, sendo expostos no dia da premiação. Cada uma das escolas participantes teria um aluno premiado por modalidade (desenho e redação), totalizando 44 alunos premiados, porém somente 32 puderam ser contemplados, uma vez que os demais não trouxeram no dia da premiação as autorizações dos pais, para que se retirassem do âmbito escolar.

Para avaliar o grau de aprendizado do público-alvo, cerca de uma semana após as palestras, as crianças responderam a um questionário contendo perguntas relacionadas aos temas trabalhados em sala de aula. O questionário tinha como segunda finalidade, descobrir a opinião dos alunos sobre os assuntos expostos nas palestras.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As palestras ministradas tinham caráter interativo, possibilitando assim aos alunos plena participação através de dúvidas e de situações vivenciadas no seu cotidiano. Desse modo hábitos e costumes sociais foram devidamente explorados durante o evento e, quando incorretos, corrigidos.

A escola constitui um centro de ensino-aprendizagem, convivência e crescimento importante e nela se adquirem valores vitais fundamentais. Assim, é o lugar ideal para desenvolver programas de promoção de saúde de amplo alcance e repercussão, já que exerce uma grande influência sobre as crianças e adolescentes nas etapas formativas mais importantes de suas vidas. De acordo com Pelicioni e Torres (1999), é nas idades pré-escolar e escolar que as crianças adquirem as bases de seu comportamento e conhecimento, o senso de responsabilidade e a capacidade de observar, pensar e agir. A promoção da saúde no âmbito escolar parte de uma visão integral, multidisciplinar do ser humano, que considera as pessoas em seu contexto familiar, comunitário e social; procura desenvolver conhecimentos, habilidades e destrezas para o auto cuidado da saúde e a prevenção das condutas de risco em todas as oportunidades educativas; fomenta uma análise crítica e reflexiva sobre os valores, condutas, condições sociais e estilos de vida, buscando fortalecer tudo aquilo que contribui para melhoria da saúde e do desenvolvimento humano; facilita a participação de todos os integrantes da comunidade educativa na tomada de decisões, colabora na promoção de relações socialmente igualitárias entre as pessoas, na construção da cidadania e democracia, e reforça a solidariedade, o espírito de comunidade e os direitos humanos (OPAS, 1996).

O conhecimento será incorporado se for resultado de questões ou de problemas solucionados pelos próprios estudantes que se responsabilizam e vive a experiência. Por esta razão, a educação em saúde enfatiza os enfoques de ensino que se baseiam na participação e na responsabilidade dos estudantes em seu processo de aprendizagem como requisito imprescindível para a construção de seus conhecimentos. Considera-os, portanto sujeitos ativos da sua aprendizagem. A investigação e a análise indicam que a informação por si só não leva as pessoas a adotar estilos de vida saudáveis ou a modificar condutas que conduzem à doença. A informação é um aspecto imprescindível e *sine qua non* da

educação em saúde, mas deve permitir a promoção de aprendizagens significativas. Uma consequência prática da educação em saúde é que quando a aprendizagem funciona, a pessoa se responsabiliza por seu estilo de vida (PELICIONI; TORRES, 1999).

É importante que a apresentação da informação se faça de maneira interessante e acessível. Isto inclui acesso a materiais de referência claros, e recursos áudios-visuais bem produzidos que poderiam ter o patrocínio do próprio Ministério da Educação. Com base nisso as palestras realizadas se pautaram em um material focado no seu público-alvo, usando-se de ilustrações específicas para o público infantil e com linguajar de fácil entendimento, sem o uso de vocabulário técnico que dificultasse a compreensão dos temas discutidos.

Quanto às atividades solicitadas (redação e desenho), estas tinham o objetivo de verificar a capacidade do aluno em expor o que tinha aprendido durante as palestras e avaliar a fixação dos novos conceitos introduzidos. Realizou-se uma seleção dos melhores trabalhos e seus autores foram premiados. Os alunos de 3ª e 4ª séries que desenvolveram as melhores redações puderam visitar o Hospital Veterinário da UFPR, acompanhando consultas realizadas pelos médicos veterinários residentes, conhecer os laboratórios da instituição, além da oportunidade de conversar com professores e pesquisadores da universidade e de visitar o Setor de Grandes Animais. Já os alunos de 1ª e 2ª séries, autores dos melhores desenhos visitaram o Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) do município de Pinhais no dia do médico veterinário (09 de outubro). No local as crianças acompanharam a vacinação de um cão (ressaltando assim a importância da guarda responsável e da prevenção de doenças), conheceram as instalações do CCZ e assistiram a uma peça de teatro.

Após a discussão dos temas, era aplicado um questionário com perguntas relacionadas ao conteúdo apresentado. De um total de 736 alunos que responderam às questões, 601 (81,7%) possuem animais em casa, sendo que 583 (79,2%) possuíam cão e/ou gato totalizando 1406 animais, o que nos remete a uma média de 1,91 animais por aluno. Estudos mostram que as crianças são consideradas de alto risco para ataque de cães, e a mordedura é influenciada pela raça, comportamento e proprietário dos animais, pelas crianças e seus pais e que, portanto, a estratégia de prevenção deve ser focada na educação da população e no treino dos cães e de seus proprietários (TAN et al., 2004; SCHALAMON et al., 2006). Através dos questionários, pode-se também constatar que 389 (52,9%) crianças responderam afirmativamente que seus animais saem sozinhos às ruas e 267 (36,3%) afirmaram que o seu animal já mordeu alguém. As mordeduras causadas por cães são objeto de grande preocupação devido à possibilidade de transmissão de zoonoses, como a raiva, de desenvolvimento de infecções secundárias, de seqüelas físicas e psicológicas, entre outras (PLAUT et al., 1996). Estes acidentes constituem, portanto grave problema para a comunidade, para outros animais e para a saúde pública (MUNDIM, 2005; SCHABBACH, 2004).

No momento da avaliação das palestras, quando questionados sobre o que era guarda responsável, 718 (97,6%) alunos responderam corretamente, demonstrando aproveitamento das informações da palestra.

CONCLUSÕES

O Veterinário Mirim, quando inserido no programa de atividades do Município, como ocorreu em Pinhais, constitui importante ferramenta na educação em saúde e se mostra efetivo em relação ao entendimento dos alunos sobre guarda responsável, possibilitando a atuação direta das crianças como multiplicadoras do conhecimento adquirido a seus pais, amigos e conhecidos, formando adultos mais responsáveis e conscientes. Visto isso, estima-se que em médio prazo ocorra uma mudança cultural da população a respeito do assunto.

É através de parcerias e políticas públicas voltadas à educação que se pode conseguir uma melhoria nas condições de saúde pública e, além disso, proporcionar excelente oportunidade de interação entre estudantes, médicos veterinários e a comunidade.

REFERÊNCIAS

- CANDEIAS, N. M. F. Conceitos de educação e de promoção em saúde: mudanças individuais e mudanças organizacionais. *Rev. Saúde Pública*, v.31, n.2, São Paulo, abr. 1997.
- CONSTITUTIVA Red Latinoamericana de Escuelas Promotoras de Salud. San José, Costa Rica, 1996. p.1-3.
- MUNDIM, A. P. M. *Exposição à raiva humana no município de Cuiabá/MT: epidemiologia e avaliação das medidas preventivas*. 2005. 108p. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva) – Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá.
- ORGANIZACIÓN Panamericana de la Salud. Primera Reunion Y Asamblea
- PELICIONI, M. C. F.; TORRES, A. L.; A Escola Promotora de Saúde, São Paulo, 1999.
- PLAUT, M.; ZIMMERMAM, E. M.; GOLDSTEIN, R. A. Health hazards to humans associated with domestic pets. *Annual review in public Health*, v.17, p.221-245, 1996.
- SCHABBACH, C. H. *Agressões por cães em Rio Grande – RS: um estudo da classificação por situação de domicílio*. Porto Alegre-RS; 2004. Monografia Especialização – Departamento de Medicina Social da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- SCHALAMON, J. et al. Analysis of dog bites in children who are younger than 17 years. *Pediatrics*, v.117, n.3, 374-379, 2006.
- SCHALL, V. T.; STRUCHINER, M.; Caderno de Saúde Pública v.15, supl. 2. Educação em saúde: novas perspectivas. Rio de Janeiro, 1999.
- TAN, R. L. et al. Sensitivities of three county health department surveillance systems for child related dog bites: 261 cases (2000). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.225, n.11, p.1680-1683, 2004.

Parasitas de animais silvestres com potencial zoonótico no Rio Grande do Sul

Gertrud Müller
Tatiana Cheuiche Pesenti
Carolina Silveira Mascarenhas

RESUMO

Os animais silvestres são reservatórios de diversos parasitos com potencial zoonótico. Entre 1995 e 2008 foram examinados nos Laboratórios de Parasitologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, aves, mamíferos e répteis que vieram ao óbito no Núcleo de Reabilitação da Fauna Silvestre e Centro de Triagem de Animais Silvestres da Universidade Federal de Pelotas (NURFS/CETAS/UFPel) e animais capturados com licença do IBAMA/RS para realização de trabalhos de mestrado e doutorado. A coleta de ectoparasitos foi realizada através de inspeção da superfície externa do corpo ou banho em água contendo detergente. Os helmintos foram coletados durante a necropsia, examinando-se todos os órgãos, os quais foram fixados em álcool 70°GL. Fezes de alguns animais foram coletadas para pesquisa de protozoários. Os parasitos foram preparados para identificação de acordo com técnicas usuais em parasitologia. Em *Didelphis albiventris* foram encontrados *Amblyomma aureolatum*, *Ixodes loricatus*, *Craneopsylla minerva minerva*, *Polygenis (Neopolygenis) atopus*, *Polygenis (Polygenis) rimatus*, *P. (P.) axius proximus*, *P. (P.) roberti roberti*, *Ctenocephalides felis felis*, *Echinostoma* sp., *Brachylaema* sp., *Alaria* sp., formas jovens de *Diphyllobothriidae* e *Cryptosporidium*; em *Cavia aperea*, *P. (N.) atopus* e *P. (P.) axius proximus*; em *Galictis cuja*, *Diocotophyma renale*; em *Lycalopex gymnocercus* e *Cerdocyon thous*, *Capillaria hepatica*, *Diphyllobothrium* sp. e *Spirometra* sp.; em *Otus choliba* e *Pitangus sulphuratus*, *Ornithonyssus bursa*; em *Ixobrychus involucris*, *Clinostomum complanatum*. Esses parasitos são descritos na literatura como potenciais causadores de zoonoses, cujos hospedeiros estão cada vez mais próximos das residências, devido à interferência do homem no habitat natural desses animais.

Palavras-chave: Animais silvestres. Parasitos. Zoonoses.

Wild animals parasites with zoonotic potential in the Rio Grande do Sul State

ABSTRACT

Wild animals are reservoirs for various parasites with zoonotic potential. From 1995 to 2008, birds, mammals and reptiles that died in the Wild Animal Rehabilitation Center of Pelotas' Federal University and also others animals that were captured with authorization of the Brazilian Environment

Gertrud Müller é Médica Veterinária, Profa. Doutora em Ciências Veterinárias – Laboratório de Parasitologia de Animais Silvestres do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFPel – Pelotas/RS.

Tatiana Cheuiche Pesenti é Bióloga, Profa. Mestre em Parasitologia – Laboratório de Parasitologia de Animais Silvestres do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFPel – Pelotas/RS.

Carolina Silveira Mascarenhas é Bióloga, Mestre em Parasitologia – Laboratório de Parasitologia de Animais Silvestres do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFPel – Pelotas/RS.

Endereço para correspondência: Gertrud Muller – Laboratório de Parasitologia de Animais Silvestres, Departamento de Microbiologia e Parasitologia. Instituto de Biologia – Universidade Federal de Pelotas, Caixa postal 354, CEP 96010-900. Pelotas/RS, Brasil. E-mail: gertruda@ufpel.tche.br

Veterinária em Foco	Canoas	v.6	n.2	p.185-190	jan./jun. 2009
---------------------	--------	-----	-----	-----------	----------------

Institute (IBAMA) were examined. The ectoparasites were collected through inspection on the external surface of the body or bathed in water containing detergent and the helminthes were collected during the necropsy. Fecal samples were collected for protozoan diagnostic. The parasites were fixed in 70°GL ethanol and prepared according usual parasitological techniques for identification. The parasites found in *Didelphis albiventris* were *Amblyomma aureolatum*, *Ixodes loricatus*, *Craneopsylla minerva minerva*, *Polygenis (Neopolygenis) atopus*, *Polygenis (Polygenis) rimatus*, *P. (P.) axius proximus*, *P. (P.) roberti roberti*, *Ctenocephalides felis felis*, *Echinostoma* sp., *Brachylaema* sp., *Alaria* sp., young forms of *Diphyllobothriidae*, and *Cryptosporidium* sp.; in *Cavia aperea*, *P. (N.) atopus*, and *P. (P.) axius proximus*; in *Galictis cuja*, *Diocotophyma renale*; in *Lycalopex gymnocercus*, and *Cerdocyon thous*, *Capillaria hepatica*, *Diphyllobothrium* sp., and *Spirometra* sp.; in *Otus choliba*, and *Pitangus sulphuratus*, *Ornithonyssus bursa*; in *Ixobrychus involucris*, *Clinostomum complanatum*. According to the bibliography these parasites have zoonotic potential.

Keywords: Wild animals. Parasites. Zoonosis.

INTRODUÇÃO

O crescente aumento da população mundial vem modificando o habitat natural através de desmatamentos e queimadas para construção de moradias, obrigando os animais silvestres a procurar alimento e abrigo em área peri-urbana e urbana aproximando-se das residências e às vezes até habitando-as. O contato entre os seres humanos e os animais silvestres oferece risco a saúde pública e animal, visto que esses animais são reservatórios de diversos patógenos. Neste contexto, objetivou-se apresentar uma relação dos parasitos de animais silvestres com potencial zoonótico registrados no sul do Rio Grande do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

Entre 1995 e 2008 foram examinados nos Laboratórios de Parasitologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFPel, aves, mamíferos e répteis, provenientes da região sul do Rio Grande do Sul, animais que vieram ao óbito no NURFS-CETAS/UFPel e animais que originaram trabalhos de mestrado e doutorado com licença do IBAMA/RS. A coleta de ectoparasitos foi realizada através da inspeção da superfície externa do corpo ou banho em água contendo detergente, após foram fixados em álcool 70°GL, para identificação; as pulgas e os ácaros foram clarificados em lactofenol e montados em lâminas com bálsamo do Canadá. Os helmintos encontrados foram fixados em álcool 70°GL. Os nematóides foram clarificados em lactofenol, os trematódeos e cestóides corados com bórax carmim e montados em lâminas com bálsamo do Canadá para identificação. Fezes de alguns animais foram coletadas para pesquisa de protozoários.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na pesquisa de parasitos de animais silvestres realizada nos últimos treze anos foram identificadas diversas espécies entre ácaros, sifonápteros, helmintos e protozoários com potencial zoonótico parasitando mamíferos e aves no sul do Rio Grande do Sul (Tabela 1).

Os carrapatos são conhecidos como potenciais transmissores de agentes infecciosos e parasitários, algumas espécies são comprovadamente transmissoras da febre maculosa e da doença de Lyme (GUIMARÃES et al., 2001). Entre as espécies identificadas estão *A. aureolatum*, incriminada na transmissão de *Rickettsia rickettsi*, causando a febre maculosa e *I. loricatus*, transmissora de *Borrelia burgdorferi*, responsável pela doença de Lyme, encontradas em *D. albiventris*, gambá-de-orelha-branca (MÜLLER, 2005).

Os ácaros Macronyssidae são hematófagos freqüentemente encontrados nos ninhos de aves domésticas e silvestres. Mascarenhas et al. (2006 e 2007) registraram a ocorrência de *O. bursa* em *O. choliba*, corujinha-do-mato e *P. sulphuratus*, bem-te-vi, atendidos no NURFS-CETAS/UFPeL. *O. bursa* tem sido registrado como agente causador de dermatite em humanos, devido à presença de ninhos de aves sinantrópicas em residências, e, quando em altas infestações ou por falta dos hospedeiros, esses ácaros abandonam os ninhos para exercer hematofagia nos moradores (RIBEIRO et al., 1992).

Os sifonápteros *C. m. minerva*, *P. (N.) atopus*, *P. (P.) rimatus*, *P. (P.) r. roberti*, *P. (P.) a. proximus* e *C. f. felis* foram descritos em *D. albiventris* (MÜLLER, 2005; MÜLLER et al., 2006) e Krüger et al. (2007) relataram a ocorrência de *P. (N.) atopus* e *P. (P.) a. proximus* em *C. aperea*, preá. As espécies de *Polygenis* são incriminadas como vetores de *Yersinia pestis*, causadora de peste bubônica no nordeste brasileiro, em cuja área *C. m. minerva* também ocorre representando 2% das pulgas descritas em animais silvestres, e *C. f. felis* pode servir de hospedeiro intermediário de *Dipylidium caninum*, *Hymenolepis* spp. e *Dipetalonema reconditum* (GUIMARÃES, 1972; LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

Os helmintos encontrados em gambá-de-orelha-branca e citados na literatura como causadores de zoonoses foram *Gnathostoma* sp., *Alaria* sp., *Echinostoma* sp., *Brachylaema* sp., *T. turgida*, *Capillaria* spp., e formas jovens de Diphyllobotriidae, esparganos, na serosa do esôfago e adultos no intestino delgado (MÜLLER, 2005). *C. hepatica*, *Diphyllbothrium* sp. e *Spirometra* sp. foram diagnosticados em carnívoros silvestres *L. gymnocercus* e *C. thous* da região sul do Rio Grande do Sul (RUAS et al. 2002). A esparganose em humanos é freqüente na Ásia, no entanto, também foi diagnosticada na Argentina (ROLON, 1976) e no Paraguai (BEAVER e ROLON, 1981). No Brasil, foram registrados 23 casos de pessoas parasitadas por *D. latum* relacionados ao consumo de peixe cru, salmão, sushis e sashimis em restaurantes japoneses e self-services na cidade de São Paulo, entre março de 2004 e março de 2005 (EDUARDO et al. 2005).

D. renale encontrado em *G. cuja*, furão, (PESENTI et al., 2007b) é um parasito comumente encontrado em cães domésticos, tendo sido descrito em humanos por Vibe (1985).

Algumas espécies de *Clinostomum* são citadas na literatura como agentes causadores de laringofaringite parasitária em humanos, podendo levar à morte por asfixia. Os parasitos são ingeridos através do consumo de peixes crus ou insuficientemente cozidos (KITAGAWA et al., 2003). *C. complanatum* foi encontrado em *I. involucris*, socó-amarelo, por Pesenti et al. (2007a).

Em relação aos protozoários, Müller et al. (2003) encontraram *Cryptosporidium* sp. parasitando *D. albiventris*.

TABELA 1 – Parasitos com potencial zoonótico diagnosticados em animais silvestres no Rio Grande do Sul.

PARASITOS	HOSPEDEIROS
HELMINTOS	
Nematoda	
<i>Turgida turgida</i>	<i>Didelphis albiventris</i>
<i>Capillaria</i> spp.	<i>D. albiventris</i>
<i>C. hepatica</i>	<i>Lycalopex gymnocercus</i> e <i>Cerdocyon thous</i>
<i>Gnathostoma</i> sp.	<i>D. albiventris</i>
<i>Diocotophyma renale</i>	<i>Galictis cuja</i>
Trematoda	
<i>Clinostomum complanatum</i>	<i>Ixobrycus involucris</i>
<i>Echinostoma</i> sp.	<i>D. albiventris</i>
<i>Brachylaema</i> sp.	<i>D. albiventris</i>
<i>Alaria</i> sp.	<i>D. albiventris</i>
Cestoda	
<i>Spirometra</i> sp.	<i>L. gymnocercus</i> e <i>C. thous</i>
<i>Diphyllobothrium</i> sp.	<i>L. gymnocercus</i> e <i>C. thous</i>
Diphyllobothriidae adultos e esparganos	<i>D. albiventris</i>
ARTRÓPODES	
Acari	
<i>Amblyomma aureolatum</i>	<i>D. albiventris</i>
<i>Ixodes loricatus</i>	<i>D. albiventris</i>
<i>Ornityssus bursa</i>	<i>Otus choliba</i> e <i>Pitangus sulphuratus</i>
Siphonaptera	
<i>Craneopsylla m. minerva</i>	<i>D. albiventris</i>
<i>Polygenis (N.) atopus</i>	<i>D. albiventris</i> e <i>Cavia aperea</i>
<i>P. (P.) rimatus</i>	<i>D. albiventris</i>
<i>P. (P.) axius proximus</i>	<i>D. albiventris</i> e <i>C. aperea</i>
<i>P. (P.) r. roberti</i>	<i>D. albiventris</i>
<i>Ctenocephalides f. felis</i>	<i>D. albiventris</i>
PROTOZOÁRIOS	
<i>Cryptosporidium</i> sp.	<i>D. albiventris</i>

CONCLUSÕES

Os parasitos encontrados nos animais silvestres são descritos na literatura como potenciais causadores de zoonoses.

A proximidade dos animais silvestres aos domicílios possibilita a disseminação desses parasitos, a infecção humana e de animais domésticos;

O consumo de carne de peixe crua ou mal cozida representa um risco à saúde pública.

REFERÊNCIAS

- BEAVER, P. C.; ROLON, F. A. Proliferating larval cestode in a man in Paraguay. A case report and review. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* v.30, n.3, p.625–37. 1981.
- EDUARDO, M. B. de P. et al. *Diphilobothrium* spp.: um parasita emergente em São Paulo, associado ao consumo de peixe cru-sushis e sashimis. *Boletim Epidemiologia Paulista*, ano 2, n.15, mar. 2005.
- GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. *Ectoparasitos de Importância Veterinária*. São Paulo, Plêiade/FAPESP, 2001, 218p.
- KITAGAWA, N. et al. Lidocaine Spray Used to Capture a Live *Clinostomum* Parasite Causing Human Laryngitis *American Journal of Otolaryngology*, v.24, n.5, p.341-343. 2003.
- KRÜGER, C.; MÜLLER, G.; BRUM, J. G. W. Ocorrência de *Polygenis* spp. *Cavia aperea* Exerleben, 1777 (Rodentia: Caviidae) no Rio Grande do Sul. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia, 20, Recife. *Anais...* Recife. 2007b.
- MASCARENHAS, C. S. et al. Novo hospedeiro para *Ornithonyssus bursa* (Berlese, 1888) (Acari – Macronyssidae) no Rio Grande do Sul In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e II Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, 14, Ribeirão Preto. *Anais...* Ribeirão Preto. 2006.
- MASCARENHAS, C. S. et al. *Pitangus sulphuratus* como novo hospedeiro para *Ornithonyssus bursa* (Acari: Macronyssidae) no Rio Grande do Sul. In: Congresso Brasileiro de Ornitologia, 15, Porto Alegre. *Anais...* Porto Alegre. 2007.
- MÜLLER, G. *Diversidade e potencial zoonótico de parasitos de Didelphis albiventris Lund, 1841 (Marsupialia: Didelphidae)*. 2005. 122p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.
- MÜLLER, G. et al. Registro de sifonápteros em *Didelphis albiventris* (gambá-de-orelha-branca) no Rio Grande do Sul, Brasil. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 14, 2006. Ribeirão Preto, *Anais...* São Paulo.
- MÜLLER, G. et al. Prevalência de *Cryptosporidium* sp. em *Didelphis albiventris* na região de Pelotas, RS. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 30, Manaus. *Anais...* Manaus. 2003.

- PESENTI, T. C. et al. Ocorrência de *Dioctophyma renale* (Goeze, 1782) em *Galictis cuja* no Rio Grande do Sul. In: Congresso de Iniciação Científica, 16, e Encontro de Pós-graduação da UFPel, 9, Pelotas. *Anais...* Pelotas. 2007b.
- PESENTI, T. C. et al. Primeiro Registro de *Clinostomum complanatum* em *Ixobrychus involucris* (Socoí-amarelo) no Brasil. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia, 20, Recife. *Anais...* Recife. 2007a.
- RIBEIRO, V. L. S., MOOJEN, V.; TELLES, A. P. D. *Ornithonyssus bursa*: parasito de aves causando acariases cutâneas em humanos no Rio Grande do Sul, Brasil. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v.67.n.1, p.31-34. 1992.
- ROLON, P. A. Human sparganosis. Report of a probable 7th case in South America and review of the subject. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique et de ses Filiales*, v.69, n.4, p.351-359. 1976.
- RUAS, J. L. et al. Infecção por *Capillaria hepatica* em carnívoros silvestres (*Lycalopex gymnocercus* e *Cerdocyon thous*) na região sul do Rio Grande do Sul. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.70, n.02, p.127-130. 2002.
- VIBE, P. P. *Dioctophyma* infection in humans. *Meditinskaia Parazitologija i Parazitarnye Bolezni*, v.1, p.83-84. 1985.

Normas editoriais

POLÍTICAS E REGRAS GERAIS

A revista *VETERINÁRIA EM FOCO*, publicação científica da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), com periodicidade semestral, publica artigos científicos, revisões bibliográficas, relatos de casos e notas técnicas referentes à área de Ciências Veterinárias, que a ela deverão ser destinados com exclusividade. É editada sob responsabilidade do Curso de Medicina Veterinária da Ulbra.

Os artigos científicos, revisões bibliográficas, relatos de casos e notas devem ser enviados em tres cópias redigidas em computador, em word, fonte 12, Times New Roman, espaço duplo entre linhas, folha tamanho A4 (21,0 x 30,0 cm), margem direita 2,5cm e esquerda 3cm. As páginas devem ser numeradas e rubricadas pelos autores. Os trabalhos devem ser acompanhados de ofício assinado pelos autores.

Os artigos serão submetidos a exame por 3 pesquisadores com atividade na linha de pesquisa do tema a ser publicado, tendo a Revista o cuidado de manter sob sigilo a identidade dos autores e dos consultores. Disquetes serão solicitados após a submissão dos trabalhos e aprovação pelos consultores.

1- O **artigo científico** deverá conter os seguintes tópicos: Título (em português e inglês); RESUMO; Palavras-chave; ABSTRACT; Keywords; INTRODUÇÃO (com revisão da literatura); MATERIAL E MÉTODOS; RESULTADOS E DISCUSSÃO; CONCLUSÃO; AGRADECIMENTOS; REFERÊNCIAS.

2- A **revisão bibliográfica** deverá conter: Título (em português e inglês); RESUMO; Palavras-chave; ABSTRACT; Keywords; INTRODUÇÃO; DESENVOLVIMENTO; CONCLUSÃO; REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

3- A **nota** deverá conter: Título (em português e inglês); RESUMO; Palavras-chave; ABSTRACT; Keywords; seguido do texto, sem subdivisão, abrangendo introdução, metodologia, resultados, discussão e conclusão, com REFERÊNCIAS.

4- O **relato de caso** deverá conter: Título (em português e inglês); RESUMO; Palavras-chave; ABSTRACT; Keywords; INTRODUÇÃO (com revisão de literatura); RELATO DO CASO; RESULTADOS E DISCUSSÃO; CONCLUSÃO; REFERÊNCIAS.

ORGANIZAÇÃO DO TEXTO

Título

Deve ser claro e conciso, em caixa alta e negrito, sem ponto final, em português e inglês.

Autores

Deve constar o nome por extenso de cada autor+++, abaixo do título, seguido de informação sobre atividade profissional, maior titulação e lugar/ano de obtenção, Instituição em que trabalha, endereço completo e E-mail.

Resumo e abstract

O resumo deve ser suficientemente completo para fornecer um panorama adequado do que trata o artigo, sem, porém, ultrapassar 350 palavras. Logo após, indicar as palavras-chave / key words (mínimo de três) para indexação.

Citações e referências

Citações bibliográficas no texto deverão constar na INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS E DISCUSSÃO no artigo científico, conforme exemplo: um único autor (SILVA, 1993); dois autores (SOARES; SILVA, 1994); mais de três autores (SOARES et al., 1996). Quando são citados mais de um trabalho, separa-se por ponto e vírgula dentro do parênteses (SOARES, 1993; SOARES; SILVA, 1994; SILVA et al., 1998).

Referências devem ser redigidas em página separada e ordenadas alfabeticamente pelos sobrenomes dos autores, elaboradas conforme a ABNT (NBR-6023).

Tabelas e figuras

As Tabelas e Figuras devem ser numeradas de forma independente, com números arábicos. As Tabelas devem ter o título acima das mesmas, escrito em letra igual à do texto, mas em tamanho menor.

As Figuras devem ter o título abaixo das mesmas.

Tabelas e Figuras podem ser inseridas no texto.

Endereço para correspondência

Revista VETERINÁRIA EM FOCO

Av. Farroupilha, 8001 - Prédio 60 - Sala 01

São José / RS - Brasil

CEP: 92425-900

E-mail: secagrarias@ulbra.com

Disponível eletronicamente

www.ulbra.br/veterinaria/rfoco.htm