



Tópicos Especiais em Ciência Animal VII



PPGCV

Programa de Pós-graduação
em Ciências Veterinárias
CCAUE-UFES

ORGANIZADORES

Leonardo Oliveira Trivilin
Leonardo Demier Cardoso
Maria Aparecida da Silva
Pedro Pierro Mendonça



LEONARDO OLIVEIRA TRIVILIN
LEONARDO DEMIER CARDOSO
MARIA APARECIDA DA SILVA
PEDRO PIERRO MENDONÇA
(ORGANIZADORES)

TÓPICOS ESPECIAIS EM CIÊNCIA ANIMAL VII

1ª EDIÇÃO

ALEGRE-ES

CAUFES

2018

CCAUE-UFES

Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo

Alto Universitário, s/n, Guararema, Alegre-ES

Telefone: (28) 3552-8955 – Fax (28) 3552-8903

www.alegre.ufes.br/ccae

ISBN: 978-85-54343-12-5

Editor: CAUFES

Dezembro 2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial Sul da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

T674 Tópicos especiais em ciência animal VII [recurso eletrônico] /
 organizadores, Leonardo Oliveira Trivilin... [et al]. - Dados
 eletrônicos. Alegre, ES : CAUFES, 2018.
 302 p. : il.

Inclui bibliografia.

ISBN: 978-85-54343-12-5

Modo de acesso: [http://www.cienciasveterinarias.ufes.br/
topicos-especiais-em-ciencia-animal-teca](http://www.cienciasveterinarias.ufes.br/topicos-especiais-em-ciencia-animal-teca)

1. Ciência. 2. Medicina veterinária. 3. Zootecnia. 4. Nutrição
Animal. 5. Reprodução Animal. 6. Diagnóstico. 7. Veterinária –
Doenças – Tratamento. I. Trivilin, Leonardo Oliveira, 1981 - .

CDU: 619

Elaborado por Claudia Regina da Rocha Oliveira – CRB-6 ES-576/O

Os textos apresentados nessa edição são de inteira responsabilidade dos autores. Os organizadores não se responsabilizam pela revisão ortográfica, gramatical e autenticidade do conteúdo dos capítulos apresentados.

REITOR – UFES

REINALDO CENTODUCATTE

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS – UFES

DIRCEU PRATISSOLI

COORDENADOR - PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

JOSÉ DE OLIVEIRA CARVALHO

ORGANIZADORES DESTA OBRA

LEONARDO OLIVEIRA TRIVILIN

LEONARDO DEMIER CARDOSO

MARIA APARECIDA DA SILVA

PEDRO PIERRO MENDONÇA

ILUSTRADOR DA CAPA E CONTRACAPA

MARIETA CRISTINA COUTO KUSTER

APRESENTAÇÃO

A coletânea “Tópicos Especiais em Ciência Animal” teve o início das suas publicações em 2012 com o objetivo de agregar a Jornada Científica da Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Espírito Santo. Em 2014, mesmo não sendo realizada a Jornada Científica, o Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV) decidiu que a obra teria a sua continuidade, e seriam publicados trabalhos dos professores integrantes do quadro do Programa (PPGCV).

Esta obra, até o momento, consta de seis volumes publicados, sendo este o volume VII. Desta forma o presente livro, obra cuidadosamente produzida, como fruto do trabalho de diversos autores, corresponde a uma compilação aprimorada do material por eles utilizado e extensivamente testado em disciplinas de graduação e de Pós-graduação ministradas na Universidade Federal e Instituto Federal do Espírito Santo.

O material aqui apresentado tem como finalidade principal servir como texto fundamental de estudo sobre Ciência Animal, nas linhas de Pesquisa do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Espírito Santo: 1) Reprodução e Nutrição Animal e 2) Diagnóstico e Terapêutica das Enfermidades Clínico- Cirúrgicas. Seu público-alvo é, portanto, os alunos da Graduação e da Pós-Graduação das áreas de Ciências Agrárias, Biológicas, Farmacêuticas, Medicina Veterinária e Zootecnia.

Assim, apresentamos o livro “TÓPICOS ESPECIAIS EM CIÊNCIA ANIMAL VII”, sendo permitido seu pleno uso de textos e figuras, desde que respeitados os direitos dos autores a terem os devidos créditos. Ainda, os textos apresentados nessa edição são de inteira responsabilidade dos autores. Os organizadores não se responsabilizam pela revisão ortográfica, gramatical e nem pelo ineditismo ou autoria dos textos apresentados.

OS ORGANIZADORES

LISTA DE AUTORES

Adilson Vidal Costa. Professor do Departamento de Química e Física - UFES, CCENS, e-mail: avcosta@hotmail.com

Adriano Lima Stelzer Bindaco. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: adrianostelzer48@gmail.com

Antônio de Calais Júnior. Universidade Estadual do Norte Fluminense, e-mail: vetcalais@hotmail.com

Beatriz Gistri Pontes. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: bia.gistri@gmail.com

Bianca de Oliveira Botelho. Mestranda em Ciências Veterinárias - Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Centro de Ciências Agrárias e Engenharias (CCAEE), e-mail: biancabotelho93@hotmail.com

Carolina Machado Santos. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: car0lnamachado@hotmail.com

Caroline de Souza Fontes. Mestranda em Agroquímica - UFES, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, e-mail (CCENS): carolinefontes17@gmail.com

Caroline Sant'Anna Feitosa. Mestranda em Ciências Veterinárias na Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, e-mail: caroline.mvet@gmail.com

Caroline Teixeira Bonifácio. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: carolteixeira.bonifacio@hotmail.com

Cleverson Paixão Monteiro. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: cleveson.pxmonteiro@gmail.com

Daniela Fernandes Souza. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: dfsouza01@yahoo.com.br

Davi Cardoso Aguiar de Melo. Mestrando em Agroquímica - UFES, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, e-mail (CCENS): dcam21@hotmail.com

Driéle Lutzke. Residente do Programa de Residência Uniprofissional na Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, e-mail: drielelutzke@gmail.com

Elisabeth Maria López de Prado. Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, e-mail: elisabeth.prado7@gmail.com

Fabiane Matos dos Santos. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: fabiane.santos@ufes.br

Felipe Martins Pastor. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: felipempastor@gmail.com

Franciely Mota de Oliveira. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: francielymota94@gmail.com

Gisele de Freitas Bitencourt. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: gisalegre@hotmail.com

Hévila Dutra Barbosa de Cerqueira. Mestranda em Ciências Veterinárias na Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, e-mail: hevila.veterinaria@hotmail.com

Isabella Vilhena Freire Martins. Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias-CCAEE, e-mail: isabella.martins@ufes.br

Janaína Cecília Oliveira Villanova. Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, e-mail: farmacotecnica@yahoo.com.br

José Geraldo Vargas Júnior. Professor associado III do Departamento de Zootecnia - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, e-mail: josegeraldovargas@yahoo.com.br, bolsista produtividade FAPES

Juliana Aparecida Severi. Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, e-mail: juseveri@yahoo.com.br

Karen Carvalho Machado. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: karen.carvalho@hotmail.com

Karina Preising Aptekmann. Professora adjunto do Departamento de Medicina Veterinária - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, e-mail: kapreising@gmail.com

Katiussi de Negreiros Silva. Mestranda em Ciências Veterinárias - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, e-mail: katiussi_zoo@hotmail.com

Lais Regina Ferreira Magnago. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: lais.magnago@hotmail.com

Leandro André Milholli. Mestrando em Ciências Veterinárias na Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, e-mail: andremilholli@gmail.com

Leonardo Demier Cardoso. Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: leonardodemier@hotmail.com

Leonardo Oliveira Trivilin. Professor adjunto do Departamento de Medicina Veterinária - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, e-mail: leotrivilin@gmail.com

Letícia Azeredo de Freitas. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: leticiaazedof@gmail.com

Louisiane de Carvalho Nunes. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: louisianecn@gmail.com

Luiz Filipe Simão Soares. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: luizfilipe.soares@gmail.com

Luma da Silva Mutz. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: luma.mutz@gmail.com

Márcia de Souza Xavier. Universidade Federal Fluminense, e-mail: marciasouzaxavier@gmail.com

Maria Aparecida da Silva. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mvmariaaparecida@gmail.com

Maria Larissa Bitencourt Vidal. Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias-CCAEE, e-mail: larissabvidal@hotmail

Mariana Nogueira Gonçalves. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mariana.nogueira@outlook.com

Marieta Cristina Couto Kuster. Mestrando em Ciências Veterinárias na Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, e-mail: marieta.kuster@hotmail.com

Mayara Fernanda da Silva. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mayara.fernanda201@gmail.com

Mayara Mezabarba Riva. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mayarariva@yahoo.com.br

Melissa Carvalho Machado do Couto Chambarelli. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Email: melcouto@ufrj.br

Natalia Assis Guedes. Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Naturais Exatas e da Saúde-CCENS, e-mail: nataliaassisg@hotmail.com

Natania do Carmo Sperandio. Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias-CCAEE, e-mail: nataniasperandio@gmail.com

Pedro Pierro Mendonça. Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: ppierrom@gmail.com

Poliana Aparecida Rodrigues Gazolla. Doutoranda - Programa de Pós-Graduação em Agroquímica - Universidade Federal de Viçosa, Centro de Ciências Exatas, e-mail: poliana.gazolla@ufv.br

Raphaella Pereira Paixão. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: raphapaixao28@gmail.com

Renzo Soares. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: renzosoaresvet@hotmail.com

Rhaíra Nazário Ribeiro. Discente do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, CCAEE, e-mail: rhanazario@hotmail.com

Roberta Tristão Pinto. Mestranda - Programa de Pós-Graduação em Agroquímica- Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, e-mail: Roberta_tristao@hotmail.com

Róbson Ricardo Teixeira. Professor Associado - Programa de Pós-Graduação em Agroquímica - Universidade Federal de Viçosa, Centro de Ciências Exatas, e-mail: robsonr.teixeira@ufv.br

Rodrigo Martins Pereira. Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: rodrigoaquicultura@yahoo.com

Ronald Assis Fonseca. Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: ronald.ufv@hotmail.com

Roselena Abreu Guedes. Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, e-mail: rosinhafarma25@gmail.com

Suzana Gonçalves Carvalho. Discente do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, CCAE, e-mail: suzana2994@gmail.com

Taiana de Alencar. Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, e-mail: taiana_alencar@hotmail.com

Thaís de Souza Nunes. Mestranda em Ciências Veterinárias - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, e-mail: nunes.thaiszoo@gmail.com

Thais Martins Silva. Discente do curso de Farmácia - Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, CCENS - Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: pharmacotecnica@yahoo.com.br

Thiago Saloto Abreu Rezende. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: salotorezende93@gmail.com

Vagner Tebaldi de Queiroz. Professor do Departamento de Química e Física - UFES, CCENS, e-mail: vagnertq@gmail.com

Victor Menezes Tunholi Alves. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), e-mail: victortunholi@gmail.com

Winner Duque Rodrigues. Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, e-mail: winner.duque@gmail.com

SUMÁRIO

REPRODUÇÃO E NUTRIÇÃO ANIMAL

Capítulo 1 - Uso de medicamentos na piscicultura.....	12
Capítulo 2 - Utilidade da branchoneta (<i>Dendrocephalus brasiliensis</i>) na piscicultura.....	28
Capítulo 3 - Cobre na alimentação animal.....	39
Capítulo 4 - Miopatias em frango de corte.....	50

DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DAS ENFERMIDADES CLÍNICO-CIRÚRGICAS

Capítulo 5 - Estrutura e fisiologia óssea.....	64
Capítulo 6 - Obstetrícia veterinária para clínicos de pequenos animais.....	83
Capítulo 7 - Sarcopenia em cães – revisão de literatura.....	99
Capítulo 8 - Métodos diagnósticos para a doença de Chagas canina.....	108
Capítulo 9 - Uso indiscriminado de medicamentos veterinários na pecuária.....	125
Capítulo 10 - Aplicação de nanoemulsões na agricultura e medicina veterinária.....	143
Capítulo 11 - Efeitos de óleos essenciais no controle de moluscos transmissores de fasciolose.....	157
Capítulo 12 - Atividade leishmanicida de 1,2,3-triazóis via “click chemistry”.....	168
Capítulo 13 - Nematoides entomopatogênicos: agentes promissores no controle biológico de parasitos.....	188
Capítulo 14 - Potencial terapêutico de plantas com mucilagens na cicatrização de feridas...198	
Capítulo 15 - Modalidades terapêuticas em oncologia de pequenos animais: aspectos gerais.....	218
Capítulo 16 - Abordagem nutricional terapêutica em cães e gatos com doença cardíaca.....	234
Capítulo 17 - Fibropapilomatose em tartarugas verdes (<i>Chelonia mydas</i>): morfologia, histopatologia e histoquímica.....	250
Capítulo 18 - Accipitriformes, Falconiformes e Strigiformes: aspectos importantes sobre os rapinantes brasileiros e a morfologia do seu trato digestório.....	263
Capítulo 19 - Produtos de higiene e embelezamento para uso veterinário.....	284



Capítulo
1

Uso de medicamentos na piscicultura

Leonardo Demier Cardoso¹
Ronald Assis Fonseca²
Gisele de Freitas Bitencourt³
Caroline Teixeira Bonifácio⁴
Rodrigo Martins Pereira⁵
Pedro Pierro Mendonça⁶

¹ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: leonardodemier@hotmail.com

² Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: ronald.ufv@hotmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: gisalegre@hotmail.com

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: carolteixeira.bonifacio@hotmail.com

⁵ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: rodrigoaquicultura@yahoo.com

⁶ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: ppierrom@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

A piscicultura brasileira segue uma fase de expansão e consolidação, o que exige a intensificação do manejo e o elevado aumento na densidade populacional da espécie cultivada. Consequentemente a estes fatos, as ocorrências de enfermidades nos plantéis tendem a aumentar, devido principalmente, ao estresse gerado nestes animais (OLIVEIRA et al., 2015).

Uma grande diversidade de agentes patogênicos está relacionada às doenças que acometem os peixes em água salgada e doce, principalmente nos sistemas intensivos e super intensivos de produção. Os patógenos dividem-se em vírus, bactérias, fungos, endoparasitos e ectoparasitos (CARDOSO; VIDAL Jr.; SILVA, 2017; LEIRA et al., 2017).

A prevenção e tratamento destes animais na piscicultura no Brasil são realizados com medicamentos que podem ser administrados através de banhos de imersão, de produtos adicionados à ração, e tratamento tópico ou biológico (RODRIGUES; AZEVEDO, 2017), porém, muitos deles não são padronizados para as espécies e tampouco são registrados.

Em habitats aquáticos, essas drogas ocasionam grande impacto no ambiente, associado a permanência de resíduos químicos na água, bem como a seleção de bactérias e outros agentes resistentes. Ainda, nos últimos anos, os resíduos de antibióticos em carcaças de peixes têm sido uma barreira ao comércio internacional, principalmente o destinado à exportação para os Estados Unidos e Comunidade Europeia (LEIRA, et al., 2017).

Sendo de suma importância o aproveitamento de experiências adquiridas por outros países e sobretudo, o incentivo à estudos que comprovem a eficácia e segurança de substâncias terapêuticas, auxiliando de forma embasada a permissibilidade do uso de determinadas drogas respeitando-se protocolos de tratamento e os períodos de carência estabelecidos, e dessa forma, promovendo avanços no que diz respeito à saúde pública e mitigação de impactos ambientais (CARDOSO; VIDAL Jr.; SILVA, 2017), esta revisão traz informações relevantes sobre as doenças infecciosas na piscicultura, tratamentos e impactos ambientais inerentes ao uso de medicamentos para aquicultura.

2 DOENÇAS INFECCIOSAS NA PISCICULTURA

Os métodos de cultivo de peixes no Brasil seguem uma tendência mundial de intensificação com o incremento de novas espécies e aumento da densidade de estocagem, permitindo o relevante acréscimo na produção, porém, nota-se desde a década de 1980, maior frequência na ocorrência de doenças nos peixes, acompanhando o período de maior crescimento da atividade no país (VIDAL Jr., 2002).

A alta concentração de peixes encontrada nos sistemas intensivos, inegavelmente contribui para o surgimento de doenças e o estabelecimento de epizootias, uma vez que nessas condições a transmissão e perpetuação do ciclo biológico dos mais diversos patógenos é facilitada (PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008). Além de facilitar a propagação de doenças, o ambiente de cultivo pode fornecer uma série de agentes estressores de natureza física, química, biológica ou social aos animais. O estresse por sua vez, gera uma cascata de respostas fisiológicas primárias, secundárias e terciárias, envolvendo a liberação de catecolaminas e cortisol no primeiro momento, precedendo o direcionamento de energia às funções e órgãos vitais na tentativa de manutenção da homeostase, culminando na terceira fase, encontrada em situações de estresse crônico, quando há a exaustão dos sistemas biológicos, e estoques energéticos. Nesse caso, as atividades anabólicas de investimento de longo prazo como reprodução, crescimento e sistema imunológico são consideravelmente afetados,

tornando o animal mais susceptível à agentes patológicos (URBINATI; ZANUZZO; BILLER-TAKAHASHI, 2014).

Uma grande diversidade de agentes patogênicos está relacionada às doenças que acometem os peixes em água salgada e água doce, seja em ambiente natural, seja nos sistemas de produção. Os patógenos dividem-se em vírus, bactérias, fungos, endoparasitos e ectoparasitos (CARDOSO; VIDAL Jr.; SILVA, 2017; LEIRA et al., 2017).

Os vírus são agentes altamente infecciosos muito pequenos, e possuem a particularidade de se replicarem no interior das células dos hospedeiros, tornando mais complexo o tratamento. Características essas que frequentemente resultam em elevadas taxas de mortalidade e conseqüentemente perdas econômicas consideráveis no cultivo de peixes, sobretudo em sistemas intensivos (IWASHITA; MACIEL, 2013; MUNDAY; KWANG; MOODY, 2002; PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008).

Por conta da inexistência de processos terapêuticos associado a alta patogenicidade e facilidade de transmissão, a maioria das doenças virais são de notificação obrigatória, e pode-se citar: septicemia hemorrágica viral, necrose hematopoiética infecciosa, virose primaveril da carpa, necrose pancreática infecciosa e síndrome ulcerativa epizoótica (IWASHITA; MACIEL, 2013; PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008; PEREIRA; PINHEIRO, 2014). Destaca-se a descoberta de um novo vírus que atualmente abala a produção mundial de tilápias. O vírus da tilápia lacustre (TiLV), pertencente à família Orthomyxoviridae foi descoberto em 2014 através de métodos moleculares de diagnóstico, porém, já causava altas taxas de mortalidade em Israel há pelo menos sete anos. Estudos posteriores demonstraram a presença da doença em diversos outros países, como Egito, Tailândia, Taiwan, Índia, Equador e Colômbia, gerando alerta quanto à importação de peixes, principalmente vivos, sob o risco de disseminação da doença (ACHOH et al., 2018; FIGUEIREDO; LEAL, 2016).

As bactérias são organismos de enorme importância no que se refere a sanidade nas pisciculturas, visto que, com muita frequência provocam doenças impactantes nas populações de peixes, com altas taxas de mortalidade e queda dos índices zootécnicos, sobretudo quando há interferência na homeostase animal pela inadequação das condições nutricionais e ambientais (AUSTIN; AUSTIN, 2007; DOTTA; PIAZZA, 2012).

Clinicamente, os sinais observados são variados e muitas vezes inespecíficos, porém, as características de algumas lesões podem auxiliar o diagnóstico (TABELA 1).

Tabela 1 - Principais bacterioses e os sinais clínicos evidentes nos peixes

Bactéria	Sinais típicos	Referência
<i>Aeromonas</i>	Úlceras corporais, hemorragia na base das nadadeiras, ascite, escamas eriçadas.	(KUBITZA, 2008; NASCIMENTO et al., 2014; OLIVEIRA et al, 2014)
<i>Edwardsiella tarda</i>	Lesões com exposição de musculatura e abscessos musculares	(KUBITZA, 2008; PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008)
<i>Franscisella</i> sp	Granulomas em fígado baço, rim e coração.	(KUBITZA, 2008; MIKALSEN et al., 2007)
<i>Flavobacterium columnare</i>	Necrose e manchas brancas na superfície corporal.	(BARONY; FIGUEIREDO; LEAL, 2014; KUBITZA, 2008)
<i>Vibrio</i> sp	Úlceras e hemorragias corporais.	(LIAO et al., 2004; NASCIMENTO et al., 2014)
<i>Photobacterium damsela</i>	Lesões necróticas em fígado, baço e rim.	(CHEN; HSU, 2005; KAISER; HOLT, 2005)
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Natação errática, exoftalmia, úlceras e hemorragias corporais, opacidade de córnea, escurecimento do corpo, abscessos em pedúnculo caudal.	(COSTA; LEAL; FIGUEIREDO, 2014; LEAL, 2014; PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008; TAVARES; FIGUEIREDO; TSAI et al., 2015)
<i>Micobacterium</i> sp	Anorexia, exoftalmia, descoloração perda de escamas, necrose em nadadeiras.	(PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008)
<i>Yersinia ruckeri</i>	Escurecimento do corpo, hemorragias superficiais coloração avermelhada da boca e língua.	(PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008)
<i>Pseudomonas</i>	Hemorragias no tegumento, nadadeiras e órgãos internos, ascite.	(PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008)

Adaptado de Cardoso, Vidal Jr. e Silva (2017).

Quase todas as bactérias patogênicas aos peixes são aeróbias, facilitando o diagnóstico laboratorial com semeadura direta em meios de cultura sólidos, porém, como frequentemente há contaminação das amostras, podem-se fazer necessários o isolamento bacteriano em meios de cultura seletivos (PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008).

Os fungos também possuem relativa frequência na piscicultura, principalmente como infecções secundárias. Dentre outros, o gênero *Saprolegnia* é o mais comum na aquicultura, e apesar dos danos serem mais recorrentes em ovos e larvas pela facilidade de propagação das hifas nessas fases do cultivo, onde os indivíduos são mantidos muito próximos uns dos outros, a saprolegniose pode se manifestar em indivíduos adultos, caracterizado pela formação de tufo branco lembrando algodão (IWASHITA; MACIEL, 2013; KUBITZA; KUBITZA, 2004). Entre os fungos, o gênero *Branchiomyces* merece destaque devido a gravidade das lesões ocasionadas em peixes de água doce. Ao colonizar as brânquias, comprometem a circulação sanguínea no órgão e há formação de áreas necrosadas, afetando diretamente a fisiologia respiratória e a excreção de substâncias (IWASHITA; MACIEL, 2013).

As parasitoses compreendem um grande número de agentes que acometem os peixes interna e externamente. A gravidade das lesões variam de acordo com o agente envolvido, a quantidade de parasitas, órgão afetado e a presença ou não de infecções secundárias. Geralmente, o impacto causado no cultivo está relacionado com reduções no crescimento dos animais, além de possibilitar uma porta de entrada a outros agentes patogênicos oportunistas (McLEAN; SALZE; CRAIG, 2008).

O diagnóstico correto é preponderante para se estipular o tratamento adequado e bem sucedido (IWASHITA; MACIEL, 2013), portanto, a observação dos sinais clínicos, e o monitoramento da parasitofauna no plantel, como sugere Ishikawa et al. (2016), através de amostragens para avaliação macroscópica e observação em microscópio de raspado do muco e brânquias auxiliam a definição do diagnóstico, porém, sinais clínicos patognomônicos decorrentes de doenças em peixes dificilmente acontecem, necessitando, por muitas vezes a realização de exames laboratoriais terceirizados, visto que o alto custo de aparelhos e reagentes, assim como a mão de obra especializada, inviabilizam a execução desses exames na propriedade (ANDRADE et al., 2014).

A coleta e conservação de amostras para envio ao laboratório deve ser cuidadosa e criteriosa, a fim de se manter a integridade e evitar a contaminação das mesmas.

Primeiramente, a amostragem de peixes para necropsia e coleta de órgãos, principalmente para realização do isolamento bacteriano em laboratório, deve, sempre que possível ser composta por peixes ainda vivos que evidenciem os sinais clínicos típicos da

doença, pois a utilização de peixes encontrados mortos podem tornar os resultados inconclusivos ou equivocados devido a ação de bactérias saprófitas e alterações celulares *post mortem* (PAVANELLI et al. 2008).

De forma geral, a maioria dos ectoparasitas coletados podem ser fixados em formol tamponado 5 a 10%. Órgãos como brânquias, estômago e intestino podem ser banhados com água aquecida (55 - 60°C), favorecendo a remoção dos parasitas. Cestoides e nematoides normalmente são encontrados na fase adulta na luz do intestino, e devem ser fixados com formol 5% ou AFA quente, para distensão do corpo, facilitando sua identificação (EIRAS; TAKEMOTO; PAVANELLI, 2006; JERÔNIMO et al., 2012).

Todo material deve ser etiquetado, com o máximo de informações possíveis, o que auxilia o diagnóstico do patologista, assim como evita a mistura ou troca de amostras. Informações como nome do responsável, localização, contato, data da coleta, órgão coletado, espécie, histórico dos acontecimentos e dos sinais clínicos observados, descrição dos parâmetros de qualidade de água e dos tratamentos realizados contribuem para execução de um diagnóstico mais preciso (IWASHITA; MACIEL, 2013).

3 TRATAMENTOS

No Brasil, especula-se que a disponibilidade reduzida de antimicrobianos aprovados para uso na piscicultura tem levado os produtores ao uso indiscriminado de diversas substâncias químicas com atividade antimicrobiana, aprovadas para outras espécies, ou mesmo proibidas. Consequentemente, o uso de antimicrobianos tem chamado atenção pelos riscos à saúde humana, animal e ambiental relativos a exposição a resíduos oriundos de tratamentos efetuados em corpos d'água (TELES; REYES, 2014).

O uso de medicamentos e produtos químicos com o intuito de se controlar e tratar as mais diversas doenças na aquicultura tende a aumentar, acompanhando o crescimento da atividade aquícola. Porém, o uso indiscriminado desses produtos sem prescrição geram uma grande preocupação no que se refere à saúde pública e segurança alimentar devido à possível presença de resíduos de medicamentos no pescado. No Brasil, algo que contribui para o uso indiscriminado de medicamentos é a escassa legislação que proíba ou aprove o uso de cada substância, além de existir poucos medicamentos registrados para o uso em aquicultura no país (IWASHITA; MACIEL, 2013).

Antes de se falar em qualquer tipo de tratamento de enfermidades, uma série de fatores devem ser considerados, visto que podem direta ou indiretamente comprometer a eficácia do

produto, seja ele natural ou sintético. Deseja-se que qualquer produto utilizado não cause dano ao tecido do animal tratado, tenha degradação rápida, não deixe resíduo na água, no substrato ou no tecido animal, não influencie na qualidade da água, não ofereça perigo a humanos e animais, tenha baixo custo e seja de fácil aplicação. A escolha de medicamentos envolve também situações específicas, como idade e espécie a ser medicada, uma vez que normalmente juvenis e larvas possuem menor resistência aos produtos químicos, assim como a sensibilidade varia entre espécies de peixes (MARTINS, 2004).

Alguns pontos podem auxiliar para que se tenha sucesso no tratamento, e não se cometa equívocos na escolha do protocolo terapêutico. Deve-se responder algumas questões, como qual é a natureza e localização do patógeno, depois, qual medicamento pretende-se usar e a concentração indicada. Busca-se então, informações sobre a toxicidade do medicamento e a forma de aplicação adequada para a circunstância. Avalia-se ainda, a presença de fatores na água que podem interferir na ação do medicamento. Recomenda-se também o teste em uma pequena parcela dos peixes que se pretende tratar, para que se tenha o real efeito da substância evitando grandes perdas por intoxicação (SCHALCH; TAVARES-DIAS; ONAKA, 2009).

As intervenções terapêuticas podem ser feitas através de diversas formas. Os banhos terapêuticos são indicados principalmente para o tratamento de patologias externas causadas por parasitas, bactérias ou fungos (TABELA 2). Nesse tipo de tratamento, os parâmetros físico-químicos da água devem ser estritamente controlados, especialmente o nível de oxigênio dissolvido e temperatura, visto que normalmente é realizado em tanques de volume reduzido com alta densidade (PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008).

Classifica-se os tipos de banho terapêutico de acordo com o tempo de exposição ao medicamento, podendo ser um banho de imersão, que dura poucos segundos, banhos de curta duração entre 1 minuto até poucas horas, banhos de longa duração de 12 a 24 horas ou banhos por tempo indeterminado. O tempo de exposição e as doses variam conforme o agente etiológico, finalidade e a tolerância dos animais ao medicamento (IWASHITA; MACIEL, 2013; SCHALCH; TAVARES-DIAS; ONAKA, 2009).

A via de administração interna pode ser realizada através de injeções ou oral, normalmente com o medicamento incluso na fonte de alimentação (TABELA 3). Já no uso tópico é feita a aplicação do medicamento diretamente na lesão externa (SCHALCH; TAVARES-DIAS; ONAKA, 2009).

Em infecções virais, por serem auto limitantes e não existirem tratamentos terapêuticos específicos, preconiza-se a manutenção de boa qualidade da água aliado ao tratamento sintomático (MARTINS; CATROXO; HIPÓLITO, 2015).

Tabela 2. Principais tratamentos realizados em banhos terapêuticos em peixes (continua).

Substância	Dose	Patologia	Referência
Água doce	100% - Banho de 5 minutos	Ectoparasitas; Monogenoides; Protozoários.	(FAO, 2016; KERBER et al., 2011; MARTINS; CATROXO; HIPÓLITO, 2015)
Sulfato de cobre	15- 25mg/L – 1 hora	Protozoários; Monogenoides; Fungos; Bactérias externas.	(FAO, 2016; MARTINS; CATROXO; HIPÓLITO, 2015; SCHALCH; TAVARES-DIAS; ONAKA, 2009)
Permanganato de potássio	10g/m ³ - 20-30min 2g/m ³ - tempo indefinido	Parasitas; fungos; bactérias externas.	(KUBITZA; KUBITZA, 2004; SCHALCH; TAVARES-DIAS; ONAKA, 2009)
Ácido acético	2ml/L – 30 segundos	Monogenoides	(PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008)
Formalina	150-250ml/m ³ -30-60min 25-30ml/m ³ -24h 600ml/m ³ -20min em ovos 15-25ml/m ³ -Tempo indefinido	Protozoários; Monogenoides; Fungos; Bactérias	(FAO, 2016; KUBITZA; KUBITZA, 2004; MARTINS; CATROXO; HIPÓLITO, 2015; PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008)
Iodo	50-10ml/L – 10 min(ovos) 25ml/L – 10min (gametas)	Desinfecção de ovos e gametas. Viroses; bacterioses; micoses	(PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008)
Peróxido de hidrogênio	100mg/L – 30min 50 – 100mg/L – 60min	Monogenoides; Fungos; bactérias	(USFDA, 2016)
Triclorfon 80%	25g/L – 5-10min 1-5g/10000L–Tempo indefinido em tanques com troca contínua de água	Crustaceos; Monogenoides; Protozoários	(KUBITZA; KUBITZA, 2004; PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008)

Tabela 2. Principais tratamentos realizados em banhos terapêuticos em peixes (conclusão).

Substância	Dose	Patologia	Referência
Azul de metileno	2-3g/m ³ - tempo indefinido	Fungos	(KUBITZA; KUBITZA, 2004)
Praziquantel	10mg/L – 3horas	Parasitas	(FAO, 2016; KUBITZA; KUBITZA, 2004)
Oxitetraciclina	20g/m ³ -banhos prolongados	Bactérias	(KUBITZA; KUBITZA, 2004; SCHALCH; TAVARES-DIAS; ONAKA, 2009)
Verde malaquita	0,3mg/L-12horas em reprodutores. 1-5mg/L – 1hora em ovos	Fungos	(KUBITZA; KUBITZA, 2004; PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008)

Fonte: O autor.

Tabela 3. Principais tratamentos realizados por via oral em peixes (continua).

Substância	Dose	Patologia	Referência
Ácido oxolínico	10mg/kg de peixe durante 10 dias	Aeromonas	(PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008)
Flumequina	10mg/kg de peixe durante 10 dias	Aeromonas	(PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008)
Cloranfenicol	0mg/kg de peixe durante 10 dias	Bacterioses	(PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008)
Oxitetraciclina	250-1800mg/kg de ração – 10-14 dias 50-75mg/kg de peixe - 10 dias	Bacterioses	(KUBITZA; KUBITZA, 2004; PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008; SCHALCH; TAVARES-DIAS; ONAKA, 2009)
Sulfamerazina	200-300mg/kg de peixe – 10 dias	Bacterioses	(PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008)
Óxido de Di-NButil Estanho	25g/100kg de peixe – 3 dias	Digeneticos; cestoides; nematoides	(PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008)

Tabela 3. Principais tratamentos realizados por via oral em peixes (conclusão).

Substância	Dose	Patologia	Referência
Florfenicol	10-15mg/kg de peso vivo por via oral durante 10 dias consecutivos	Bacterioses	(FDA, 2016)
Mebendazol	20-40mg/kg de ração – 7-10 dias	Cestoda	(KUBITZA; KUBITZA, 2004)
Praziquantel	4g/kg de ração durante 1 semana	Cestoda	(KUBITZA; KUBITZA, 2004)

Fonte: O autor.

A *Food and Drug administration* (FDA) é a instituição responsável nos Estados Unidos por regulamentar o uso de fármacos e substâncias químicas na produção animal, especialmente os que se destinam ao consumo humano. O uso de algumas substâncias na aquicultura são previstas e autorizadas por essa instituição (TABELA 4)

Tabela 4. Tratamentos e fármacos aprovadas pela *Food and Drug administration* (FDA) para o uso em peixes (continua).

Substância	Dose	Indicação
Tricaina-S	10 – 1000mg/L	Imobilização temporária (Desova manual, marcação, biometria, cirurgias, transporte e pesquisa)
Florfenicol	10-15mg/kg de peso vivo por via oral durante 10 dias consecutivos	<i>Edwardsiella</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>psychrophilum</i> , <i>Flavobacterium columnare</i> , <i>Aeromonas salmonicida</i> , <i>Streptococcus iniae</i> .
Oxitetraciclina dihidratada	250mg/kg de peso vivo via oral por 4-10 dias	<i>Flavobacterium</i> , <i>psychrophilum</i> , <i>Flavobacterium columnare</i> , <i>Hemophilus piscium</i> , <i>Aeromonas salmonicida</i> , <i>Aeromonas liquefaciens</i> , <i>Pseudomonas</i> .

Tabela 4. Tratamentos e fármacos aprovadas pela *Food and Drug administration* (FDA) para o uso em peixes (conclusão).

Substância	Dose	Indicação
Peróxido de hidrogênio 35%	100mg/L – 30min 50 – 100mg/L – 60min 3 tratamentos em dias alternados ou consecutivos	<i>Flavobacterium columnare</i> , <i>Flavobacterium branchiophilum</i> Controle de fungos da família Saprolegniaceae em ovos
Ovos em incubação – 500 – 1000ml/L durante 15 min em sistema de fluxo contínuo. 1x ao dia, em dias consecutivos ou alternados até a eclosão		
Sulfametoxazol + trimetoprima	50ml/kg por via oral durante 5 dias	Eimerias, salmoneloses, pasteureloses, <i>Escherichia coli</i> , <i>Aeromonas</i>
Cloramina T	10-20mg/L em banhos de 60min em 3 dias consecutivos ou alternados.	<i>Flavobacterium columnare</i>
Formalina 37%	Peixes – Por tempo indefinido – 0,015-0,025ml/L Bano de 1hora – até 0,25ml/L	Protozoários externos (<i>Chilodonella</i> spp., <i>Costia</i> spp., <i>Epistylis</i> spp., <i>Ichthyophthirius</i> spp. <i>Scyphidia</i> spp., <i>Trichodina</i> spp.) Monogenoides (<i>Cleidodiscus</i> spp., <i>Dactylogyrus</i> spp., <i>Gyrodactylus</i> spp)
Ovos em incubação – 1 - 2ml/L em banhos de 15min		Controle de fungos da família <i>Saprolegniaceae</i> em ovos

Fonte: U.S Food & Drug Administration (2016).

4 IMPACTOS AMBIENTAIS INERENTES AO USO DE MEDICAMENTOS PARA AQUICULTURA

O uso de medicamentos na aquicultura implica em alteração nas características da água que pode causar impacto ao meio ambiente, pois de acordo com a ISO 14001, 2004, se define impacto ambiental qualquer modificação do meio ambiente, adversa ou benéfica, que resulte, no todo ou em parte, dos aspectos ambientais da organização. Neste caso a organização que estamos abordando é a aquicultura, que possui diversos aspectos que podem gerar impactos. Podemos citar o consumo de água, energia, ração e o uso de medicamentos como aspectos inerentes a aquicultura que poderão causar um impacto ambiental.

É importante ressaltar que a nível mundial, existem poucos medicamentos antimicrobianos licenciados para o uso na aquicultura (TELES; REYES, 2014) a FAO (*Food and Agriculture Organization*) apresenta a oxitetraciclina, o florfenicol, a sarafloxacina, a eritromicina e as sulfonamidas como os antibióticos mais utilizados no mundo, porém, no Brasil o florfenicol é o mais utilizado. Entretanto, mediante as possibilidades de uso o grande problema se encontra justamente no uso abusivo e inadequado, onde os fármacos são administrados sem autorização por parte de órgãos regulamentadores, inexistindo por conta disso pouca fiscalização, acarretando na exacerbada utilização inadequada (TELES; REYES, 2014).

Segundo Teles e Reyes (2014), existem poucos dados que demonstram os impactos que podem ser causados no ambiente e não há regulamentação e fiscalização para o uso de medicamentos em ambientes aquáticos (CARNEIRO et al, 2007). Porém, neste sentido, como define a ISO 14001, 2004 já citada acima, qualquer alteração no meio natural é considerada um impacto, que nem sempre são negativos e significativos.

O que se sabe é que o mau uso desses fármacos pode resultar em impactos ambientais, desenvolvimento de resistência de alguns agentes patogênicos que podem comprometer a biota aquática (KUBITZA, 2005). Sapkota et al. (2008) demonstraram que alguns genes de bactérias resistentes podem não ser patogênicos em organismos aquáticos, porém patogênicos aos seres humanos, o que por si só já demonstra impacto direto a saúde humana. Neste sentido, Schmidt et al. (2000) demonstram que o uso abusivo destas drogas está associado a diversos problemas, como a presença de resíduos ilegais na carne e transmissão de bactérias resistentes para o meio ambiente, animais e o próprio homem, num risco potencial à saúde pública.

Cabello (2006) afirma que a grande utilização de antimicrobianos na profilaxia de infecções em aquicultura está aumentando a possibilidade da contaminação do meio ambiente,

dos animais e do próprio homem com bactérias resistentes. Confirmando o que diz a conceituação de impacto ambiental, o uso desenfreado, exacerbado e abusivo de antimicrobianos não demonstra preocupação apenas na resistência de microrganismos, mas também nos resíduos liberados nos alimentos o que aponta a grande necessidade de trabalhos relacionados aos impactos do uso de medicamentos para a qualidade ambiental.

Criado em 1995, pelo MAPA- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento o PNCRC – Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal, previa a adoção de programas de controle de resíduos, tanto como contaminantes ambientais, quanto para os resíduos em alimentos, em decorrência do uso de defensivos agrícolas e medicamentos veterinários, corroborando com instrumentos para controle do uso e minimizar os impactos causados.

É notório que os fármacos apresentam impactos ambientais e a saúde humana, pois alteram as características naturais do meio, principalmente quando utilizados de forma inadequada. E neste sentido, vimos que o cenário crescente e promissor da aquicultura tem grande potencial para movimentar a economia e a atender a demanda alimentícia global, porém o uso de medicamentos deve ser rigorosamente controlado e fiscalizado, seguindo boas práticas de manejo e a legislação pertinente, a fim de garantir que os impactos causados pelos resíduos dos medicamentos e a resistência de bactérias sejam minimizados, buscando assim, a sustentabilidade da atividade de aquicultura garantindo alimentos saudáveis produzidos, respeitando os limites da natureza e reduzindo impactos de grande magnitude.

5 REFERÊNCIAS

ACHOH, M. E. et al. Diversité et abondance des poisson tilapias exploités au Bénin et le virus TiLV (Tilapia Lake virus): revue de synthèse et prospection des risques d’explosion de l’épidémie. **Afrique SCIENCE**, v. 14, n 2, p. 90-99. 2018.

ANDRADE, T. P. et al. **Estabelecimento de procedimentos de diagnóstico padrão e principais enfermidades em juvenis do beijupirá, *Rachycenton canadum* (LINNAEUS, 1766)**. In: Ensaio com Beijupirá, *Rachycenton canadum* - Resultados e experiências do projeto Nutrição, sanidade e valor do beijupirá, *Rachycenton canadum*, cultivado no nordeste do Brasil. 352p. Capítulo 9. Fortaleza, Ceará. UFC. 2014.

AUSTIN, B.; AUSTIN, D. B. **Bacterial fish pathogens in farmed and wild fish**. 4. ed. Chichester: Springer. 2007.

BARONY, G. M.; FIGUEIREDO, H. C. P.; LEAL, C. A. G. Columnariose em peixes de água doce. **Cadernos técnicos de veterinária e zootecnia**. Belo Horizonte: FEPMVZ, n. 73, p. 20-32, 2014.

- BLAYLOCK, R. B.; BULLARD, S. A.; WHIPPS, C. M. *Kudoa hypoepicardialis* sp. n. (Myxozoa: Kudoidae) and associated lesions from the heart of seven perciform fishes in the northern Gulf of Mexico. **Journal of Parasitology**, v. 90, p.584–593, 2004.
- CABELLO, F. C. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. **Environment Microbiology**, v. 8, n. 7, p. 1137-1144, 2006.
- CARDOSO, L. D.; VIDAL Jr., M. V.; SILVA, M. A. Doenças infecciosas que ameaçam a produção de *Rachycentron canadum*. In: VIANNA, U. R.; CARVALHO, J. O.; CARVALHO, J. R. **Tópicos especiais em ciência animal VI**. Alegre-ES: UNICOPY, 2017. p. 146-157.
- CHEN, S. C.; HSU, C. Studies on the pathogenicity and pathology of photobacterium damsela subsp. piscicida on *Rachycentron canadum*. **Journal of the Fisheries Society of Taiwan**, v. 32, n. 4, 2005.
- COSTA, F. A. A.; LEAL, C. A. G.; FIGUEIREDO, H. C. P. Infecção por *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *Dysgalactiae* em peixes. **Cadernos técnicos de veterinária e zootecnia**. Belo Horizonte: FEPMVZ, n. 73, p. 9-19, 2014.
- DOTTA, G.; PIAZZA, R. S. **Manejo no cultivo. Dados eletrônicos**. Curitiba: Instituto Federal do Paraná, 2012. 136 p.
- EIRAS, G. J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**. Maringá: EDUEM. 2006.
- FAO 2007-2016. **Cultured aquatic species information programme. *Rachycentron canadum*. Cultured aquatic species information programme**. In: KAISER, J. B.; HOLT, J. G. FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Disponível em: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Rachycentron_canadum/en. Acesso em: 12 ago. 2018.
- FIGUEIREDO, H. C. P.; LEAL, C. A. G. “Tilapia lake virus” e o comércio internacional da tilápia do Nilo e de seus produtos. **Panorama da aquicultura**, v. 154, 2016.
- ISHIKAWA, M. M. et al. **Procedimentos básicos para monitoramento da parasitofauna de peixes**. Circular técnica EMBRAPA. Jaguariúna-SP, 2016.
- ISO, E. N. 14001: 2004. Environmental management systems. **Requirements with guidance for use (ISSO 14001:2004)**, 2004.
- IWASHITA, M. K. P.; MACIEL, P. O. Princípios básicos de sanidade em peixes. In: RODRIGUES, A. P. O. et al. **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos**. 1.ed., Brasília-DF: EMBRAPA, 2013. 440 p.
- JERÔNIMO, G. T. et al. **Manual para coleta de parasitos em peixes de cultivo**. Brasília, DF: EMBRAPA, 2012. 36 p.

- KAISER, J. B.; HOLT, G. J. Species profile cobia. (S.I.): **Southern Regional Aquaculture Center**. Publicação, n. 7202, 2005.
- KUBITZA, F. Tilápias na mira dos patógenos. **Panorama da aquicultura**, v. 18, n. 107, p. 28-37, 2008.
- KUBITZA, F. Antecipando-se às doenças na tilapicultura. **Panorama da aquicultura**, v. 15, n. 89, p. 15-23, 2005.
- KUBITZA, F.; KUBITZA, L. M. M., **Principais parasitoses dos peixes cultivados**, 4. ed., Jundiaí, São Paulo, 2004. 108 p.
- LEIRA, M. H. et al. Problemas sanitários das pisciculturas brasileiras. **PUBVET**, v.11, n. 6, p. 538-544, 2017.
- LIAO, I. C. et al. Cobia culture in Taiwan: currents status and problems. **Aquaculture**, v. 237, n. 4, p.155–165, 2004.
- MARTINS, A. M. C. R. P. F.; CATROXO, M. H. B.; HIPÓLITO, M. Algumas das principais doenças dos peixes marinhos. **Instituto Biológico**, v. 21, n. 4, 2015.
- MARTINS, M. L. Cuidados básicos e alternativas no tratamento de enfermidades de peixes na aquicultura brasileira. In: RANZANI-PAIVA, M. J. ; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P. (Eds), **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo. Editora Varela. 2004. p. 357-370.
- McLEAN, E.; SALZE, G.; CRAIG, S. R. Parasites, diseases and deformities of cobia. **Ribarstvo**, v. 66, n. 1, p. 1-16, 2008.
- MIKALSEN, J. et al. *Francisella philomiragia* subsp. *noatunensis* subsp. nov., isolated from farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*, L.). **International Journal of Systematic of Evolutionary Microbiology**, v. 57, p. 1960–1965, 2007.
- MUNDAY, B. L.; KWANG, J.; MOODY, N. Betanodavirus infections of teleost fish: A review. **Journal of Fish Diseases**, v. 25, n. 3, p.127–142, 2002.
- NASCIMENTO, D. L. et al. Bactérias potencialmente patogênicas isoladas de beijupirá (*Rachycenton canadun*) cultivadas em sistemas offshore. **Medicina Veterinária**, v. 8, n. 2, p. 12-21, 2014.
- NOGA, E. J. Fungal diseases of marine and estuarine fish. In: _____ **Advances in fisheries science**. Pathobiology of marine and estuarine organisms. Florida: CRC Press. 1993. p. 85-110.
- OLIVEIRA, S. R. K. S.; BEZERRA, M. V. P.; BELO, M. A. A. Estudo da endofauna parasitária do tambaqui *Colossoma macropomum*, em pisciculturas do Vale do Jamari, Estado de Rondônia. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, p. 1026-1041, 2015.
- PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M., **Doenças de peixes: Profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 3. ed. Maringá: EDUEM. 2008. 311 p.

PEREIRA, A. M. L.; PINHEIRO, D. L. Ocorrência de vírus na aquicultura brasileira. In: MADI, R. R. et al. **Patologia e sanidade em ambientes aquáticos**. Maringá: Massoni, 2014. p. 41-62.

RODRIGUES, G. S. P.; AZEVEDO, T. M. P. Medicina veterinária principais parasitos de peixes nativos tratamento e profilaxia main parasites of native fish and prophylaxis. **Simpósio de TCC e Seminário de IC**, v. 1, p. 1310, 2017.

SAPKOTA, A. et al. Aquaculture practices and potencial human health risks: Current knowledge and future priorities. **Environment Institut**, v. 34 p. 1215-1226, 2008.

SCHALCH, S. H. C.; TAVARES-DIAS, M.; ONAKA, E. M. Principais métodos terapêuticos para peixes em cultivo. In: _____ **Manejo e sanidade de peixes de cultivo**. EMBRAPA: Amapá. 2009. p. 575-601.

SCHIMIDT, A. S. et al. Occurrence of antimicrobial resistance in fish pathogenic and environmental bactéria associated with four Danish rainbow trout farm. **Applied and environmental microbiology**, v. 66, n. 11, p. 4908-4915, 2000.

TAVARES, G. C.; FIGUEIREDO, H. C. P.; LEAL, C. A. G. Infecção por *Streptococcus iniae* em peixes. **Cadernos técnicos de veterinária e zootecnia**. Belo Horizonte: FEPMVZ. n. 73, p. 45-56, 2014.

TELES, J. A.; REYES, F. G. R. Antimicrobianos na piscicultura: uso e aspectos regulatórios no Brasil. In: MADI, R. R. et al. **Patologia e sanidade em ambientes aquáticos**. Maringá: Massoni, 2014. p. 245-268.

TSAI, M. A. et al. Genetic characteristics of *Streptococcus dysgalactiae* isolated from cage cultured cobia, *Rachycentron canadum* (L.). **Journal of fish diseases**, v. 38, n. 12, p. 1037-1046, 2015.

U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Approved aquaculture drugs**. [online]. Disponível em:

<http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/DevelopmentApprovalProcess/Aquaculture/ucm132954.htm>. Acesso em: 05 de ago. 2018.

URBINATI, E. C.; ZANUZZO, F. S.; BILLER-TAKAHASHI, J. D. Estresse e sistema imune em peixes. In: BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C. **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce**. Jaboticabal: FUNEP; UNESP, 2014. p. 87-105.

VIDAL Jr., M. V. Patologia de peixes ornamentais. 1º Encontro sobre patologia de organismos aquáticos da FIPERJ. Rio de Janeiro, RJ. **Anais do evento**. p. 30-34. 2002.

A graphic element consisting of a light green shield-like shape with a dark green border. Inside the shield, the word "Capítulo" is written in a bold, black, sans-serif font, and the number "2" is written below it in a larger, bold, black, sans-serif font.

Utilidade da branchoneta (*Dendrocephalus brasiliensis*) na piscicultura

Rodrigo Martins Pereira¹
Caroline Teixeira Bonifácio²
Gisele de Freitas Bitencourt³
Leonardo Demier Cardoso⁴
Ronald Assis Fonseca⁵
Pedro Pierro Mendonça⁶

¹ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: rodrigoaquicultura@yahoo.com.br

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: carolteixeira.bonifacio@hotmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: gisalegre@hotmail.com

⁴ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: leonardodemier@hotmail.com

⁵ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: ronald.ufv@hotmail.com

⁶ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: ppierrom@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

O *Dendrocephalus brasiliensis* é um microcrustáceo de água doce, nativo do Brasil. Descoberto e descrito por Pesta em 1921 na província entre os estados da Bahia e Piauí (BELK; BRTEK, 1995). Branchoneta, como é comumente conhecida, apresenta grande potencial para utilização como alimento vivo na piscicultura (SILVA, 2011). Encontradas naturalmente em lagoas temporárias (BRENDONCK et al., 2008), sua invasão em ambientes naturais fica restrita a locais com estas condições, assim, as pisciculturas fornecem um ambiente propício para isso, pois os viveiros e tanques são constantemente esvaziados e secos (PACCAGNELLA, 2012).

A aquicultura tem despertado interesse pela criação de branchonetas para alimentação de peixes em diferentes fases de cultivo, principalmente devido ao seu valor nutritivo e a sua facilidade de produção. *Dendrocephalus brasiliensis* apresentam dimorfismo sexual bem evidente nos indivíduos adultos, reprodução sexuada e tem a capacidade de mudar o sexo na ausência do sexo oposto no ambiente (SILVA et al., 2013). São produzidos em média 37 cistos

de 203 µm de diâmetro médio, por fêmea. A eclosão ocorre aproximadamente 24 horas após os cistos serem reidratados e a taxa de eclosão é de 80% em média, demonstrando assim, grande facilidade em sua produção (VASCONCELOS, 2010).

Segundo Lopes; Pontes; Araújo (2006), os níveis de proteína das branchonetas adultas são em média 67,05%, superando vários outros microcrustáceos de importância na aquicultura como, por exemplo, artêmia (61,6% de proteína). Outra vantagem sobre as artêmias, é o fato de serem dulcícolas, permanecendo vivas por mais tempo nos viveiros, aumentando assim sua atratividade para os peixes (MAI et al., 2008).

Lima (2013) cita alimentação na larvicultura de peixes como um ponto crítico, uma vez que após consumirem a reserva energética (vitelo) que as mantém nutricionalmente supridas nos primeiros dias de vida, muitas espécies, principalmente as carnívoras, não apresentam aceitabilidade ao alimento inerte (ração) ou não o digerem, prejudicando o desenvolvimento e até mesmo a sobrevivência destes animais, tornando fundamental o uso de alimentos naturais e nutritivos.

Sendo assim, torna-se necessário mais estudos que demonstrem a potencialidade de espécies de alimentos vivos na piscicultura. Esta revisão traz informações sobre a utilidade das Branchonetas na piscicultura.

2 GÊNERO *Dendrocephalus*

Na ordem anostraca são descritas 258 espécies, sete subespécies e 21 gêneros, incluso nestes gêneros está a espécie *D. brasiliensis*, a qual foi encontrada no Brasil e descrita por Pesta em 1921 na província entre os estados da Bahia e Piauí (BELK; BRTEK, 1995). Estes mesmos autores em 1997 fizeram uma verificação e incluíram mais oito espécies e seis gêneros (BELK; BRTEK, 1997).

No Brasil até 2011 eram conhecidas cinco espécies pertencentes ao gênero *Dendrocephalus*, são elas: *D. goaisensis*; *D. orientalis*; *D. thieryi*; *D. brasiliensis* e uma nova espécie até então ainda não nomeada (CHAVES et al., 2011).

Em 2016 uma nova espécie (*Dendrocephalus riograndensis*), foi descoberta e catalogada por Rogers e Volcan (2016).

As populações das espécies, por serem de lagoas temporárias, ficam isoladas geograficamente, algumas ocorrem em apenas uma localidade, como exemplo a *D. goaisensis*, que ocorre apenas em Iaciara Goiás (CHAVES et al., 2011).

Distribuição geográfica das outras espécies de acordo com Chaves et al. (2011) e Rogers e Volcan (2016):

- *Dendrocephalus orientalis* é encontrado em lagoas temporárias em João Pessoa e Cabo Branco na Paraíba; Macaúbas, Paulo Afonso e Jequié na Bahia;
- *Dendrocephalus thieryi* e a nova espécie até então não descritas são encontradas em lagoas temporárias em Buritizeiro e Jequitinhonha em Minas Gerais;
- *Dendrocephalus brasiliensi* é encontrado em lagoas temporárias em Mossoró, São Miguel e Caicó em Rio Grande do Norte; João Pessoa na Paraíba; Januária e Itacambira em Minas Gerais; Brejo Santo no Ceará, e Tabatinga em São Paulo; também são encontrados nos estados da Bahia e Piauí, porém, a literatura consultada não informou as cidades;
- *Dendrocephalus riograndensis* é encontrado na região de Campus Sulinos, na cidade de Santa Vitória do Palmar, em Rio Grande do Sul.

A espécie encontrada em Tabatinga, São Paulo, provavelmente pode ter sido introduzida (MAI et al., 2008).

Dendrocephalus brasiliensis e *Dendrocephalus orientalis* encontram-se mais amplamente distribuídas, em diferentes tipos de climas e biomas, elas se adaptam desde climas úmidos até semiárido (Caatinga). No Cerrado, já se encontra *Dendrocephalus goaisensis*, *Dendrocephalus thieryi* e a nova espécie. Porém, para cada espécie isolada, aparenta ter uma distribuição mais restrita, o que indica um nível de endemismo mais considerável para o cerrado quando comparado a outros biomas brasileiros (CHAVES et al., 2011).

O mesmo autor acima sugere que o número de espécies deste gênero é subestimado, com isso, novas espécies podem ser encontradas principalmente no bioma cerrado.

Em 2012 outra nova espécie deste gênero (*Dendrocephalus carajaensis*) foi descrita na Serra dos Carajás no Estado do Pará comprovando a afirmação acima (ROGERS; GOMES; VIEIRA, 2012).

3 BRANCHONETA

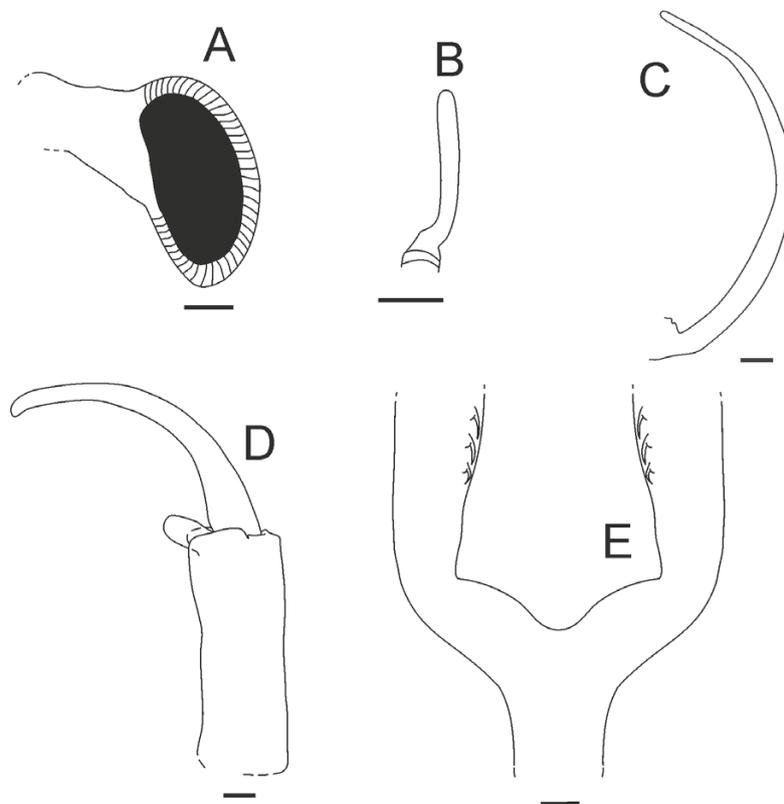
Branchoneta é a designação ou nome vulgar dado ao microcrustáceo de água doce *Dendrocephalus brasiliensis*, sua classificação taxonômica é: Reino animalia; Filo crustacea; Classe Branchiopodade; Subclasse sarsostraca; Ordem anostraca; Família Thamnocephalidae;

Gênero *Dendrocephalus*; Espécie *Dendrocephalus brasiliensis* (LOPES, 2007 apud BOWMAN; ABALE, 1982).

O dimorfismo sexual da branchoneta é bem evidente nos indivíduos adultos, as fêmeas podem ser facilmente identificadas. Elas apresentam uma estrutura cheia de ovos (cistos), na parte inferior do corpo próximo a cauda, esta estrutura pode ser chamada de bolsa ovígera ou ovissaco. Os machos não possuem esta estrutura e apresentam os olhos sem espinhos (RABET; THIÉRY, 1996).

Os machos tem o comprimento total variando de 13,2 a 16,9 mm, com comprimento padrão médio de $15,26 \pm 0,71$ mm. Os olhos são pedunculados e tem formato oval em vista lateral, sem espinhos (FIGURA 1A), estrutura semelhante a uma antena (FIGURA 1B). Primeiras antenas cilíndricas alongadas e suaves (FIGURA 1C). Duas antenas com antennoméricos proximais fundidos com a base fundida na região da cabeça (FIGURA 1D). A antena distal pouco esclerótica, lisa e uniformemente curvada, com terminal agudo. Parte do apêndice frontal dos braços (FIGURA 1E) com poucos espinhos (BARROS-ALVES et al., 2016).

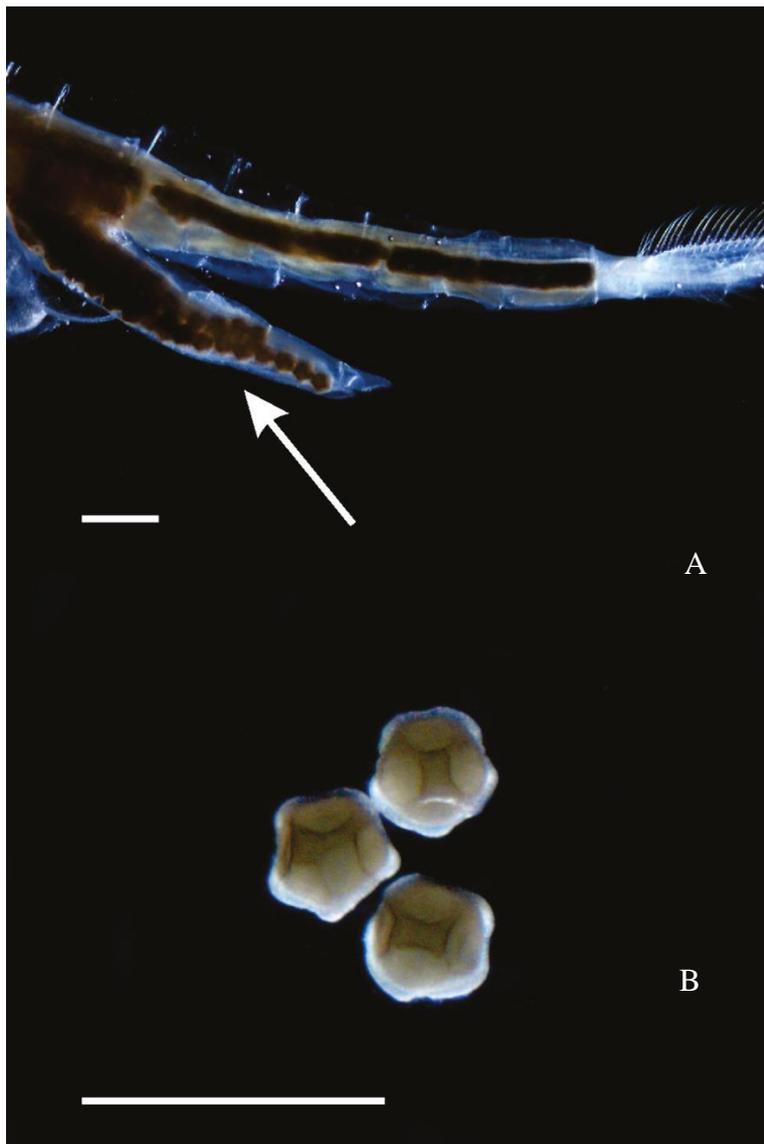
Figura 1 - *Dendrocephalus brasiliensis*, do sexo masculino de Porto Real do Colégio, Alagoas, Brasil. A) Olho pedunculado; B) estrutura semelhante a uma antena; C) primeira antena; D) Segunda antena; E) parte basal dos braços. Barras de escala = 0,2 mm.



Fonte: Barros-Alves et al. (2016).

As fêmeas possuem o comprimento total de 11,9 a 14,5 mm, com comprimento padrão médio de $13,27 \pm 0,72$ mm. Possui antenas curtas, planas e arredondadas na ponta. Apresenta ovissaco alongado (FIGURA 2A) o comprimento da bolsa é de $4,15 \pm 0,32$ mm em média. Os cistos (FIGURA 2B) possuem diâmetro médio de $208,44 \pm 11,3$ μm , seu formato é poliédrico com cumes arredondados e grandes depressões (BARROS-ALVES et al., 2016).

Figura 2 – *Dentrocephalus brasiliensis*. A) Ovissaco; B) Cistos. Barras de escala = 0,2 mm. A seta indica cistos dentro do ovissaco.



Fonte: Lopes (2007b).

A branchoneta faz reprodução sexuada e tem a capacidade de mudar o sexo na ausência do sexo oposto. Ao se isolar grupos só de machos e grupos só de fêmeas, em 72 horas nota-se mudança de sexo nos indivíduos, tanto nos grupos só de machos quanto nos grupos só de fêmeas (SILVA et al., 2013).

Para a produção de cistos é feito a captura dos indivíduos nos tanques de produção com auxílio de uma rede, em seguida elas são acondicionadas em incubadoras verticais, o adensamento promove um estresse que favorece a liberação dos cistos, então, pode-se recolher os cistos no fundo das incubadoras para posterior secagem (LOPES et al., 2007).

A eclosão dos cistos pode ser acelerada utilizando-se ácido ascórbico e íons de Ca^{+2} , pois segundo Pereira e Santos-Neto (2010), existe uma forte influência destes na eficiência do processo de eclosão dos cistos.

A produção de uma nova prole de branchonetas se dá após a secagem e reidratação dos cistos. Cada fêmea produz em média 37 cistos de 203 μm de diâmetro médio que são liberados na água e precipitam. A eclosão e taxa de eclosão, dependem da temperatura, a eclosão ocorre aproximadamente 24 horas após serem reidratados e taxa de eclosão é de 80% em média. Após a eclosão os indivíduos vivem em média 90 dias. Este rápido ciclo, provavelmente se deve ao fato destes indivíduos povoarem lagoas temporárias, sendo esta, uma estratégia evolutiva de sobrevivência (VASCONCELOS, 2010).

Cada grama de cisto produz em média 380.000 náuplios. Considerando que para produção em grande escala, pode-se inocular um grama de cistos para cada 1.000 m^2 , desta forma, obtêm-se uma produção anual de 2.070 gramas de cistos por hectare (LOPES et al., 2007).

A qualidade da água, abundância de alimentos e fatores climáticos como temperatura e luminosidade, são fatores que influenciam diretamente na reprodução da branchoneta (LOPES, 2007).

A maturidade sexual pode ser observada quando ocorre o aparecimento do ovissaco nas fêmeas, isso ocorre de 8 a 22 dias após o período de eclosão e varia de acordo com a temperatura, para estes casos a temperatura variou de 13 a 35 °C. (VASCONCELOS, 2010). Nesta idade pode ser feita a coleta dos indivíduos e a produção em biomassa varia de 5,3 a 6 gramas por metro cúbico de água (LOPES, 2007; SILVA et al., 2013).

Ela pode se alimentar de alimentos naturais (fitoplâncton) (LOPES, 2007; SILVA et al., 2013) e alimento artificial, como água da lavagem de arroz acrescido de fermento biológico (VASCONCELOS, 2010).

Ocorre uma variação no tamanho dos machos quando comparados com as fêmeas. Os machos adultos tem tamanho médio de 1,4 cm e as fêmeas 1,15 cm. A mesma diferença pode ser notada no peso, que é de 0,027 g para machos e 0,014 g para fêmeas (VASCONCELOS, 2010).

Lopes et al. (2008) monitoraram viveiros de criação de branchonetas em dois períodos distintos do ano, chuvoso e seco, apontando que a branchoneta pode ser cultivada com facilidade, se adapta a alimentação artificial e pode vir a substituir a artêmia salina em pisciculturas de pequeno porte. Os parâmetros de qualidade da água aferidos foram: oxigênio dissolvido (7,2 a 8,75 mg/L); pH (8,4 em média); temperatura (26 a 31 °C); alcalinidade (34 a 63 mg/L de CaO₃); dureza total (6,7 a 16 mg/L de Ca); nitrito (0,011 a 0,70 µg/L); ortofosfato (200 a 13,62 µg/L); amônia (1,7 a 41,7 µg/L). Como não houveram problemas relacionados a produção, os autores indicam que estes parâmetros são propícios para a produção.

A produção em massa se demonstra promissora na aquicultura brasileira, isso se deve principalmente a facilidade de produção, baixo custo e elevados teores de proteína (MAI et al., 2008). Porém, o manejo da branchoneta deve ser feito com critério, visto que a invasão destes organismos em ambientes naturais pode causar impactos irreversíveis, pois sua alta capacidade filtradora tende a diminuir a densidade fitoplanctônica, além disso, com alta prolificidade e adaptabilidade podem competir pelo mesmo nicho ecológico de outras espécies nativas (MAI et al., 2008).

A presença de branchonetas nos ambientes interfere na comunidade planctônica, promove alteração na densidade populacional dos microcrustáceos de maior porte, a exemplo, o cladóceros (*Simocephalus serrulatus*). Além disso, inibe o crescimento das populações de cladóceros e copépodes, porém, não as exclui, (PACCAGNELLA, 2012).

Devido a particularidade desta espécie ser de lagoas temporárias (BRENDONCK et al., 2008), sua invasão em ambientes naturais fica restrita a locais com estas condições, assim, as pisciculturas fornecem um ambiente propício para isso, pois os viveiros e tanques são constantemente esvaziados e secos (PACCAGNELLA, 2012).

3.1 UTILIDADE DA BRANCHONETA

Nos últimos anos, a aquicultura tem buscado uma série de fontes de alimentos alternativos, economicamente e nutricionalmente viáveis, despertando o interesse de pesquisadores para o gênero *Dentrocephalus* (COHEN; SERNA-MACÍAS; ESLAVA-ELJAIEK, 2014).

A inclusão de branchoneta à ração como forma de deixá-la mais atrativa para alevinos de espécies carnívoras, como o tucunaré, que necessitam de condicionamento alimentar até que sejam habituados à alimentação exclusivamente por ração, não demonstra ser satisfatória (CARNEIRO et al., 2005).

Porém, bons resultados de desempenho como ganho de peso, comprimento e sobrevivência já foram encontrados com o uso de náuplios de branchoneta *in natura* na alimentação de pós-larvas de camarão *Litopenaeus vannamei*, (YFLAAR et al., 2003) e niquim (*Lophiosilurus alexandri*) (STEINDACHNER, 1876), em detrimento de outros organismos planctônicos (TENORIO et al., 2006).

Mesmo na forma inerte (mortas), as branchonetas quando fornecidas a alevinos de niquim, demonstraram-se atrativas e foram todas consumidas de imediato (LOPES e TENORIO, 2005).

Quando se alimentou alevinos de *Pterophyllum scalare* com branchoneta, os resultados foram significativamente maiores do que o alimentado com ração comercial para peixes ornamentais, inclusive a sobrevivência foi melhor (LOPES; PONTES; ARAÚJO, 2006).

O *Dendrocephalus brasiliensis*, quando utilizado na alimentação de matrinxã, *Brycon cephalus*, pintado da Amazônia, um híbrido entre *Pseudoplatystoma corruscans* e *Leiarius marmoratus*, teve boa aceitação, proporcionando resultados zootécnicos satisfatórios, e pode ser fornecida como único alimento ou misturada a dietas de baixo custo, promovendo o enriquecimento nutricional destas (SILVA, 2011).

A branchoneta como fonte de alimento vivo ou organismos alimento, parece fornecer subsídios nutricionais que melhoram a resistência dos peixes para enfrentar, curtos períodos de estresse (SILVA, 2011).

A branchoneta pode substituir a artêmia na larvicultura de algumas espécies de peixes carnívoros, como por exemplo, o *Pseudoplatystoma coruscans* (Pintado), *P. fasciatum* (Cachara), *Brycon amazonicum* (Matrinxã), *Salminus brasiliensis* (Dourado), dentre outros, uma vez que estes microcrustáceos permanecem vivos por mais tempo em água doce, aumentando assim a atratividade para as pós-larvas (MAI et al., 2008).

3.2 COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA

A quantidade de carboidratos e proteínas da branchoneta, quando comparada com outros organismos comumente utilizados em piscicultura na forma de alimentos vivos, apresenta um bom potencial, aumentando-se as concentrações principalmente nos adultos. Já o perfil lipídico desta espécie se diferencia de acordo com sexo e idade, o que pode promover uma alteração nos ácidos graxos (ROCHA, 2014).

A variação intra e interespecífica no conteúdo de quitina do *D. brasiliensis* apresenta uma média de 15 mg/g. Este polímero é importante para os ciclos biogeoquímicos e algumas aplicações industriais (CAUCHIE et al., 1997).

Os níveis de proteína são em média 67,05 % em indivíduos adultos, estes níveis superam os níveis de proteína de vários outros microcrustáceos de importância na aquicultura como, por exemplo, artêmia (61,6%). (LOPES et al., 1998).

Os níveis de cálcio e fosforo são de 0,54 e 1,71% respectivamente, quando comparado com outros organismos, é inferior para o fosforo, porém superior para o cálcio (LOPES et al., 1998).

4 REFERÊNCIAS

- BARROS-ALVES, S. de P. et al. Morphological review of the freshwater fairy shrimp *Dendrocephalus brasiliensis* Pesta, 1921 (Anostraca: *Thamnocephalidae*). **Nauplius**, v. 24, 2016.
- BELK, D.; BRTEK, J. Checklist of the Anostraca. **Hydrobiologia**, v. 298, n. 1-3, p. 315-353, 1995.
- BELK, D.; BRTEK, J. Supplement to checklist of the Anostraca. **Hydrobiologia**, v. 359, p. 243-245, 1997.
- BRENDONCK, L. et al. Global diversity of large branchiopods (Crustacea: *Branchiopoda*) in freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, n. 1, p. 167-176, 2008.
- CARNEIRO, R. L. et al. Uso do microcrustáceo Branchoneta (*Dendrocephalus brasiliensis*) na ração para tucunará. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 5, n. 1, 2005.
- CAUCHIE, H. et al. Intra-and interspecific variation in the chitin content of some anostracans. **Hydrobiologia**, v. 359, n. 1, p. 223-228, 1997.
- CHAVES, T. P.; LACAU, S.; RABET, N. Illustrated key to the Brazilian *Dendrocephalus* (Crustacea: Anostraca: *Thamnocephalidae*). **Nauplius**, v. 19, n. 1, p. 1-5, 2011.
- COHEN, R. G.; SERNA-MACÍAS, D.; ESLAVA-ELJAIEK, P. Redescription of *Dendrocephalus affinis* (Anostraca: Thamnocephalidae): first record of the species from Colombia and additional morphological observations useful in taxonomy. **Journal of Crustacean Biology**, v. 34, n. 1, p. 82-89, 2014.
- LIMA, A. F. Reprodução, larvicultura e alevinagem de peixes. In: RODRIGUES, A. P. O., et al. **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos**. 1.ed., Brasília-DF: EMBRAPA, 2013. 440 p.

LOPES, J. P. et al. Branchoneta uma notável contribuição a larvicultura e alevinagem de peixes carnívoros de água doce. **Panorama da aquicultura**. V. 8, n. 50, p. 31-34, 1998.

LOPES, J. P. **Dinâmica de reprodução e comportamento reprodutivo de Branchoneta *Dendrocephalus brasiliensis* Pesta, 1921 como incremento na produção de Alimento vivo para peixes ornamentais**. Natal, 2007. 113 f. Tese (Doutorado em Psicobiologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Biociências, Natal, 2007.

LOPES, J. P. et al. Produção de cistos de “Branchoneta” *Dendrocephalus brasiliensis* (Crustacea: Anostraca). **Biotemas**, v. 20, n. 2, p. 33-39, 2007.

LOPES, J. P.; PONTES, C. S.; ARAÚJO, A. A Branchoneta na piscicultura ornamental. **Revista Panorama da aquicultura**, v. 94, p. 33-37, 2006.

LOPES, J. P.; TENÓRIO, R. A. A Branchoneta (*Dendrocephalus brasiliensis*, Pesta 1921) como fonte de alimento para alevinos de niquim (*Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1876). **Revista Nordestina de Zoologia**, v. 2, n. 1, p. 34-46, 2005.

MAI, M. G. et al. First record of the invasion of *Dendrocephalus brasiliensis* Pesta, 1921 (Crustacea: Anostraca: *Thamnocephalidae*) in São Paulo State, Brazil. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 3, n. 3, p. 269-274, 2008.

PACCAGNELLA, Y. C. **Estudo da dinâmica populacional e interações biológicas de *Dendrocephalus brasiliensis* (Pesta, 1921) em ambientes experimentais**. 2012. 131 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2012.

PEREIRA, D. C.; DOS SANTOS-NETO, M. A. Influência do ácido ascórbico e dos íons Ca^{+2} na eclosão de cistos do Anostraca Branchoneta (*Dendrocephalus brasiliensis*, Pesta, 1921). **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 5, n. 3, p. 28-41, 2010.

RABET, N.; THIÉRY, A. The neotropical genus *Dendrocephalus* (Crustacea: Anostraca: *Thamnocephalidae*) in Brazil (South America), with a description of two new species. **Journal of Natural History**, v. 30, n. 4, p. 479-503, 1996.

ROCHA, G. S. **Composição bioquímica de organismos planctônicos visando à aplicação em aquicultura**. 2014. 111 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, São Carlos, 2014.

ROGERS, D. C.; GOMES, J. P. C.; VIEIRA, F. A new species of *Dendrocephalus* (Crustacea, Anostraca) from Serra dos Carajás (Pará State, Brasil). **Zootaxa**, v. 3363, n. 1, p. 52-58, 2012.

ROGERS, D. C.; VOLCAN, M. V. A new *Dendrocephalus* (Crustacea, Anostraca, *Thamnocephalidae*) from Rio Grande do Sul State, Brazil. **Nauplius**, v. 24, 2016.

SILVA, F. N. L. et al. Qualidade da água proveniente de poço artesiano em viveiro de piscicultura. **PUBVET**, v. 11, p. In Press, 2017.

SILVA, R. A. C. et al. **Seletividade alimentar e produção secundária de alevinos de peixes neotropicais alimentados com *Dendrocephalus brasiliensis* (Pesta, 1921) e outras espécies zooplanctônicas.** 2011. 123 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

SILVA, S. M. B. C. et al. Sexual reproduction in freshwater fairy shrimp, *Dendrocephalus brasiliensis* (Pesta, 1921) inferred by Amplified Fragment Length Polymorphism markers. **Ciência Rural**, v. 43, n. 6, p. 1076-1081, 2013.

VASCONCELLOS, M. G. Características populacionais, desenvolvimento e produção de *Dendrocephalus brasiliensis* Pesta, 1921 sob as condições climáticas da região sudeste do país. **Revista Brasileira de Zootecias**, v. 12, n. 2, 2010.

YFLAAR, B. Z. et al. The use of “Branchoneta” *Dendrocephalus brasiliensis* (Pesta, 1921) nauplii in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) larval feeding. **World Aquaculture**, p. 845, 2003.



Capítulo
3

Cobre na alimentação animal

Thaís de Souza Nunes¹
Katiussi de Negreiros Silva²
José Geraldo Vargas Júnior³

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: nunes.thaiszoo@gmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: katiussi_zoo@hotmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: josegeraldovargas@yahoo.com.br

1 INTRODUÇÃO

O tecido animal além de ser constituído por biomoléculas orgânicas, possuem elementos que se encontram na proporção de 2 a 5% do peso total dos animais. Entre esses elementos, estão os minerais que apresentam papéis essenciais tanto na estrutura de tecidos e biomoléculas, como no próprio metabolismo animal, participando como cofatores enzimáticos, ativação de ação hormonal, como responsáveis pela pressão osmótica e pelo equilíbrio ácido-básico (McDOWELL, 1992). Como esses nutrientes possuem grande influência na produção animal, a produtividade está correlacionada com sua ausência e/ou presença. (SAKOMURA et al., 2014).

O cobre (Cu) é considerado micronutriente fundamental no metabolismo animal. A partir de 1928 foi verificada sua relevância após alguns relatos de possíveis patologias associadas às suas deficiências (McDOWELL, 1992), compreendendo anemia, diminuição de pigmentação das penas, cabelos, lã e da atividade de uma série de enzimas (HILL et al., 1961), espessura de cartilagem e fragilidade óssea (CARLTON; HENDERSON, 1962). Quando administrado em níveis superiores dos recomendados nutricionalmente, o cobre apresenta características de melhoria no desempenho. O mais relatado para esse fim, inclui o sulfato de cobre pentahidratado (IAFIGLIOLA et al., 2000). Inúmeros trabalhos têm verificado o efeito

promotor de crescimento quando usado em dosagens de 125 a 250 ppm nas rações de suínos, em níveis elevados, maiores quantidades deste microelemento nas fezes são aferidas, maior absorção e conseqüente deposição no fígado (BARBER; BRAUDE; MITCHELL, 1955; BUNCH et al., 1961; HAWBAKER, 1961).

A associação desse nutriente com o ferro é de suma importância na constituição da hemoglobina e de múltiplas metaloenzimas (McDOWELL, 1992). Ao mesmo tempo que, o cobre estimula a produção de eritrócitos nos animais e participa mais especificamente na composição de hemoglobulina, o ferro age de maneira direta na formação da hemoglobina (GATTÁS; BARBOSA, 2004). O Cu possui papel fundamental em muitos sistemas enzimáticos, como a ceruloplasmina produzida no fígado e carrega cerca de 70% a 90% do cobre plasmático, atuando também no metabolismo de ferro. A citocromo oxidase, metaloenzima que é importante na transferência de elétrons para o oxigênio (LEHNINGER, 1995) e na formação normal dos ossos e cartilagens, já que é ativador da enzima que participa na biossíntese de colágeno (LEESON; SUMMERS, 2001). A falta ou excesso desse mineral pode acarretar redução no desempenho. O excesso de cobre presente nas fezes de animais alimentados com altos níveis dietéticos deste mineral vem levantado uma questão no meio científico referente à poluição ambiental. Fontes mais solúveis têm sido desenvolvidos para que possa promover melhoria no desempenho dos animais e conseqüentemente a redução do Cu no meio ambiente.

Como esse mineral não está tão presente no corpo dos animais comparados aos demais, a suplementação se torna necessário principalmente para os animais não ruminantes, visto que através do melhoramento animal esses animais têm se tornado mais exigente, devido a maior velocidade de crescimento e conseqüentemente altos índices de produção (SAKOMURA et al., 2014). Dessa forma, é indispensável a utilização de uma fonte de cobre na alimentação animal que possua disponibilidade apropriada para promover ótimo desempenho dos animais, sem elevar custo e evitar o mínimo de contaminação possível.

2 FUNÇÕES FISIOLÓGICAS DO COBRE

É componente de enzimas, um micronutriente necessário para os sistemas neurológicos e hematológicos, ajuda na incorporação do ferro na hemoglobina, e é fundamental para o crescimento e formação de ossos e bainhas de mielina do sistema nervoso (SAKOMURA et al., 2014).

O teor de cobre encontrado nos animais é baixo, em torno de 1,5 mg/Kg do peso corporal, porém desempenha funções essenciais no organismo (KOH; PENG; KLASING, 1996; LARBIER; LECLERCQ, 1994; McDOWELL, 1992; McNAUGHTON; DAY, 1979; PONTES; LLOBET, 1995; RICHARDS, 1989). Sua imprescindibilidade está relacionada para crescimento, reprodução, desenvolvimento ósseo e de tecidos conectivos, pigmentação dos cabelos, lã, pelos e plumas, formação do sangue e de uma série de enzimas (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999).

O cobre tem atuação importante no metabolismo do ferro, contribuindo para sua absorção e reabsorção à nível de mucosa intestinal. Auxilia no transporte do ferro para os tecidos via ceruloplasmina, uma globulina que contém cobre que é necessário para oxidação do ferro à forma férrica e conseqüentemente, permitindo que este se liga à transferina e assim ser transportado e armazenado na forma de ferritina (McDOWELL, 1992). Participa da síntese de hemoglobina, mesmo não fazendo parte dela, possui ação direta, já que estimula a eritropoiese na formação do grupo da heme (McNAUGHTON; DAY, 1979). Além disso, seu metabolismo influencia o desenvolvimento das células-T que são relevantes para expansão do sistema imune dos animais (McDOWELL, 1992). Animais com sistema imune ativado, apresentam concentrações de cobre e ceruloplasmina em maior quantidade quando comparados com animais sadios (KOH; PENG; KLASING, 1996; TURK, 1986).

A citocromo oxidase, uma metaloenzima que contém dois íons de cobre, é determinante na transferência de elétrons para o oxigênio (redução de O₂ à água), etapa relevante na respiração celular (LEHNINGER, 1995). A enzima lisil oxidase contém cobre e está envolvida na formação e maturação normal das ligações cruzadas do colágeno e da elastina nos ossos e aortas de frangos (OPSAHL et al., 1982; RUCKER et al., 1975; STARCHER; HILL; MATRONE, 1964). Sua atribuição é adicionar um grupo hidroxil aos resíduos de lisina no colágeno, possibilitando as ligações cruzadas entre as fibras responsáveis pela rigidez e elasticidade a proteína estrutural (McDOWELL, 1992).

A implicação do cobre acerca do metabolismo de lipídeo e a concentração de colesterol no organismo tem sido bastante estudado. Bakalli et al. (1995) constatou que a falta de cobre causou hipercolesterolemia e que a suplementação de 250 mg de Cu kg⁻¹ na ração de frangos de corte, como sulfato cúprico, proporcionou a diminuição do colesterol total do plasma (~26%), o aumento do HDL colesterol (~11%), a redução dos triglicerídeos no plasma (~43%), a redução da glutatona no sangue (~40%) e a redução do colesterol do músculo do peito (~27%). Com a utilização de citrato cúprico em níveis mais baixos de Cu, quando relacionados com o sulfato cúprico, Pesti; Bakalli (1996) alcançaram reduções maiores do colesterol

plasmático e do músculo do peito. Konjufca, Pesti e Bakalli (1997) citaram reduções do colesterol dos músculos do peito e da coxa em 24% e 22%, respectivamente, quando as rações continham níveis altos de cobre.

Pontes e Llobet (1995) mencionaram ainda que o cobre faz parte do butiril- CoA, ascórbico oxidase, tirosinase, fenol oxidase, uricase.

3 METABOLISMO DO COBRE

A absorção de cobre em animais recém-nascidos de todas as espécies se procede via pinocitose, onde o cobre é absorvido junto a um complexo proteico já o mecanismo preciso da absorção de cobre em animais adultos não está claramente compreendido (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999). É absorvido na forma bivalente e armazenado no fígado, de acordo com status orgânico, podendo ter três destinos distintos. Conforme as fontes desse mineral e a presença de antagonistas, a absorção será menor ou maior. Quando complexados a aminoácidos ou proteínas, sua disponibilidade é relativamente média. Na adição de ácido ascórbico na dieta por exemplo, a absorção será diminuída, já que promoverá a redução de Cu^{2+} para Cu^{+} (FERREIRA; ANTONELLI; ORTOLANI, 2008).

O nível de absorção de cobre é maior em casos de deficiência do que em condições de status adequado (AOYAGI; BAKER, 1993). Essa absorção de acordo com alguns autores já se inicia no estômago sendo o duodeno o principal sitio de absorção (PONTES; LLOBET, 1995). Alguns fatores influenciam essa absorção como a retenção e a distribuição do mesmo no organismo animal, a idade do animal, presença de fitatos e níveis elevados de Ca, Fe, Zn, Cd, Ag, Pb e Mo (JENSEN; PETERSON; FLEN, 1974; UNDERWOOD, 1977).

O fígado é considerado o centro de metabolismo do cobre (LARBIER; LECLERCQ, 1994). De acordo com o status nutricional do organismo, dos fatores dietéticos, doença, do consumo e da fonte a concentração de cobre é alterada (McDOWELL, 1992). Quando em níveis adequados, o cobre é liberado para ser incorporado na ceruloplasmina (cobre mono amino oxidase, (Cu-MAO), nos aminoácidos do soro (VAN CAMPEN; MITCHELL, 1965), na albumina, e nas inúmeras enzimas que contém cobre (UNDERWOOD, 1977). A ceruloplasmina sintetizada no fígado e secretada na corrente sanguínea retém para cada molécula seis átomos de cobre, cerca de 90% do cobre total está ligado a esta globulina (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999). A albumina que também é carreadora do cobre no soro é responsável por transportar os 10% restante (KOH; PENG; KLASING, 1996).

O órgão responsável pelo armazenamento do cobre é o fígado, que é destinado para excreção de bile, trocas com o sangue e incorporação na ceruloplasmina. Logo após a passagem pela mucosa intestinal o cobre se liga à albumina que será transportado via porta hepática ao seu destino (BRADBERRY, 2007). De acordo com o status orgânico do cobre o mesmo poderá ter destinos diferentes.

O cobre está presente no sítio ativo de algumas enzimas que catalisam reações orgânicas oxidativas. A sua disponibilidade nos alimentos é baixa, cerca de 4% e está intimamente ligado à forma química (ORTOLANI, 2002). O transporte de cobre do fígado para os órgãos periférico é realizado pela ceruloplasmina que atua como transportadora para tecidos específicos, armazenadora e tem como função manter a homeostase desse mineral (GONZÁLEZ; SILVA, 2003).

Quando no tecido hepático, o cobre se liga a metaloproteína, sendo transportada para todo organismo do animal (FERREIRA; ANTONELLI; ORTOLANI, 2008). A ceruloplasmina (cobre mono amino oxidase, Cu-MAO) é uma fração alfa-2 globulina do sangue, em que cerca de 95% do cobre sérico encontra-se ligado (McDOWELL, 1992). Em elevadas quantidades ele se acumula no interior dos hepatócitos, nas diferentes organelas. No acúmulo exagerado de cobre, ocorre um aumento do número de lisossomos nos hepatócitos (FERREIRA; ANTONELLI; ORTOLANI, 2008). A principal via de eliminação ou excreção do cobre é via sistema biliar e conseqüentemente ser eliminação pelas fezes. Porém, para ocorrer esta eliminação, o cobre armazenado no fígado, precisa estar complexado com a metalotioneína hepática para ser excretado (FERREIRA; ANTONELLI; ORTOLANI, 2008).

4 FONTES DE COBRE

A dietética é a principal fonte deste mineral. É indispensável que o fornecimento seja em níveis adequados, ou seja, que não exceda e que não falte a quantidade requerida pelos animais, pois implicará no desenvolvimento de doenças, diminuição da capacidade produtiva e reprodutiva, podendo levar os animais à morte.

Encontrado em quantidades distintas na maioria dos alimentos, o cobre é considerado contaminante natural da água. Diante disso, a incorporação do cobre advém principalmente por via oral. De acordo com a espécie, manejo, clima a disponibilidade no solo, sua concentração varia (McDOWELL, 1992).

Inúmeras são as fontes inorgânicas de cobre utilizada pela indústria. Dentre elas as principais são o óxido de cobre (CuO), sulfato de cobre (CuSO₄H₂O), carbonato de cobre

($\text{CuCO}_3\text{Cu}(\text{OH})_2$) e o sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$) (GATTÁS; BARBOSA, 2004). Outras fontes mais solúveis têm sido sugeridas, como a associação de minerais a compostos orgânicos, aumentando a disponibilidade para o organismo animal como o Cu-lisina (APGAR et al., 1995; ZHOU; KORNEGAY; LINDEMANN, 1994), citrato cúprico e histidina de lisina (ZHOU et al., 2009), que auxiliam no desempenho dos animais e conseqüentemente reduza a deposição de cobre no meio ambiente já que este será melhor absorvido.

5 INTOXICAÇÃO DE COBRE

De acordo com a espécie animal e idade, o efeito tóxico do cobre pode ser mais acentuado ou não. O nível de tolerância para bovinos é cerca de (100 ppm), já para os ovinos é em torno de (25 ppm) a explicação para os ovinos apresentarem maior sensibilidade a intoxicação é sugerida por Mehra e Bremner (1984), segundo os autores os ovinos apresentam baixa capacidade de concentração do cobre na thionein, proteína responsável pelo armazenamento do cobre no fígado.

A suspeita de intoxicação é relatada quando determinada doença acomete considerado número de animais anteriormente sadios, apresentando os mesmos sinais clínicos, no mesmo intervalo de tempo e com a mesma intensidade (RADOSTIS; GAY; BLOOD, 2002). Conforme a forma que o cobre é administrado, ou seja, via oral ou por via parenteral em elevadas concentrações a intoxicação é instalada no organismo. (FERREIRA; ANTONELLI; ORTOLANI, 2008). Essa intoxicação via ingestão oral pode ocorrer após o fornecimento de uma ou mais doses num período relativamente curto. O cobre pode passar para o abomaso e os intestinos em sua forma ionizável que quando combinado com as estruturas da mucosa, pode levar a casos de erosões e úlceras, podendo acarretar em hemorragias, uma severa gastroenterite e conseqüentemente um quadro tóxico grave. (BRADLEY, 1993). Já a intoxicação por via parenteral é oriunda de falhas no uso de medicamentos contendo cobre. O uso indiscriminado desses medicamentos (EDTA, sulfato, glicinato, dietilamnina, metionato) para prevenção ou tratamento de carências desse mineral pode culminar numa intoxicação grave, já que quanto mais rápido for essa liberação no organismo mais rápida é a resposta e conseqüentemente os animais tendem a morrer no outro dia. (FERREIRA; ANTONELLI; ORTOLANI, 2008). De acordo com Bradley (1993), as mortes são oriundas primeiramente de insuficiência hepática e posteriormente da insuficiência renal decorrente de necrose tubular. Outra forma de intoxicação é a acumulativa, e essa ocorre de forma silenciosa. Pode ser caracterizada por três fases diferentes: pré-hemolítica, hemolítica e pós hemolítica. A deposição acontece de forma

gradativa no fígado e nos primeiros dias não são notados os sintomas característicos da intoxicação, que são (náuseas, apatia, vômito, diarreia hemorrágica, choque e morte), e nas lesões histopatológicas (gastroenterite grave, congestão e necrose hepática, renal e esplênica) (MACHADO, 1998; ORTOLANI; MACHADO; SUCUPIRA, 2003). Conforme o cobre vai sendo depositado no fígado mais os animais estarão propensos a desenvolverem insuficiências renais. A contar do instante que o cobre satura a capacidade de armazenamento do fígado este pode se tornar livre dentro dos hepatócitos e conseqüentemente provocar lesões nas organelas, seguido a degeneração e, por fim, necrose (OSWEILER, 1998).

6 DEFICIÊNCIA DE COBRE

Causada por fonte inadequada ou por menor disponibilidade de cobre na dieta, a deficiência desse mineral é denominada de hipocupose. Os principais sinais são a anemia microcítica e hipocrômica, diarreia, perda na pigmentação da pele, redução do volume corpuscular, redução no crescimento e falha na queratinização dos pelos e lã, falhas reprodutivas (ROSA; MATTIOLI, 2002). A presença elevada de antagonistas do cobre na dieta como o molibdênio e enxofre pode acarretar na deficiência (NEDERBRAGT; VAN DEN INGH; WENSVOORT, 1984).

Como mencionado anteriormente, o cobre faz parte de inúmeras reações no organismo, componente de diversas enzimas e tecidos. Com isso, sua deficiência acarretara em diversas síndromes e prejuízos ao animal, como a redução da capacidade imunológica e menor resistência às doenças (NUNES, 1998). A principal manifestação da deficiência de cobre na maioria das espécies é falta de pigmentação, e ocorre devido à falta na conversão da tirosina para melanina (McDOWELL, 1992).

Tem sido observado em suínos e aves alimentados com dietas contendo menos de 1 ppm de cobre anormalidades ósseas (RUCKER et al., 1975). Opsahl et al. (1982) determinaram que para o desenvolvimento normal de ossos e articulações eram requeridas na dieta cerca de 2 ppm de cobre. McDowell (1992) observou que na deficiência severa de cobre em poedeiras ocorreu redução da produção e da eclodibilidade dos ovos, os embriões apresentaram também atraso no crescimento. A incidência de hemorragia depois de três dias de incubação também foi detectada.

7 INTERAÇÃO DO COBRE COM OUTROS NUTRIENTES

Há evidências do antagonismo de cobre com os minerais ferro, zinco, prata, cálcio, enxofre, cádmio, chumbo e molibdênio. Concentrações excessivas de um desses elementos poderão resultar na deficiência dos demais. Diversas razões são capazes de interferir na absorção do cobre. No caso de excesso de enxofre ou carência de molibdênio, o enxofre reduzido reage com o cobre tornando-o insolúvel, sendo excretado pela urina (NEDERBRAGT; VAN DEN INGH; WENSVOORT, 1984; SUTTLE, 2010). O ferro é o exemplo mais importante para animais em pastagem, já que grandes quantidades de ferro são ingeridas através dos solos e provavelmente uma fração se ligue ao sulfato. A inibição do metabolismo do Cu por suplementos de ferro em ovelhas tem sido atribuída particularmente à captura do sulfato como FeS no rúmen, seguida pela liberação do sulfato no meio ácido do abomaso para formar CuS (SUTTLE, 2010). De acordo ainda com o mesmo autor, a absorção também é influenciada pela competição de vários íons, incluindo o zinco, o ferro, o chumbo e o cádmio, inibidores mais potentes da absorção, possivelmente pela competição com o cobre para o transporte e/ou pelo aumento das concentrações intestinais de metalotioneínas. O ácido ascórbico é conhecido como antagonista de cobre na maioria dos animais, provavelmente devido à sua capacidade para reduzir o cobre da forma monovalente à bivalente. Ocorre diminuição na ligação de metalotioneína de cobre no intestino e no fígado após a adição de ácido ascórbico, o que sugere que danifica o estado do cobre por meio da redução da absorção ou aumento da mobilização.

8 REFERÊNCIAS

APGAR, S. et al. Evaluation of copper sulfate or a copper lysine complex as growth promoters for weanling swine. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2640-2646, 1995.

AOYAGI, S.; BAKER, D.H., Bioavailability of copper in analytical – grade and feed grade inorganic copper sources when fed to provide copper at levels below the chick's requirement. **Poultry Science**, v. 72, p. 1075-1083, 1993.

BAKALLI, R. I. et al. Dietary copper in excess of nutritional requirement reduces plasma and breast muscle cholesterol of chickens. **Poultry Science**, v. 74, p. 360-365, 1995.

BARBER, R. S.; BRAUDE, R.; MITCHELL, K. G. Antibiotics and copper supplements for fattening pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 9, p. 378-386, 1955.

BRADBERRY, S. Copper. **Medicine**, v. 35, n. 11, p. 608, 2007.

BRADLEY, C. H. Copper poisoning in a dairy herd fed a mineral supplement. *The Canadian Veterinary Journal*, Ottawa. v. 34, p. 287-292, 1993.

BUNCH, R. J. et al. Effects of copper sulfate, copper oxide and chlortetracycline on baby pig performance. *Journal of Animal Science*, v. 20, p. 723-727, 1961.

CARLTON, W.W.; HENDERSON, W. Histopathological lesions observed in the long bones of chickens fed a copper-deficient diet. *Poultry Science*, v. 41, p. 16-34, 1962.

FERREIRA, M. B.; ANTONELLI, A. C.; ORTOLANI, E. L. Intoxicação por cobre, selênio, zinco e cloreto de sódio. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; NET, J. P. **Toxicologia aplicada à medicina veterinária**. 1. ed. Barueri: Editora Manole, 2008. p. 547-558.

GATTÁS, G.; BARBOSA, F. F. Cobre na nutrição de aves e suínos. *Revista eletrônica Nutritime*, v. 1, n. 3, p. 117-133, 2004.

GONZÁLEZ, F. H.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica veterinária**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003, 198p.

HAWBAKER, J. A. Effect of copper sulfate and other chemotherapeutics in growing swine rations. *Journal of Animal Science*, v. 20, p. 163-165, 1961.

HILL, C. H. et al. Studies on copper and iron deficiencies in growing chickens. *Journal of nutrition*, v. 73, p. 425-431, 1961.

IAFIGLIOLA, M. C. et al. Cobre e antibiótico como promotores de crescimento em rações para frangos de corte. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v. 2, n. 3, p. 201-208, 2000.

JENSEN, L. S.; PETERSON, R. P.; FLEN, L. Inducement of enlarged hearts and muscular dystrophy in turkey poult with dietary silver. *Poultry Science*, v. 53, n. 1, p. 57-64, 1974.

KOH, T. S.; PENG, R. K.; KLASING, K. C. Dietary copper level affects copper metabolism during lipopolysaccharide-induced immunological stress in chicks. *Poultry Science*, v. 75, p. 867-872, 1996.

KONJUFCA, V. H.; PESTI, G. M.; BAKALLI, R. I. Modulation of cholesterol levels in broiler meat by dietary garlic and copper. *Poult. Science*, v. 76, p. 1264-1271, 1997.

LARBIER, M.; LECLERCQ. **Nutrition and feeding of poultry**. Nottingham: University Press, 1994.

LEESON, S. A.; SUMMERS, J. D. **Nutrition of the chickens**. 4. ed. Guelph: University Books, 2001. 591 p.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Savier, 1995. 553 p.

MACHADO, C. H. **Uso de tetratiomolibdato no tratamento de intoxicação cúprica experimental, em ovinos: avaliações clínica e toxicológica**. 1998, 138.f.

(Doutorado em Clínica Veterinária) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo, 1998.

McDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. San Diego: Academic Press, 1992. 524 p.

McNAUGHTON, J. L.; DAY, E. Effect of dietary Fe to Cu ratios on hematological and growth responses of broiler chickens. **Journal of Nutrition**, v. 109, n. 4, p. 559-564, 1979.

MEHRA, R. K; BREMNER, I. Species differences in the occurrence of copper-metallothionein in particulate fractions of the liver of copper-loaded animals. **The Biochemical journal**, v. 219, n. 2, p. 539-46, 1984

NEDERBRAGT, H.; VAN DEN INGH, T. S.; WENSVOORT, P. Pathobiology of copper toxicity. **Veterinary Quarterly**, v. 6, n. 4, p.179- 235, 1984.

NUNES, I. J. **Nutrição Animal Básica**. Belo Horizonte: FEP-MVZ, 1998. 388p.

OPSAHL, W. et al. Role of copper in collagen cross- linking and its influence on selected mechanical properties of chick bone and tendon. **Journal of nutrition**, v. 112, p. 708-716, 1982.

ORTOLANI, E. L.; MACHADO, C. H.; SUCUPIRA, M. C. Assessment of some clinical and laboratory variables for early diagnosis of cumulative copper poisoning in sheep. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 45, n. 6, p. 289-293, 2003.

ORTOLANI, E. L. Macro e microelementos. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**, 2002. p. 641-651.

OSWEILER, G. D. **Toxicologia veterinária**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1998.

PESTI, G. M.; BAKALLI, R. I. Studies on the feeding of cupric sulfate pentahydrate and cupric citrate to broiler chickens. **Poultry Science**, v. 75, p. 1086-1091, 1996.

PONTES, P. M.; LLOBET, J. A. C. **Alimentación de las aves**. 1. Ed. Real Escuela de Avicultura: Barcelona, 1995.

RADOSTIS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C. Doenças Causadas por Substâncias Químicas Inorgânicas e Produtos Químicos. In: _____ **Clínica Veterinária - Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.1417-1471.

RICHARDS, M. P. Recent developments in trace element metabolism and function: role of metallothionein in copper and zinc metabolism. **Journal of Nutrition**, v. 119, p. 1062-1070, 1989.

ROSA, D. E.; MATTIOLI, G. A. Metabolismo y deficiencia de Cu en bovinos. **Analecta veterinária**, v. 22, p. 7-16, 2002.

RUCKER, R. B. et al. Effects of nutritional copper deficiency on the biomechanical properties of bone and arterial elastin metabolism in the chicks. **Journal of nutrition**, v. 105 p. 1062-1070, 1975.

SAKOMURA, N. K. et al. **Nutrição de Não Ruminantes**. 1. ed. Jaboticabal: Funep, 2014. 678 p.

STARCHER, B.; HILL, C. H.; MATRONE, G. Importance of dietary copper in the formation of aortic elastin. **Journal of nutrition**, v. 82, p. 318-322, 1964.

SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 4. ed. London: CABI International, 2010. 579p.

TURK, D. E. Microelements in the circulation of coccidiosis- infect chicks. **Poultry Science**, v. 65, p. 2098- 2103, 1986.

UNDERWOOD, E. J; SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 3. ed. England: Farnhan Royal, 1999.

UNDERWOOD, E. J. **Trace elements in human an animal nutrition**. 4 ed., New York: Academic Press, 1977, 545 p.

VAN CAMPEN, D. R.; MITCHELL, E. A. Absorption of Cu, Zn, Mo and Fe from ligated segments of the rat gastrointestinal tract. **Journal of nutrition**, v. 86, n. 2, p. 120-124, 1965.

ZHOU, W.; KORNEGAY, E. T.; LINDEMANN, M. D. The role of feed intake and copper source on copper-stimulated growth in weanling pigs. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2395-2394, 1994.

ZHOU, X. et al. Effect of different dietary selenium source (selenium nanoparticle and selenomethionine) on growth performance, muscle composition and glutathione peroxidase enzyme activity of crucian carp (*Carassiu auratus gibelio*). **Aquaculture**, v. 291, p. 78-81, 2009.

A graphic element consisting of a light green shield-like shape with a dark green border. Inside the shape, the word "Capítulo" is written in a bold, black, sans-serif font, and the number "4" is written below it in a larger, bold, black, sans-serif font.

Miopatias em frango de corte

Katiussi de Negreiros Silva¹
Thaís de Souza Nunes²
José Geraldo de Vargas Júnior³

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: katiussi_zoo@hotmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: nunes.thaiszoo@gmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: josegeraldovargas@yahoo.com

1 INTRODUÇÃO

Dentre as proteínas de origem animal existentes, a carne de frango se torna a mais consumida no mercado alimentício do mundo. Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal – ABPA (2018), o Brasil no ano de 2017 consolidou-se como o segundo maior produtor de frangos de corte do mundo (13,1 mil toneladas), ficando atrás apenas dos Estados Unidos com a maior produção mundial (18,6 mil toneladas); obtendo um aumento de 1,7% na produção nacional em relação ao ano de 2016. Já em termos de consumo, o Brasil é o quarto maior consumidor (9,3 mil toneladas), totalizando um consumo per capita de 44,8 kg de carne; o que se mostra um número irrisório quando comparamos com os demais países consumidores – EUA (15,6 mil toneladas), China (11,4 mil toneladas) e União Europeia (11,2 mil toneladas) (ABPA, 2018).

Estes números reforçam a importância da avicultura brasileira no segmento alimentício e na economia nacional. Segundo Vieira (2012) a atividade avícola evoluiu muito em um curto espaço de tempo quando comparado com outras atividades agropecuárias, ela deixou de ser uma atividade de subsistência para se tornar um empreendimento industrial. Klein (2018) afirma que a carne de frango será a mais consumida do mundo até 2020. Por estes motivos, a incessante busca por se manter invicto e competitivo no mercado é cada vez maior; alternativas

que visem promover produtos de qualidade, com maior valor agregado, com menor custo é veemente no setor avícola.

Isto deve-se às mudanças de hábitos do mercado consumidor, que busca produtos com padrão de qualidade elevados, diversidade – seja na carcaça inteira e/ou em cortes, e/ou produtos processados, com praticidade e melhor relação custo benefício (CASTILLO, 2001). Por apresentar esta crescente demanda, os níveis de produção tiveram que ser aprimorados, forçando as empresas e produtores de aves a produzirem animais com maior taxa de deposição tecidual (massa cárnea) e eficiência alimentar em um menor período de tempo. Assim, por meio do intenso melhoramento genético, houve possibilidade da criação de marcas comerciais especializadas em produção de carne, resultando em carcaças mais pesadas, com baixa deposição de gordura e excelente rendimento muscular, principalmente em cortes nobres, como peito e coxas (NOGUEIRA, 2005). Portanto, na tentativa de uma eficiência acelerada há consequências na fisiologia das aves que podem posteriormente alterar as características físicas e organolépticas da carne.

Resolver possíveis problemas relacionados à qualidade da carne é uma incumbência do setor avícola, e esta qualidade está intimamente associada às lesões musculares, encontradas nos cortes nobres (peitoral maior e menor, e coxas), denominadas de miopatias, que afetam a aparência do produto e conseqüentemente, problemas na conservação do mesmo, como uma baixa capacidade da carne em reter água, flacidez e exsudação (ALNAHHAS et al., 2016). Carcaças e/ou cortes que apresentam algum tipo de miopatia são diretamente condenadas na hora da inspeção sanitária nos frigoríficos, e as mesmas ainda não possuem uma etiologia definida; e de acordo com a literatura, não há relatos de danos à saúde pública. Porém, carcaças e subprodutos que apresentem alguma alteração não são aceitos no momento da inspeção, e haverá também rejeição por parte do consumidor, gerando um saldo econômico negativo em toda cadeia avícola.

Por este motivo, esta revisão tem como objetivo elucidar as alterações musculares (miopatias) que acometem frangos de corte, e suas possíveis etiologias e prevenções.

2 MIOPATIAS: CARACTERÍSTICAS ANATOMOPATOLÓGICAS

Oferecer uma carne de qualidade é a missão da avicultura de corte. Desta forma, mediante aos processos acelerados da industrialização, as aves utilizadas neste segmento vêm sofrendo algumas mudanças na fisiologia corporal. Isso deve-se aos processos de seleção genética, nutrição e manejo (ambiência e sanidade), que permitiram que as aves que são

abatidas atualmente tenham excelentes indicadores zootécnicos como, alto rendimento de carcaça, eficiência alimentar e baixa deposição de gordura.

Devido a esta alta pressão de seleção é possível observar importantes mudanças nas carcaças de frangos de corte, principalmente no músculo do peito. Estas alterações nas fibras musculares e nas estruturas vasculares das aves, aumentou a incidência de lesões, denominadas miopatias (SANTIAGO, 2015). Miopatia é qualquer alteração das fibras musculares. Dickinson, Stevens e Helfer (1968) e Harper, Helfer e Dickison (1971), foram os primeiros a relatarem a ocorrência de miopatias peitoral profunda em perus, e anos depois, Richardson et al. (1980) em frangos de corte.

Os motivos para ocorrência de miopatias ainda não são bem definidos, mas parte-se da premissa de que animais de crescimento rápido possuem mais fibras musculares em comparação a animais de crescimento tardio, conseqüentemente há maior desenvolvimento do diâmetro destas fibras com o passar da idade e da expressão gênica para deposição de carne (DRANSKFIELD; SOSNICKI, 1999). Portanto, à medida que há aumento do diâmetro destas fibras, há diminuição e compressão dos capilares, limitando o aporte sanguíneo e de oxigênio, levando ao quadro de isquemia (JOINER, 2014).

Joiner (2014) aponta que para evolução deste quadro, pode-se levar em conta o tipo de fibra muscular presente nos diferentes tecidos. No organismo animal, há presença de fibras brancas e vermelhas, como a maior incidência de miopatias é relatada nos músculos peitorais (peitorais maiores e menores), a predominância de fibras nestes músculos é branca do tipo IIB, que têm como característica metabolismo glicolítico anaeróbico, divergindo das fibras vermelhas que possuem metabolismo oxidativo aeróbico (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013; SANTIAGO, 2015). As regiões afetadas podem apresentar pontos hemorrágicos (petéquias), coloração que podem variar do amarelo claro ao verde-azulado, presença de estrias brancas, textura fibrosa e/ou seca, edema e necrose (SOSNICKI, 1993).

Não há relatos de que o consumo de carcaças e/ou cortes que apresentam miopatias podem trazer malefícios a saúde pública; porém os maiores danos estão relacionados a condenação e descarte destas peças no momento do abate.

2.1 TIPOS DE MIOPATIAS

As miopatias que ocorrem nos músculos peitorais maiores e menores são variáveis e possuem características peculiares. Apesar de não possuírem etiologia definida, podem surgir

devido a diferentes fatores como: Miopatia por exercício (batimento intenso das asas), deficiência nutricional (vitamina E e Selênio) e predisposição genética (ZIMERMANN, 2008).

2.1.1 Estrias brancas – “white striping”

Esta miopatia é caracterizada pela presença de estrias brancas visíveis paralelas às fibras musculares do músculo peitoral maior, entretanto o mesmo pode ocorrer no músculo peitoral menor e em demais cortes comerciais nobres, como coxas e sobrecoxas. Acomete aves que estão na fase final de produção (6 a 8 semanas de vida) e sendo de ocorrência comum em machos, dado que eles apresentam maior rendimento de peito (TROCINO et al., 2015).

Kuttappan et al. (2013a), conseguiram implementar uma metodologia de classificação de diferentes graus de severidade de estrias brancas em peitos de frangos de corte (FIGURA 1):

- 1- Normais: Não apresentavam nenhuma estria branca visível;
- 2- Moderado: Presença de estrias brancas finas e pouco visíveis (< 1mm de espessura);
- 3- Severo: Presença de estrias brancas mais grossas e visíveis (>1mm de espessura).

Figura 1 – Exemplos representativos dos peitos de frango como 1 – Normal; 2 – Moderado e 3 – Severo.



Fonte: Adaptado de Kuttappan et al. (2013a).

Há relação entre o grau de severidade das estrias brancas com o rendimento de peito (espessura e peso), na porção cranial do filé de peito (KUTTAPPAN et al., 2013a). Os mesmos autores observaram no mesmo estudo, aumento da degeneração muscular, necrose, fibrose e

lipidose em filés com grau de severidade em frangos de corte que foram abatidos com maior peso.

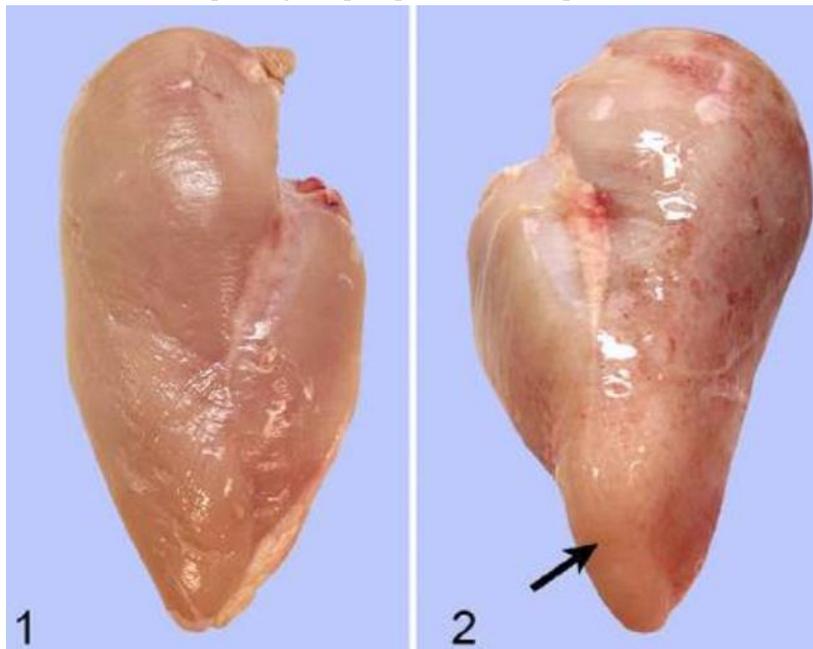
Características semelhantes foram encontradas por Ferreira (2014), quando avaliaram mais de 2500 carcaças de frangos de corte de uma linhagem comercial abatidas aos 42 dias de idade. As carcaças que apresentaram estrias brancas em grau moderado a severo, possuíam diferentes integridades de fibras musculares, e em 25% dos casos em grau severo apresentaram necrose calcificada do tecido, e 75% das carcaças apresentaram grau moderado. Corroborando dados de Kuttappan et al. (2013b), além da integridade muscular serem distintas de acordo com o grau de estriações, constataram que os peitos com maior número de estriais (grau severo) apresentaram maiores teores de gordura, deixando as peças com aparência gordurosa brilhante, dificultando ainda mais a aceitação do consumidor perante a compra do produto. Desta forma, é possível afirmar que incidência de miopatias é um problema recorrente no mercado de aves pesadas.

2.1.2 Peito de madeira – “*wooden breast*”

Esta miopatia acomete o músculo peitoral maior (filé maior), e está relacionada a qualidade da carne de peito. As alterações musculares podem ser detectadas por meio de palpação em toda região peitoral-ventral, apresentando rigidez aumentada do local com pequenas ondulações, palidez do tecido, e em graus mais severos presença de pontos hemorrágicos (petéquias) em toda região peitoral com textura viscosa (FIGURA 2).

As lesões acometem aves a partir da terceira semana de idade, sendo mais comum o aparecimento em machos pesados, e podem vir associadas de estriações brancas (*White Striping*) (MUTRYN et al., 2015; SIHVO; IMMONEN; PUOLANNE, 2014).

Figura 2 – Lesões no músculo peitoral maior de frangos de corte, relatados por Sihvo et al. (2014). 1 - Músculo de peitoral maior normal. 2 - Músculo de peitoral maior amadeirado; com aspecto viscoso claro, com parte inferior saliente (caudal -- seta) do músculo e presença de petéquias em vários pontos.



Fonte: Sihvo et al. (2014).

A etiologia desta doença ainda é pouco relatada e de maneira desconhecida. Avaliando de forma clínica e histopatológica os músculos peitorais de galinhas, Sihvo, Immonen e Puolanne (2014) encontraram necrose do tecido muscular com infiltração de células inflamatórias; inferindo que a possível causa destas alterações é devido a um baixo suporte de oxigênio nos capilares, degenerando a fibra muscular, e em alguns casos as fibras de colágeno podem apresentar processo inicial de cicatrização, sendo substituída por tecido conjuntivo frouxo.

É importante salientar que este tipo de miopatia não é causada por nenhum agente patogênico, portanto, não é uma ameaça à saúde pública. Porém, há rejeição das carcaças que apresentam estas anormalidades, pois a *wooden breast* afeta principalmente as carnes refrigeradas, uma vez que o músculo se apresenta endurecido e perde a capacidade em reter água (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013) acarretando problemas na conservação da carcaça inteira e em demais processamentos de cortes de peito (filé).

2.1.3 “Spaghetti breast”

Dentre os tipos de miopatia existentes, esta é a mais recente relatada pela indústria avícola (MONTAGNA, 2017). Esta alteração muscular acomete o músculo peitoral maior (filé), que

2.1.4 Miopatia peitoral profunda (MPP)

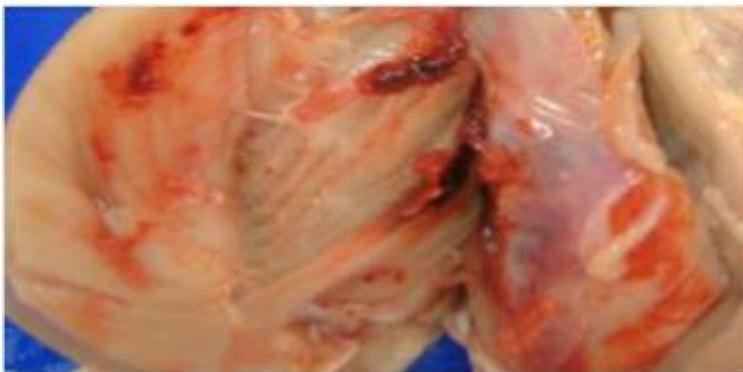
Conhecida como a Doença do Músculo Verde ou Doença de Oregon, é uma miopatia que afeta os músculos peitorais menores (filezinho), caracterizada pela degeneração e necrose dos músculos. Os músculos peitorais menores localizam-se na parte interior dos músculos peitorais maiores; possuem tecidos fibrosos e rígidos que os revestem deixando-os imóveis, diferindo completamente dos músculos peitorais maiores (filé) que são rodeados de tecidos conectivos soltos, permitindo a movimentação e crescimento deste músculo com facilidade (BILGILIE; HESS, 2008).

Por possuir estas particularidades anatômicas, o movimento repentino e excessivo das asas, é uma das principais causas para que a doença surja. O aumento da pressão e volume sanguíneo intramuscular acima do sangue circulante do organismo, desenvolve rapidamente uma queda no suprimento de oxigênio e nutrientes, e impede que haja limpeza dos fluidos metabólicos, principalmente na regulação de cálcio que é responsável pela contração muscular, originando uma isquemia e lesão das fibras musculares (SOSNICKI, 1993).

A miopatia peitoral profunda (MPP) foi reconhecida e relatada por Dickinson, Stevens e Helfer (1968) em fêmeas de perus com mais de dez meses de idade no Oregon – EUA. Em 1980, Richardson et al., já conseguiram encontrar esta miopatia em frangos de corte. Esta miopatia pode ser observada a olho nu e dividida em categorias (FIGURA 4) (BILGILIE; HESS, 2008):

- 1- Lesão inflamatória aguda: Músculos peitorais menores apresentam pontos hemorrágicos, sufusão do fluido seroso no local (local com aparência molhada);
- 2- Lesão inflamatória hiperaguda: Lesões bem definidas nos músculos peitorais internos, apresentam anéis hemorrágicos bem definidos;
- 3- Lesão crônica: Degeneração progressiva dos músculos peitorais internos, apresentam necrose das fibras (perda de toda estrutura muscular) com coloração verde.

Figura 4 - Classificação visual dos músculos peitorais maiores de frango de corte que são acometidos pela MPP:
1 – Lesão inflamatória aguda; 2 – Lesão inflamatória hiperaguda; 3 – Lesão crônica.



Categoria 1 – Lesão inflamatória aguda
Fonte: Bilgili e Hess, 2008.



Categoria 2 – Lesão inflamatória hiperaguda
Fonte: Bilgili e Hess, 2008.



Categoria 3 – Lesão inflamatória crônica
Fonte: Bilgili e Hess, 2008.

Bilgilie e Hess (2008), afirmaram que apesar da incidência desta miopatia ser comumente apresentada nos frangos de cortes pesados, principalmente em machos, devido a sua alta taxa de crescimento e elevado peso ao abate, a MPP está sujeita às outras categorias avícolas de produção, em qualquer idade ou peso e gênero, dependendo também do manejo e dos sistemas de criação destas aves.

A MPP é um problema real na indústria avícola de corte. As lesões são identificadas a olho nu na linha de abate, sendo uma visualização facilitada em cortes e não em carcaça inteira. Como as aves não apresentam nenhum sintoma, a identificação e tratamento desta doença nas aves afetadas antes de ir para o abate, é impossível. O ponto chave para que haja diminuição da ocorrência desta miopatia está no manejo preventivo, como: não estressar e assustar as aves dentro do galpão, para evitar que as mesmas se movimentem com rapidez; a pesagem não deve ser feita pelas pernas e sim colocadas uma por uma em baldes; cuidados na densidade de alojamento, para que não haja amontoamento das aves nos comedouros e bebedouros; além de treinamento para equipe de manejadores do aviário (BILGILIE; HESS, 2008; PASCHOAL; SANTOS, 2013).

2.2 MIOPATIA X DEFICIÊNCIA NUTRICIONAL

A avicultura é uma das atividades agropecuárias com mais avanços tecnológicos já aplicados na história. Na produção de carne, os ciclos de produção foram encurtados, permitindo que o animal conseguisse expor todo seu potencial produtivo, através da genética, manejo e nutrição (ZIMERMANN, 2008).

A nutrição animal acompanhou os avanços aplicados no melhoramento genético. Sendo assim, o uso de minerais e vitaminas se tornou imprescindível nas formulações de rações dos animais. Para as formulações de rações de frangos de corte toma-se como base as indicações propostas pelo NRC – *Nutrient Requirements of Poultry* do *National Research Council* (1994), e também se usa, as Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais - 4ª Edição, elaboradas por Rostagno et al. (2017).

No grupo dos microminerais, o micromineral que se destaca devido às suas propriedades, e que pode diminuir a incidência de miopatias é o Selênio (Se). Ele é o principal componente da enzima glutathione peroxidase, que participa de toda detoxificação de peróxidos do metabolismo celular, ou seja, previne principalmente a formação de radicais livres, fazendo parte assim de todo sistema de defesa antioxidante enzimático celular. Concomitantemente à ação do selênio, a vitamina E, também possui ação antioxidante, cuja a principal forma é o alfa-

tocopherol, que atua sobre a peroxidação dos lipídeos, evitando danificações da membrana celular. Assim, ambos possuem função de melhorar a qualidade da carne e estabilizar o armazenamento de lipídeos na carcaça (GUETCHOM et al., 2012; ZIMERMANN, 2008).

Em frangos de corte, a miopatia nutricional é observada em aves a partir da quarta semana de idade, sem apresentar sintomas detectáveis enquanto a ave está viva, mas observável na qualidade da carne – período pós abate. Isso ocorre devido a uma dieta deficiente em vitamina E, selênio e ácidos graxos poliinsaturados. Como a base da alimentação animal é proveniente de produtos vegetais, o uso de óleo vegetais, principalmente ômega 3 e 6, no intuito de melhorar o desempenho dos animais, amplia a necessidade do uso de nutrientes com funções antioxidantes (GUETCHOM et al., 2012).

Os músculos peitorais por possuírem o tipo de fibra muscular de contração rápida, e metabolismo glicolítico (tipo IIB), são sensíveis à perda dos mecanismos de defesa. Desta forma, a vitamina E e o selênio atuam diretamente sobre estas fibras, inibindo doenças degenerativas como as miopatias. Além disso, a deficiência deste micromineral e vitamina, podem causar depleção linfóide da Bursa de Fabricius e do timo, disfunção ou interrupção dos movimentos de um ou mais membros, mortalidade embrionária, podendo até levar a ave a óbito (RIDELL, 1996).

3 CONTROLE E PREVENÇÃO

Muitos são os motivos para se preocupar com a ocorrência de miopatias na indústria avícola brasileira, visto que a ocorrência destas alterações musculares, levam à queda no rendimento da produção de produtos processados a base da carne de frango, além dos cortes especiais e da carcaça inteira, aumentando a taxa de descarte; além de diminuir a vida de prateleira destes produtos.

Diante disto, é de suma importância que os produtores de frangos de corte adotem programas que reforcem o manejo preventivo, no intuito de diminuir a ocorrência destas doenças e assim evitar graves prejuízos econômicos. Dentre as medidas básicas de manejo em um setor avícola, Bilgili e Hess (2008) apontaram algumas orientações do manejo de frangos de corte para diminuir o batimento desnecessário de asasa, algumas delas são:

- 1- Evitar sons altos e extravagantes dentro e em torno do aviário.
- 2- Optar por realizar manejo de todo lote, e não parte dele.
- 3- Usar cercas de migração (30m de intervalo) para galpões com sistema de criação em túnel.

- 4- Escolher bebedouros e comedouros de acordo com a sua densidade de produção, e evitar peças que balancem para que as aves não empoleirem.
- 5- Na captura das aves, evitar pega-las pelos pés e pelas asas, e sim pelo corpo inteiro.
- 6- Evitar sistema automático de captura. Optar sempre pelo manual – Em casos de produção intensa (grande número de animais), realizar mutirões e treinamentos básicos prévios para a equipe de trabalho.
- 7- Ter um bom programa de luz, evitando movimentos bruscos e excessivos na intensidade de luz, visto que as aves respondem à alta intensidade luminosa com maior movimentação.

Certificando que houve um bom treinamento da equipe de trabalho, e realizadas as boas práticas de manejo, há grandes chances de diminuir a ocorrência de lesões destas aves.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como mostrado aqui, a ocorrência de miopatias em frangos de corte é preocupante, e é considerada um grave problema na linha de abate destas aves; dado que pode acarretar prejuízos econômicos para o produtor e para indústria, pois as lesões só podem ser identificadas após manipulação dos produtos, podendo ser confundidas até mesmo com hematomas provocados pelo manejo e transporte inadequado das aves. Portanto, o manejo preventivo se torna o mais eficaz e “barato” para que problemas como as miopatias, sejam amenizados e até mesmo extintos dos lotes de produção.

5 REFERÊNCIAS

ABPA, Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual**. 2018.

ALNAHHAS, N. et al. Genetic parameters of white striping in relation to body weight, carcass composition, and meat quality traits in two broiler lines divergently selected for the ultimate pH of the *pectoralis major* muscle. **BMC Genetics**, v. 17, n. 1, p. 1, 2016.

BILGILIE, S. F.; HESS, J. H. Miopatia peitoral profunda. Informativo traduzido do original Ross Tech 08/48, 2008. **Aviagen Brasil: Tecnologia**, Campinas, v. 1, n. 3, 2008.

CASTILLO, C. J. C. Qualidade de carcaça e carne de aves. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, 1., 2001, São Pedro. **Anais...** São Pedro: ITAL, p.79-99. 2001.

DICKINSON, E. M.; STEVENS, J. O.; HELFER, D. H. A degenerative myopathy in turkeys. Proceedings 17th, **Western Poultry Disease Conference**, v. 7, 1968.

DRANSKFIELD, E.; SOSNICKI, A. A. Relationship between muscle growth and poultry meat quality. **Poultry Science**, n. 78, p. 740-746, 1999.

FERREIRA, T. Z. **Estudo histomorfológico do músculo *pectoralis* de frangos de corte acometidos com *white striping***. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias na área de Inspeção de Produtos de Origem Animal e Tecnologia) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Faculdade de Veterinária, Porto Alegre. 2014.

GOMIDE, L. A. M.; RAMOS, E. M.; FONTES, P. R. **Ciência e qualidade da carne: Fundamentos – Série didática. 1ª Edição** Editora UFV, Viçosa- MG. 2013.

GUETCHOM, B. et al. **Effect of extra dietary vitamin E on preventing nutritional myopathy in broiler chickens**. *The Journal of Applied Poultry Research*, v. 21, n. 3, p. 548–555. 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.3382/japr.2011-00440>>. Acesso em: 21 set. 2018.

HARPER, J. A.; HELFER, D. H.; DICKINSON, E. M. Hereditary myopathy in turkeys. Proceedings of the 20th, **Western Disease Conference**, v. 76, 1971.

JOINER, K. S. Evaluation of capillary and myofiber density in the *pectoralis major* muscles of rapidly growing, high-yield broiler chickens during increased heat stress. **Avian Diseases**, n. 58, v.3, p. 377-382, 2014.

KLEIN, A. A. **A carne de frango deve ser a mais consumida até 2020**. 2018. Espanha. Disponível em: <<https://avicultura.info/pt-br/carne-de-frango-mais-consumida-no-mundo-ate-2020/>>. Acesso em: 17 set. 2018.

KUTTAPPAN, V. A. et al. Influence of growth rate on the occurrence of *white striping* in broiler breast fillets. **Poultry Science**, Champaign, v. 91, n. 10, p. 2677-2685, 2012.

KUTTAPPAN, V. A. et al. Estimation of factors associated with the occurrence of *white striping* in broiler breast fillets. **Poultry Science**, n. 92, p. 811-819, 2013b.

KUTTAPPAN, V. A. et al. Pathological changes associated whit *white striping* in broiler breast muscles. **Poultry Science**, n. 92, p. 331- 338, 2013a.

MONTAGNA, F. S. **Incidência de miopatia peitoral em frangos de corte de diferentes sistemas de produção**. 2017. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal da Grande Dourados - Faculdade de Ciências Agrárias, Dourados. 2017.

MUTRYN, M. F. et al. Characterization of a novel chicken muscle disorder through differential gene expression and pathway analysis using RNA-sequencing. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, p. 1-19, 2015.

- NOGUEIRA, E. **A importância da lisina para frangos de corte.** 2005. Disponível em: <[www.lisina.com.br/upload/Materia_lisina_Jornal%20Nossa%20Terra\(1\).pdf](http://www.lisina.com.br/upload/Materia_lisina_Jornal%20Nossa%20Terra(1).pdf)>. Acesso em: 17 set. 2018.
- NRC. **National Research Council.** 1994. Nutrient Requirements of Poultry: Ninth Revised Edition, 1994. Washington, DC: The National Academics Press. Disponível em: <<https://doi.org/10.17226/2114>>. Acesso em: 19 set. 2018.
- PASCHOAL, E. C.; SANTOS, J. M. G. Miopatia peitoral profunda como causa de condenação em abatedouro de aves. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v. 6, n. 2, p. 223-233, 2013.
- RICHARDSON, J. A. et al. Deep pectoral myopathy in seven-week-old broiler chickens. **Avian Diseases**. v. 24, p. 1054–1059, 1980.
- RIDELL, C. **Avian Histopatologia.** Pennsylvania: American Association of Avian Pathologists, 2. ed. 1996. 234 p.
- ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais.** 4. ed. Viçosa: UFV – Departamento de Zootecnia. 2017.
- SANTIAGO, G. O. **Caracterização das principais lesões peitorais em frango de corte.** 2015. Monografia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de Veterinária, Porto Alegre. 2015.
- SIHVO, H-K.; IMMONEN, K.; PUOLANNE, E. Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the *pectoralis major* muscle of broilers. **Veterinary Pathology**, n. 51, v. 3, p. 619–623, 2014.
- SOSNICKI, A. A. Focal myonecrosis effects in turkey muscle tissue. **Reciprocal Meat Conference**, v. 46, p. 97-102. 1993.
- TROCINO, A. et al. Effect of genotype, gender and feed restriction on growth, meat quality and the occurrence of *white striping* and *wooden breast* in broiler chickens. **Poultry Science**. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3382/ps/pev296>>. Acesso em: 18 set. 2018.
- VIEIRA, S. L. **Qualidade de carcaça de frangos de corte.** 2. ed. Rede editora e Serviços de Clipping Ltda. 2012.
- ZIMERMANN, F. C. **Miopatia dorsal e cranial em frangos de corte: Caracterização anatomopatológica, colheita e análise de dados.** 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias na área de Sanidade Avícola) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de Veterinária, Porto Alegre. 2008.

A graphic element consisting of a light green shield-like shape with a dark green border. Inside the shield, the word "Capítulo" is written in a bold, black, sans-serif font, and the number "5" is written below it in a larger, bold, black, sans-serif font.

Estrutura e fisiologia óssea

Felipe Martins Pastor¹
Mayara Mezabarba Riva²
Luma da Silva Mutz³
Maria Aparecida da Silva⁴

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: felipempastor@gmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mayarariva@yahoo.com.br

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: luma.mutz@gmail.com

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mvmariaaparecida@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

A principal função do esqueleto é o suporte estrutural para o corpo, permitindo a sustentação e sendo papel chave na locomoção. Os ossos ainda atuam como protetores de órgãos internos, como na caixa torácica, calvária e cavidade pélvica, e desempenham papel imprescindível na manutenção da homeostase mineral e na hematopoiese (TAICHMAN, 2005). De forma conjunta, as funções ósseas influenciam não apenas a arquitetura do esqueleto, mas do organismo de forma geral.

Anatomicamente, ossos apresentam-se com formas e classificações variadas, dependendo da sua localização e composição em relação à proporção de tecido ósseo trabecular e compacto (GETTY, 2008). Quanto à histologia, os diversos componentes presentes no tecido determinam sua resistência e resiliência, sendo estas, variáveis de acordo com a composição bioquímica da matriz óssea (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). A fisiologia do tecido ósseo é complexa, e ainda não está completamente elucidada; porém, é estabelecido que os processos de formação e reabsorção coocorrem de forma dinâmica e simultânea, dependendo do fator estimulante e da célula-alvo envolvida (HALL, 2011).

Devido às diversas e indispensáveis funções do osso, seja como órgão ou tecido, se faz necessário um entendimento adequado e detalhado das particularidades que envolvem este sistema. Portanto, o objetivo deste capítulo é revisar as principais características anatômicas, histológicas e fisiológicas do osso como órgão e como tecido.

2 ANATOMIA ÓSSEA

A fim de estudar a morfologia óssea, o osso como um órgão compreende o tecido ósseo, suas membranas de revestimento, a medula óssea, os nervos e vasos que os irrigam. A nutrição do osso é provida pelas membranas de revestimento, endóstio e perióstio, que se localizam nas faces interna e externa da superfície óssea, respectivamente. Além do papel de abastecimento, tais membranas ainda são responsáveis pela regeneração e aposição óssea, uma vez que contêm pré-osteoblastos (LIEBICH; FORSTENPOINTNER; KÖNIG, 2011).

Funcionalmente, o esqueleto pode ser dividido em axial, do qual fazem parte o crânio, vértebras, costelas e esterno, e apendicular, composto pelos ossos dos membros torácicos e pélvicos. Unindo os esqueletos axial e apendicular, encontram-se os cíngulos escapular e pélvico. O cíngulo escapular é composto, nos mamíferos, pela escápula e pela estrutura rudimentar restante da clavícula, que se encontra entremeada ao músculo braquiocefálico. O cíngulo pélvico, considerado verdadeiro, é composto pelos ossos do ílio, ísquio e púbis articulados entre si e com seus correspondentes contralaterais na sínfise púbica, e dorsalmente, articulados com o sacro e vértebras caudais (GETTY, 2008). Além da divisão funcional em apendicular e axial, em algumas espécies de mamíferos ainda se considera um terceiro grupo, o esqueleto esplâncnico ou visceral, que compreende os ossos presentes nas vísceras, como o osso cardíaco bovino e o osso peniano dos cães (GETTY, 2008).

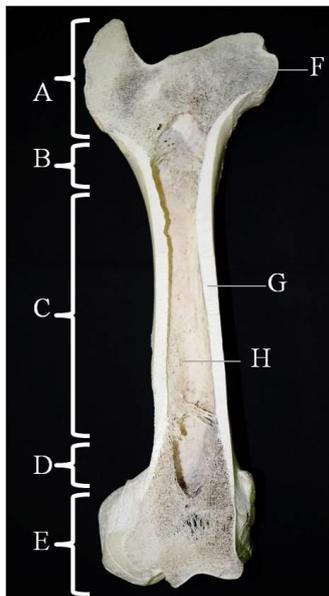
Individualmente, de acordo com a função e as características estruturais, como a relação comprimento x largura x altura, os ossos podem ser classificados em grupos distintos, sendo eles: ossos longos, curtos, planos, pneumáticos e irregulares (GETTY, 2008; LIEBICH; FORSTENPOINTNER; KÖNIG, 2011).

Os ossos longos, assim se caracterizam por apresentarem maior comprimento e serem compostos por uma região de corpo, denominada diáfise, formada por tecido ósseo compacto, lamínulas ósseas extremamente aderidas umas às outras, e possuem no interior a cavidade medular, que abriga a medula óssea, tendo assim forma cilíndrica (GETTY, 2008). Nas extremidades, nomeadas de epífises proximal e distal, os ossos longos possuem tecido ósseo trabecular, estrutura porosa ossificada denominada osso esponjoso, que é recoberta por osso

cortical (LIEBICH; FORSTENPOINTNER; KÖNIG, 2011). A figura 1 apresenta exemplos de osso longo.

Além disso, as epífises abrigam as superfícies articulares e as cartilagens epifisárias (FIGURA 2), responsáveis pelo crescimento longitudinal do osso. Entre as epífises e diáfises, se localizam as metáfises, que são as regiões de transição. São ossos longos: úmero, rádio, ulna, metacarpos, fêmur, tíbia, fíbula, metatarsos e falanges (CLARKE, 2008).

Figura 1: Fotografia de secção longitudinal de fêmur de bovino, osso longo. (A) Epífise proximal, (B) Metáfise proximal, (C) Diáfise, (D) Metáfise distal, (E) Epífise distal, (F) Osso trabecular, (G) Osso compacto e (H) Canal medular.



Fonte: Exemplar do acervo do Museu de Anatomia Comparada Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo - CCAE/UFES.

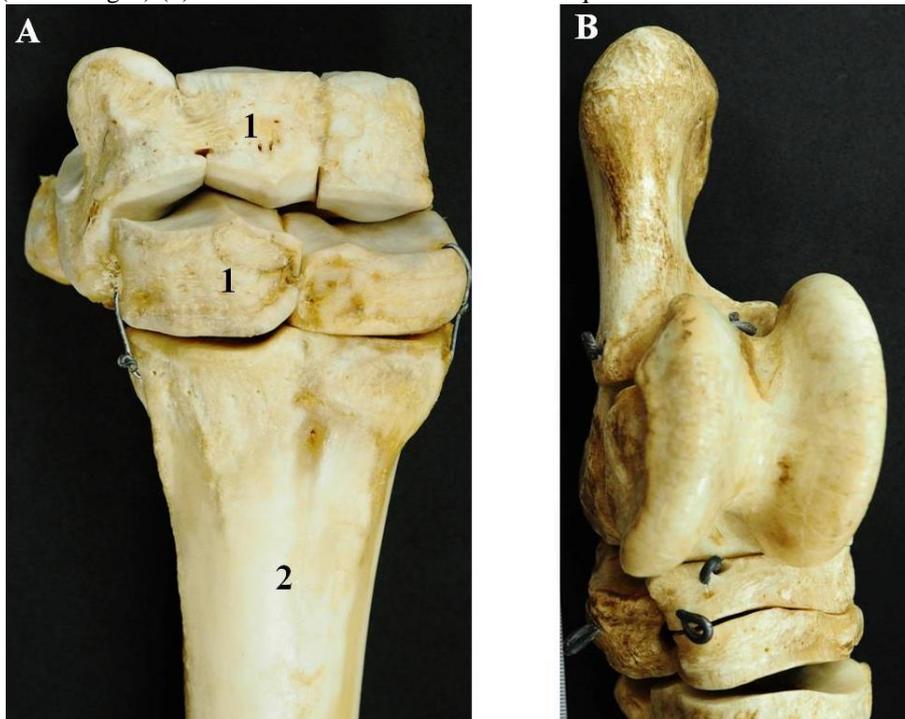
Figura 2: Fotografia de úmero de equino. A - Vista caudal e B - Vista medial. Cartilagem epifisária proximal (seta) e cartilagem epifisária distal (*).



Fonte: Exemplares do acervo do Museu de Anatomia Comparada Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo - CCAE/UFES.

Ossos curtos possuem medidas aproximadas e formatos que variam de cilíndricos, arredondados a cúbicos, com função básica de difusão da concussão. Ao invés de uma cavidade medular, como nos ossos longos, este grupo possui em seu interior apenas tecido ósseo trabecular ou esponjoso (LIEBICH; FORSTENPOINTNER; KÖNIG, 2011). Os ossos que compõem esse grupo são os carpos e os tarsos (CLARKE, 2008; GETTY, 2008). A figura 3 ilustra ossos curtos.

Figura 3: Fotografia de vista dorsal de ossos curtos e osso longo. A – ossos do carpo (ossos curtos) (1) e ossos metacárpais (ossos longos) (2) de bovino e B – ossos do tarso de equino.



Fonte: Exemplos do acervo do Museu de Anatomia Comparada Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo - CCAE/UFES.

Os ossos planos (FIGURA 4), também denominados chatos, apresentam comprimento e largura semelhantes e maiores que a espessura, e são aqueles formados por duas finas camadas de tecido ósseo compacto circundando o tecido ósseo esponjoso, como no caso da escápula, costelas, ílio, ísquio, púbis e ossos da cabeça. As funções desse grupo ósseo incluem proteger órgãos os quais recobrem, e propiciar área de inserção para musculatura local (GETTY, 2008; LIEBICH; FORSTENPOINTNER; KÖNIG, 2011). Quando um osso plano circunda uma cavidade com ar, é denominado osso pneumático, como os ossos maxilares e etmoides, que compõem os seios paranasais (LIEBICH; FORSTENPOINTNER; KÖNIG, 2011).

Figura 4: Fotografia de ossos planos. A – escápula de bovino, vista lateral e B – osso coxal de cão, vista ventral.



Fonte: Exemplos do acervo do Museu de Anatomia Comparada Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo - CCAE/UFES.

Os ossos irregulares são aqueles sem forma e proporções definidas, como os da base do crânio (LIEBICH; FORSTENPOINTNER; KÖNIG, 2011), vértebras (FIGURA 5) e os ossos hioideos (CLARKE, 2008). E por fim, os ossos sesamoides são aqueles encontrados perto de articulações e encontram-se no tendão ou em sua base, são exemplos a patela e os ossos sesamoides proximais e os sesamoides distais (LIEBICH; FORSTENPOINTNER; KÖNIG, 2011).

Figura 5: Fotografia de osso irregular, primeira vértebra cervical (atlas) de bovino, vista dorsal.



Fonte: Exemplar do acervo do Museu de Anatomia Comparada Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo - CCAE/UFES.

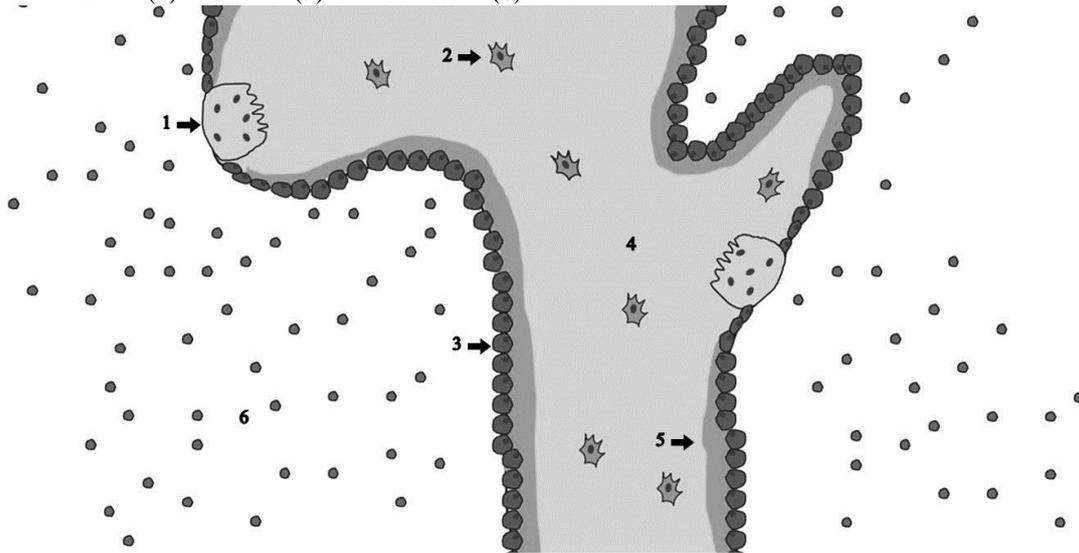
A resistência e estabilidade mecânica dos ossos são obtidas graças ao tecido ósseo e sua composição heterogênea. Cada osso, de forma particular, apresenta arquitetura e propriedades biomecânicas distintas, em razão de fatores como: estrutura e organização dos tecidos ósseos compacto e trabecular; formato da cavidade medular; princípios de tensão e pressão a que é submetido; pressão das curvaturas; e formação dos trajetos de tensão. Os ossos são estruturalmente formados para obter o máximo de estabilidade e resistência, com peso mínimo, e sua arquitetura faz com que o órgão seja estrutura ideal: tubo oco revestido por material compacto, que confere resistência à tensão e pressão, e extremidades com estruturas lamelares que proporcionam resistência ao impacto, e ao mesmo tempo leveza (LIEBICH; FORSTENPOINTNER; KÖNIG, 2011).

3 HISTOLOGIA ÓSSEA

O osso é composto por tecido conjuntivo especializado, formado por células específicas e pela matriz óssea, que é o material extracelular mineralizado. Como a matriz extracelular é mineralizada, a difusão dos nutrientes por processos convencionais fica impossibilitada. Portanto, a nutrição é realizada por canalículos presentes no tecido, que possibilitam a troca de nutrientes entre os osteócitos e o sangue dos capilares (GARTNER; HIATT, 2014; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Os tipos celulares presentes no tecido ósseo são: osteoblastos, responsáveis pela síntese da matriz celular não mineralizada, denominada osteoide; osteócitos, dispostos em lacunas; e osteoclastos, responsáveis pelo processo de remodelamento e reabsorção óssea (GARTNER; HIATT, 2014). Um desenho esquemático de corte histológico do tecido ósseo está representado na Figura 6.

Figura 6: Esquema de corte histológico do tecido ósseo. Osteoclastos (1). Osteócitos (2). Osteoblastos (3). Matriz óssea mineralizada (4). Osteoide (5). Medula óssea (6).



Fonte: O autor.

As células responsáveis pela síntese do osteoide são os osteoblastos, sendo também capazes de concentrar o fosfato de cálcio e participar da mineralização da matriz. Morfologicamente, os osteoblastos se dispõem em formato que lembra um epitélio simples, estando às células uma ao lado da outra. Quando em plena atividade sintética, seu aspecto é de uma célula secretora típica, de formato cúbico, com citoplasma basofílico e com retículo endoplasmático rugoso e aparelho de Golgi bem desenvolvidos (GARTNER; HIATT, 2014). Enquanto em estado de baixa atividade, se tornam pouco basofílicos e adquirem aspecto achatado. Assim que aprisionado pelo osteoide formado, o osteoblasto passa a ser denominado osteócito. A matriz a ser mineralizada é depositada ao redor dos prolongamentos da célula, que mais tarde formam os canalículos e lacunas (GARTNER; HIATT, 2014; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Os osteócitos são as principais células que compõem o tecido ósseo e ocupam as lacunas compostas por matriz óssea em forma de lamelas concêntricas, denominadas ósteons (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). Cada ósteon possui apenas um osteócito, o qual emite prolongamentos através dos canalículos se comunicando com os osteócitos vizinhos através das junções *gap*, formadas pelas proteínas conexinas, que permitem a comunicação e transporte de metabólitos, íons e moléculas sinalizadoras, como cálcio e monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) (SERAKIDES, 2016).

Morfologicamente, os osteócitos são células de aspecto achatado, com pouco retículo endoplasmático evidente, aparelho de Golgi fracamente desenvolvido e cromatina condensada. Mesmo que essas características indiquem uma célula com baixo perfil de atividade sintética,

os osteócitos, ainda assim, têm papel fundamental na manutenção da matriz óssea, sendo que sua morte resulta em reabsorção local da matriz (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Os osteoclastos são as células responsáveis pelo remodelamento e reabsorção da matriz óssea. Morfologicamente, apresentam-se como células de formato irregular, com ramificações que variam em formato e espessura, sendo mais dilatadas nos locais de reabsorção intensa, principalmente nas depressões formadas na matriz, denominadas de lacunas de Howship. São móveis, multinucleados e com citoplasma granuloso, que por vezes é vacuolizado, fracamente basofílico a acidófilo no caso de osteoclastos mais maduros (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Os osteoclastos possuem as zonas clara, basal e vesicular. A face do osteoclasto voltada para a matriz óssea em reabsorção é denominada de zona clara por possuir poucas organelas, sendo local com prolongamentos mais numerosos, e ricos em filamentos de actina. Portanto, a zona clara é o local de adesão do osteoclasto à matriz, onde há microambiente fechado para o processo de lise da matriz óssea. A zona clara ainda circunda a borda pregueada, local em que se observam os processos em forma de “dedo de luva”, móveis e dinâmicos, e que modificam continuamente a conformação da célula. A zona basal é a região da célula com maior porção de organelas, que é mais distante da lacuna de Howship, e inclui o núcleo múltiplo do osteoclasto. Por fim, a zona vesicular compreende a região do osteoclasto rica em vesículas de endo e exocitose, que contêm, sobretudo, enzimas que são transportadas para a região de reabsorção óssea, e produtos da degradação são retirados em abundância desse mesmo local (GARTNER; HIATT, 2014; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

O quarto tipo celular presente no tecido ósseo são as células osteoprogenitoras, localizadas na camada interna do endóstio, do perióstio e revestindo os canais de Havers, sendo precursoras de osteoblastos. Em situações de baixa oxigenação, as células osteoprogenitoras são capazes de se diferenciar em células condrogênicas. Morfologicamente, são células fusiformes, com núcleo ovalado e fracamente corado, retículo endoplasmático rugoso e aparelho de Golgi pouco desenvolvidos, mas com ribossomos livres abundantes (GARTNER; HIATT, 2014).

No meio extracelular, encontra-se a matriz óssea, composta por partes inorgânica e orgânica. O componente inorgânico representa de 50 a 65% do peso seco do osso, sendo constituído, majoritariamente, por cálcio e fósforo, com adição de outras substâncias presentes em menores quantidades, como o bicarbonato, citrato, sódio, potássio e magnésio. O cálcio e fósforo estão dispostos sob a forma de cristais de hidroxiapatita [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$], havendo pouca quantidade desses minerais sob a forma de fosfato de cálcio (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). Os cristais de hidroxiapatita se encontram arranjados ao longo das fibras

de colágeno, e os íons de sua superfície atraem H_2O , formando uma camada hidratada ao longo do cristal. A essa camada, dá-se o nome de membrana de solvatação, que permite a troca de íons entre os cristais e o interstício (GARTNER; HIATT, 2014).

O componente orgânico da matriz óssea representa por volta de 35% do peso seco do osso, e é formado por colágeno tipo I em sua maioria, e uma pequena quantidade de proteoglicanos e glicoproteínas. O colágeno representa 90 a 95% de todo o componente orgânico, sendo disposto em feixes grandes de 50 a 70 nm de diâmetro, e apresentando grande quantidade de ligações cruzadas. Os outros componentes orgânicos da matriz óssea incluem glicosaminoglicanas ligadas ao ácido hialurônico, como o sulfato de condroitina e sulfato de queratano, e as glicoproteínas ósseas, representadas pela osteocalcina, osteopontina e sialoproteína óssea (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

A associação entre os componentes orgânicos e inorgânicos da matriz óssea conferem ao tecido a resistência e rigidez características. Sem a matriz inorgânica, o osso mantém seu formato, mas perde a rigidez, tornando-se extremamente flexível, ao ponto de ser dobrado. Enquanto isso, na ausência da matriz orgânica o tecido mantém a rigidez, entretanto perde a capacidade de resiliência, se tornando quebradiço e sendo facilmente fraturado (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Na abordagem microscópica, é possível observar dois tipos de tecido ósseo distintos, de acordo com a disposição das fibras colágenas: osso primário ou trabecular, no qual as fibras colágenas têm padrão irregular; e secundário ou lamelar, em que o colágeno é disposto em lamelas concêntricas em torno de vasos, formando os canais de Havers ou ósteons. Cada canal de Havers é revestido por osteoblastos e células osteoprogenitoras, e está conectado aos ósteons vizinhos, com a cavidade medular e com a superfície externa do osso por meio dos canais de Volkmann, que são canais similares, orientados de forma oblíqua ou perpendicular, mas não apresentam lamelas concêntricas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

4 FISIOLOGIA E METABOLISMO ÓSSEO

4.1 CRESCIMENTO E MODELAMENTO ÓSSEO

Durante o desenvolvimento, os ossos podem ser formados por dois mecanismos distintos. O primeiro deles se trata da ossificação intramembranosa, que é menos comum, e ocorre por meio de osteoblastos originados da diferenciação direta de células mesenquimais primitivas. O osso formado por esta via é desorganizado, e gradualmente é substituído por osso

lamelar (LAZARETTI-CASTRO; BIANCO, 2012). Os ossos formados pela ossificação intramembranosa incluem os ossos chatos, como os do crânio, mandíbula e escápula, e dos ossos curtos, como os carpianos e tarsianos (LOWREY, 1986). Neste tipo de ossificação se observa maior formação óssea nas superfícies, formando duas tábuas de osso compacto, com centro esponjoso. A parte do tecido conjuntivo que não sofre ossificação se torna perióstio e endóstio (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

Enquanto a ossificação endocondral é o processo na qual o osso é formado a partir de um molde cartilaginoso preexistente. Este processo é o mais comum, e dá origem aos ossos longos, vértebras, ossos do cingulo pélvico e da base do crânio. O molde cartilaginoso sofre erosões em centros de ossificação primária, nas quais os condrócitos são substituídos pela matriz óssea por meio da ação dos osteoblastos. Quando se completa a ossificação, resta a placa epifisária, que concentra uma camada de tecido cartilaginoso que se prolifera, sendo esta responsável pelo crescimento longitudinal do osso, ocorrendo, sobretudo, nos ossos longos (LAZARETTI-CASTRO; BIANCO, 2012).

De acordo com Lazaretti-Castro e Bianco (2012), o crescimento longitudinal do osso trata-se de processo equilibrado entre a proliferação e maturação dos condrócitos da placa epifisária, seguido de reabsorção da cartilagem mineralizada e posterior substituição por tecido ósseo propriamente dito. Concomitantemente, a cartilagem epifisária sofre consumo gradual, de forma que no início da vida adulta se encontra quase totalmente ossificada, ocorrendo então, a fusão entre as epífises e metáfises, sendo encerrado o crescimento longitudinal (HALL, 2011).

A segunda forma de crescimento ósseo é o crescimento radial. Nesse caso, os osteoblastos presentes no perióstio realizam a formação óssea, enquanto os osteoclastos, presentes em sua maioria na cavidade medular, realizam a reabsorção óssea (HALL, 2011). Essa dinâmica de maior aposição externa e maior reabsorção interna faz com que o osso cresça em diâmetro, havendo, além disso, alargamento da cavidade medular (CLARKE, 2008).

Nos ossos chatos, como por exemplo, os da cabeça, o crescimento acontece principalmente por meio do perióstio presente nas suturas e na face externa do osso, enquanto há maior reabsorção na face interna. A propriedade de plasticidade faz com que os ossos da cabeça se adaptem, por exemplo, ao tamanho do encéfalo: nos casos de microcefalia, o crânio se desenvolve pouco, uma vez que o encéfalo é menor; na hidrocefalia, o encéfalo é maior que o normal, logo, ocorre adequação, e conseqüente maior desenvolvimento do crânio (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

O crescimento ósseo pode ser regulado por diversos fatores de crescimento, como TGF- β , IGF- I e IGF-II e FGF (LAZARETTI-CASTRO; BIANCO, 2012), além dos hormônios

tireoidianos (T3 e T4) e do crescimento (GH). Os hormônios tireoidianos, ao interagirem com os receptores TR α e TR β (ALLAIN et al., 1996; GRUBER et al., 1999) dos osteoblastos, agem de forma a regular a expressão de genes relacionados à codificação de proteínas como o colágeno tipo I, osteocalcina, osteopontina, osteonectina e fosfatase alcalina, além de estimularem a diferenciação dos osteoblastos e incrementarem a síntese e mineralização da matriz óssea (BILEZIKIAN; RAISZ; RODAN, 1996). Enquanto isso, o GH age de três formas distintas no crescimento ósseo. A primeira delas é o aumento da deposição de proteínas pelos condrócitos e osteoblastos, seguido da maturação desses mesmos tipos celulares. O terceiro efeito do GH sobre o crescimento ósseo se dá na conversão do tecido cartilaginoso em matriz óssea, a qual é potencializada pelo hormônio (HALL, 2011).

Associado ao crescimento ósseo há o fenômeno responsável pela manutenção da arquitetura do osso, o processo de modelamento, que envolve o tamanho, forma, quantidade e disposição do tecido, de acordo com fatores externos locais ou sistêmicos. Como exemplo de fator que altera a disposição do tecido ósseo, Lazaretti-Castro e Bianco (2012) descrevem que as forças mecânicas apresentam papel importante, pois as tensões e deformações em determinados pontos do esqueleto orientam os processos de reabsorção e formação óssea em maior ou menor intensidade.

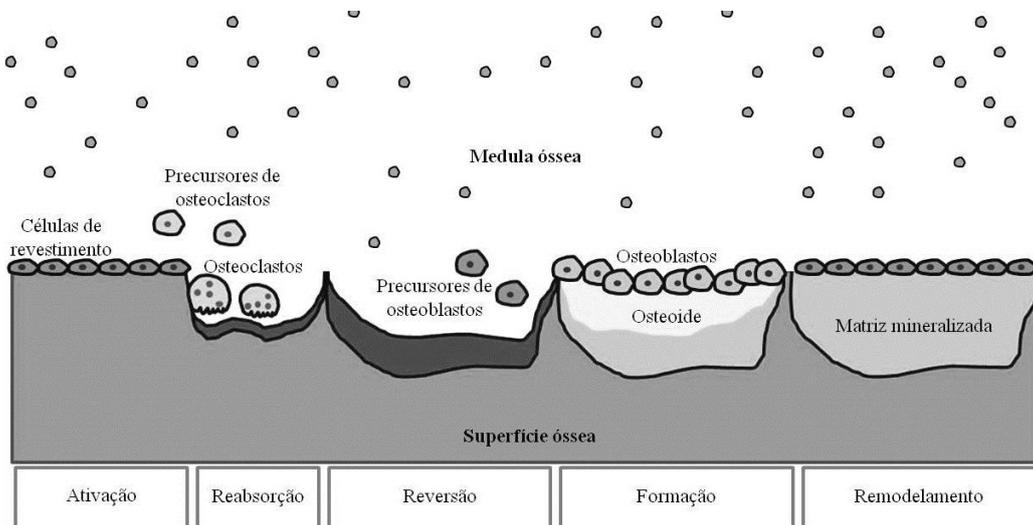
Após o crescimento completo, as adaptações às forças mecânicas e à homeostase mineral são supridas pelo processo de remodelamento ósseo, que é contínuo e não altera a forma ou arquitetura do osso (HALL, 2011).

4.2 REMODELAMENTO ÓSSEO

O processo de remodelamento ósseo trata-se de fenômeno fisiológico que ocorre tanto na porção trabecular como no osso cortical, no entanto, é mais intenso no primeiro, graças à maior superfície em função do sistema de trabéculas. De acordo com Lazaretti-Castro e Bianco (2012), o remodelamento ósseo ocorre a uma progressão de 10% ao ano, sendo que em humanos adultos, a cada 10 anos o esqueleto é completamente renovado. Os mesmos autores afirmam que a homeostase entre os processos de reabsorção e formação óssea em humanos permanece constante até os 40 anos de idade, sendo que após esse período há ligeira predominância da reabsorção, se estabelecendo o quadro de osteopenia fisiológica. Essa situação se torna mais evidente em mulheres após a menopausa, visto que, com a queda dos níveis de estrógeno, a formação óssea é menor, havendo perda de até 40% da massa óssea em mulheres nessa situação.

O remodelamento ósseo possui quatro fases distintas, definidas de acordo com a atividade celular predominante, das quais se nomeiam: ativação, reabsorção, reversão e formação. A dinâmica do remodelamento ósseo está esquematizada na Figura 7.

Figura 7: Desenho esquemático representando as fases do remodelamento ósseo.



Fonte: O autor.

4.2.1 Ativação

A ativação compreende o processo de iniciação do processo de remodelamento, no qual há diferenciação e fixação dos osteoclastos na superfície óssea. Anterior a isso, ocorre a remoção da matriz óssea não mineralizada pelas células de revestimento do endóstio e perióstio. Os mecanismos que desencadeiam a ativação ainda não estão completamente elucidados, no entanto, acredita-se que ações sistêmicas, como do paratormônio (PTH), ou locais, como estímulo mecânico e microfraturas, possam atuar como iniciadores (LAZARETTI-CASTRO; BIANCO, 2012).

Os osteoclastos são o tipo celular responsável pela reabsorção da matriz óssea, e são derivados da diferenciação e fusão de precursors mononucleados da linhagem mieloide (BOYLE; SIMONET; LACEY, 2003; DATTA et al., 2008). Estes mesmos precursors foram também identificados em tecidos extra-ósseos, porém acredita-se que apenas na medula óssea ocorra a diferenciação específica para osteoclastos ativos. Esse processo ocorre por meio da síntese e ação autócrina de interleucina-1 (IL-1) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), que estimulam tanto a diferenciação dos precursors quanto a atividade do osteoclasto formado (COMPSTON, 2002). Além da IL-1 e TNF- α , outras substâncias, como PTH, IL-6, 1,25-

11-dihidroxicolecalciferol e prostaglandinas E2 (PGE2) também participam da osteoclastogênese (KIM et al., 1999).

Citocinas como o RANKL e o fator estimulador de colônia de macrófagos (M-CSF) também são responsáveis pela diferenciação dos osteoclastos. Ambas são produzidas pelas células do estroma da medula óssea e pelos osteoblastos na membrana basal, sendo que a presença de tais componentes celulares é imprescindível no processo de diferenciação dos osteoclastos (TEITELBAUM; ROSS, 2003). O RANKL pertence à superfamília de citocinas do TNF e é um fator considerado crítico para diferenciação dos osteoclastos. Enquanto o M-CSF é um fator necessário na proliferação, manutenção e diferenciação tanto dos precursores quanto dos próprios osteoclastos. Além disso, o M-CSF também é necessário no rearranjo do cistosqueleto durante o processo de reabsorção da matriz óssea (COHEN, 2006). Tanto o RANKL quanto o M-CSF induzem a expressão gênica no osteoclasto, fazendo com que ele produza enzimas como a catepsina K (CATK) e a fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP), além do receptor para calcitonina e integrina $\beta 3$ (BOYLE; SIMONET; LACEY, 2003).

4.2.2 Reabsorção

O processo de reabsorção se inicia após a fixação do osteoclasto na superfície óssea, que ocorre por sua ligação aos peptídeos da osteopontina e sialoproteína da matriz óssea, por meio de receptores de integrinas (ROSS; TEITELBAUM, 2005). Uma vez em contato com a matriz, os filamentos de actina do osteoclasto se organizam, formando a borda em escova, denominada de lacunas de Howship, que garantem adesão completa do osteoclasto à matriz, isolando a superfície de reabsorção do restante do meio (LAZARETTI-CASTRO; BIANCO, 2012; VAANANEN et al., 2000). Esse processo de adesão torna o osteoclasto polarizado, fazendo com que a zona clara se torne pregueada, abrigando as vesículas acidificadas com catepsina K e metaloproteinases (TEITELBAUM; ABU-AMER; ROSS, 1995).

Neste ambiente formado os componentes bioquímicos que trabalham na digestão da matriz incluem os íons hidrogênio, que agem de forma a acidificar as lacunas de Howship permitindo a quebra das ligações dos cristais de hidroxiapatita, e CATK, que atua na lise do colágeno tipo I (BOYLE; SIMONET; LACEY, 2003). A secreção de H^+ ocorre pela ação da H^+ -ATPase e dos canais de Cl^- , provocando exocitose das vesículas para o meio extracelular (TEITELBAUM; ABU-AMER; ROSS, 1995). Assim que ocorre a perda da adesão entre a superfície óssea e o osteoclasto nas lacunas de Howship, o processo de reabsorção é imediatamente interrompido.

A regulação da reabsorção é feita por substância com capacidade de regular a atividade ou a diferenciação dos osteoclastos. Sabidamente, existem substâncias da família do TNF e seus receptores envolvidos nesse processo: RANK, RANKL e osteoprotegerina (OPG). A ação do RANKL é ativar seu receptor, RANK, que induz a diferenciação e manutenção da ação reabsortiva do osteoclasto (LAZARETTI-CASTRO; BIANCO, 2012), enquanto a OPG age de modo a inibir a ação do RANK, pois cria uma ligação de alta afinidade com o RANKL e impede que este chegue ao receptor (BOYLE; SIMONET; LACEY, 2003; COHEN, 2006). Além disso, a OPG também reduz a osteoclastogênese e provoca apoptose nos osteoclastos formados, tendo sua síntese mediada por moléculas como estrógeno, BMPs e TGF- β (BOYLE; SIMONET; LACEY, 2003).

De forma local, a reabsorção é regulada positivamente por meio de citocinas e fatores de crescimento que induzem a osteoclastogênese, como IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-6 e IL-11, além de TNF- α , TGF- β , FGF e o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) (DATTA et al., 2008; LAZARETTI-CASTRO; BIANCO, 2012). A atividade física também atua como importante fator regulador da reabsorção óssea, uma vez que a deformação dos canalículos provoca maior osteogênese nos locais de maior impacto, e reabsorção óssea em locais de menor sobrecarga (LAZARETTI-CASTRO; BIANCO, 2012; OCARINO et al., 2007).

De forma sistêmica, hormônios como PTH, 1,25-diidroxicolecalciferol atuam na proliferação de osteoblastos (BLAND, 2000; HADJIDAKIS; ANDROULAKIS, 2006; LAZARETTI-CASTRO; BIANCO, 2012), enquanto fatores antirreabsortivos, como estrógenos e BMPs estimulam a produção da OPG e suprimem a expressão de RANKL nos osteoblastos (LAZARETTI-CASTRO; BIANCO, 2012). A calcitonina, também antirreabsortiva, age impedindo a fusão dos precursores dos osteoclastos, além de atuar nestes últimos, provavelmente sobre o citoesqueleto, impedindo a fixação à superfície óssea (LAZARETTI-CASTRO; BIANCO, 2012).

4.2.3 Reversão

O processo de reversão inclui o tempo entre o fim da reabsorção e o começo da formação da matriz óssea, durando de 7 a 15 dias. Durante esse tempo, as lacunas de reabsorção são recobertas por população heterogênea de células mononucleares, cuja função é realizar a limpeza da superfície óssea e promover a cimentação (LAZARETTI-CASTRO; BIANCO, 2012).

4.2.4 Formação

A formação da nova matriz óssea se inicia com a ação dos osteoblastos, que são originados a partir da diferenciação, de pré-osteoblastos, pertencentes a linhagem de células osteoprogenitoras das células tronco da medula óssea (CTM) e do periósteo (ROBLING; CASTILLO; TURNER, 2006) no processo denominado diferenciação osteogênica. As células precursoras de osteoblastos mudam seu formato, partindo de fusiforme para cuboide, se tornando assim, pré-osteoblastos, que se diferenciam do seu estágio maduro pela significativa expressão de fosfatase alcalina (CLARKE, 2008). Após atingir o estágio final, o osteoblasto exerce suas funções, basicamente de síntese do osteoide (MACKIE, 2003).

A fim de realizar a diferenciação há estímulos de diversos mediadores, cujas funções ainda são pouco elucidadas. Dentre eles, podem-se citar fatores de transcrição gênica, como Runx2, Osx e Wnt (FRANCESCHI et al., 2009; ROBLING; CASTILLO; TURNER, 2006); fatores de crescimento, como TGF- β e IGF-1; hormônios como o PTH, 1,25-diidroxicolecalciferol (DATTA et al., 2008), triiodotironina (BOELONI et al., 2009) e estrógeno (MARIE, 2001); proteínas como a β -catenina (CLARKE, 2008) e as proteínas morfogenéticas ósseas, BMP-2 e BMP-4 (ABE et al., 2000).

O osteoblasto ativo recobre a lacuna onde ocorreu a reabsorção, e inicia a deposição da matriz orgânica composta pelo colágeno tipo I, e substância fundamental, que compreende os proteoglicanos e glicoproteínas (HALL, 2011; LAZARETTI-CASTRO; BIANCO, 2012). Os monômeros de colágeno rapidamente se organizam formando polímeros em forma de fibras, resultando na formação do osteoide. Cerca de 70% da matriz óssea formada sofre mineralização em até três semanas após ser sintetizada, enquanto os 30% restantes adquirem os cristais de hidroxiapatita de forma gradual, levando de 3 a 5 meses para o preenchimento completo da lacuna (LAZARETTI-CASTRO; BIANCO, 2012; NUNES; NUNES, 1988;).

A mineralização acontece com a exocitose de vesículas contendo cálcio e fosfato, mas a formação dos cristais de hidroxiapatita não é imediata. Inicialmente, os sais depositados são amorfos, constituídos principalmente por $\text{CaPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $3\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (HALL, 2011). Como a concentração dos minerais excede o produto de solubilidade (Ca 2:1 P), o pirofosfato inorgânico inibe a ligação entre os minerais. Para tanto, o osteoblasto secreta a fosfatase alcalina, que cliva os grupamentos fosfato, permitindo assim a mineralização (LAZARETTI-CASTRO; BIANCO, 2012). O processo de formação de hidroxiapatita também pode ocorrer por substituição de átomos ou por reabsorção dos minerais amorfos e nova precipitação, ocorrendo então a conversão para a forma cristalizada final (HALL, 2011).

Assim que o osteoblasto se encontrar envolto pela matriz óssea, este passa a ser denominado osteócito, e perde a capacidade de sintetizar o osteoide e de mineralizá-lo, passando a expressar moléculas como a matriz dentinária-1 (DMP-1), fosfoglicoproteína extracelular de matriz (MEPE) e esclerostina (BONEWALD, 2006; ROBLING; CASTILLO; TURNER, 2006). Ao contrário do que parece, o osteócito é um componente celular metabolicamente ativo, que mantém a homeostase do cálcio extracelular por meio da reabsorção óssea por osteólise osteocítica. Além da ação reguladora dos osteócitos, tais células ainda são capazes de orientar o processo de remodelamento ósseo, de forma a levar a adaptações na estrutura e densidade óssea de acordo com as forças biomecânicas por ele detectadas (BONEWALD, 2006; LAZARETTI-CASTRO; BIANCO, 2012).

Assim, a formação óssea pode ser regulada por estimuladores de diferenciação osteogênica, como IGF, PDGF, FGF e EGF, ou por moduladores da síntese da matriz óssea, como PTH, 1,25-diidroxicolecalciferol, GH, glicocorticoides, hormônios tireoidianos e calcitonina. Apesar de aumentar a massa óssea por mecanismos que permanecem indefinidos, o PTH e o 1,25-diidroxicolecalciferol reduzem a síntese de colágeno nos osteoblastos, contribuindo também para redução da osteogênese. Contudo, a calcitonina aumenta a massa óssea por estímulo indireto, através da inibição de osteoclastos. As prostaglandinas E (PGE) também são fatores reguladores importantes, pois, apesar de reduzir a produção de matriz óssea não mineralizada quando em altas concentrações, estimulam a função osteogênica se em menores quantidades (LAZARETTI-CASTRO; BIANCO, 2012).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto, pode-se notar que o osso é uma estrutura complexa, tanto ao nível histológico quanto em relação à sua fisiologia, ainda sendo necessárias muitas pesquisas a fim de elucidar completamente todos os aspectos relacionados à biologia deste tecido.

6 AGRADECIMENTOS

À Anna Weigand, pelo auxílio nas fotografias dos ossos.

7 REFERÊNCIAS

- ABE, E. et al. Essential requirement of BMPs- 2/4 for both osteoblast and osteoclast formation in murine bone marrow cultures from adult mice: antagonism by noggin. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 15, p. 663-673, 2000.
- ALLAIN, T.J.; YEN, P.M.; FLANAGAN, A.M. et al. The isoform-specific expression of the tri-iodothyronine receptor in osteoblasts and osteoclasts. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 26, p. 418-425, 1996.
- BILEZIKIAN, J. P; RAISZ, L. G. RODAN, G. A. **Principles of bone biology**. San Diego: Academic Press; 1996.
- BLAND, R. Steroid hormone receptor expression and action in bone. **Clinical Science**, v. 98, p. 217-240, 2000.
- BOELONI, J. N. et al. Dose-dependent effects of triiodothyronine on osteogenic differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells. **Hormone Research in Paediatrics**, v. 71, p. 88-97, 2009.
- BONEWALD, L. Osteocytes as multifunctional cells. **Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions**, v. 6, p. 331-333, 2006.
- BOYLE, W. J.; SIMONET, W. S.; LACEY, D. L. Osteoclast differentiation and activation. **Nature**, v. 423, p. 337-342, 2003.
- CLARKE, B. Normal bone anatomy and physiology. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 3, n. 3, p. S131-S139, 2008.
- COHEN, M. M. Jr. The new bone biology: Pathologic, molecular, clinical correlates. **American Journal of Medical Genetics Part A**, v. 140, p. 2646-2706, 2006.
- COMPSTON, J.E. Bone marrow and bone: a functional unit. **Journal of Endocrinology**, v. 173, p. 387-394, 2002.
- DATTA, H. K. et al. The cell biology of bone metabolism. **Journal of Clinical Pathology**, v. 61, p. 577-587, 2008.
- FRANCESCHI, R. T. et al. Transcriptional regulation of osteoblasts. **Cells Tissues Organs**, v. 189, p. 144-152, 2009.
- GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. Cartilagem e osso. In: _____ **Tratado de Histologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. Cap. 4, p. 80-107.
- GETTY, R. Osteologia geral. In: SISSON, S.; GROSSMAN, J. D. **Anatomia dos animais domésticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. Cap. 2, p. 19-32.

- GRUBER, R. et al. Expression of the vitamin D receptor, of estrogen and thyroid hormone receptor α - and β -isoforms, and of the androgen receptor in cultures of native mouse bone marrow and of stromal/osteoblastic cells. **Bone**, v. 24, p. 465-473, 1999.
- HADJIDAKIS, D. J.; ANDROULAKIS, I. I. Bone remodeling. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1092, p. 385-396, 2006.
- HALL, J. E. Paratormônio, calcitonina, metabolismo de cálcio e fosfato, vitamina D, ossos e dentes. In: _____ **Tratado de fisiologia médica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. Cap. 79, p. 1005-1023.
- JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. Tecido ósseo. In: _____ **Histologia básica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. Cap. 8, p. 131-148.
- KIM, C. H. et al. Thyroid hormone stimulates basal and interleukin (IL)-1-induced IL-6 production in human bone marrow stromal cells: a possible mediator of thyroid hormone-induced bone loss. **Journal of endocrinology**, v. 160, p. 97-102, 1999.
- LAZARETTI-CASTRO, M.; BIANCO, A. C. Fisiologia do metabolismo osteomineral. In: AIRES, M. M. **Fisiologia**. 4. ed – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. Cap. 76, p. 1199-1123.
- LIEBICH, H-G.; FORSTENPOINTNER, G.; KÖNIG, H. E. Introdução e anatomia geral. In: KÖNIG, H. E; LIEBICH, H-G. **Anatomia dos animais domésticos**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. Cap. 1, p. 21-68.
- LOWREY, G. H. **Growth and development of children**. 8. ed. Chicago: Year Book Medical Publishers, Inc. Scott SS, 1986.
- MACKIE, E. J. Osteoblasts: novel roles in orchestration of skeletal architecture. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 35, p. 1301-1305, 2003.
- MARIE, P. J. The molecular genetics of bone formation. **American Journal of Pharmacogenomics**, v. 1, p. 175-187, 2001.
- NUNES, I. J.; NUNES, V. A. Doenças metabólicas do osso. **Cadernos Técnicos – Escola de Veterinária UFMG**, n. 3, p. 1-66, 1988.
- OCARINO, N. D. M. et al. Physical activity in osteopenia treatment improved the mass of bones directly and indirectly submitted to mechanical impact. **Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions**, v. 7, p. 84-93, 2007.
- RIGGS, B. L.; PARFITT, A. M. Drugs used to treat osteoporosis: the critical need for a uniform nomenclature based on their action on bone remodeling. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 20, p. 177-184, 2005.
- ROBLING, A. G.; CASTILLO, A. B.; TURNER, C. H. Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. **Annual Review of Biomedical Engineering**, v. 8, p. 455-498, 2006.

ROSS, F. P.; TEITELBAUM, S. L. $\alpha\beta3$ and macrophage colonystimulating factor: Partners in osteoclast biology. **Immunological Reviews**, v. 208, p. 88–105, 2005.

SERAKIDES, R. Ossos e articulações. In: SANTOS, R. de L.; ALESSI, A. C. **Patologia veterinária**. São Paulo: Roca, 2016. Cap. 11, p. 619-661.

TAICHMAN, R. S. Blood and bone: Two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem cell niche. **Blood**, v. 105, p. 2631–2639, 2005.

TEITELBAUM, S. L.; ABU-AMER, Y.; ROSS, F. P. Molecular mechanisms of bone resorption. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 59, p. 1–10, 1995.

TEITELBAUM, S. L.; ROSS, F. P. Genetic regulation of osteoclast development and function. **Nature Reviews Genetics**, v. 4, p. 638–649, 2003.

VAANANEN, H. K. et al. The cell biology of osteoclast function. **Journal of Cell Science**, v. 113, p. 377–381, 2000.



Capítulo
6

Obstetrícia veterinária para clínicos de pequenos animais

Caroline Sant' Anna Feitosa¹
Hévila Dutra Barbosa de Cerqueira²
Karina Preising Aptekmann³
Leonardo Oliveira Trivilin⁴

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: caroline.mvet@gmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: hevila.veterinaria@hotmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: kapreising@gmail.com

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: leotrivilin@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

A área de reprodução de pequenos animais tem crescido nos últimos anos, e se tornado destaque na economia brasileira. Com a aplicação de biotecnologias na reprodução de pequenos animais – principalmente na reprodução canina – houve uma maior necessidade de assistência obstétrica às cadelas: desde a inseminação até o parto (LÚCIO, 2008). Em contrapartida, a neonatologia veterinária é uma área ainda pouco explorada pelos centros de ensino e pelos profissionais médicos veterinários (WILBORN, 2018).

Junto a este cenário vem-se ampliando também a seleção genética nos animais de companhia, processo este que não leva em consideração fatores obstétricos, portanto, uma série de raças puras apresentam incompatibilidade materno/fetal, resultando em distocia (LÚCIO, 2008). A distocia é a principal causa de mortalidade neonatal em cães e gatos, não obstante, também pode culminar em óbito da parturiente. Por ser mais comum em animais de raças puras do que em animais de raças mistas, e considerando o valor zootécnico destes animais, – além da perda sentimental que a morte de um animal de estimação representa para a família –, a mortalidade neonatal/materna resulta em prejuízos financeiros para os criadores (BECCAGLIA et al., 2016).

Esta situação enfatiza a importância da previsão da data de parto em caninos e felinos, possibilitando que proprietários/criadores estejam atentos aos sinais de parto eutócico/distócico e busquem intervenção médica veterinária o mais rápido possível, em caso de distocia, além de permitir um melhor manejo e preparo para receber a nova ninhada (BECCAGLIA et al., 2016). Portanto, conhecer os processos normais do trabalho de parto e saber identificar o grau de anormalidade, quando houver, e informar ao proprietário sobre a perspectiva de sobrevivência fetal e materna são características indispensáveis a um bom veterinário (JACKSON, 2015; MAX; JURKA, 2013).

Durante a gestação a fisiologia materna encontra-se alterada, e da mesma forma, a fisiologia fetal e neonatal diferem da fisiologia adulta. Além do mais, a suspeita de partos distócicos devem ser tratadas como emergência requerendo rápida e completa avaliação clínica da mãe e investigação do estado de sofrimento dos fetos. O tratamento da distocia pode ser realizado por manobras obstétricas, aplicações de medicamentos, ou até mesmo submetendo a paciente à cesariana; ou ainda, a associação entre estes (LUZ; FREITAS; PEREIRA, 2005; PETERSON; KUTZLER, 2011). Este capítulo tem por objetivo reunir as principais informações sobre parto e cuidados neonatais em pequenos animais que um médico veterinário deve conhecer para garantir a saúde materna e fetal.

2 GESTAÇÃO

O tempo de gestação compreende o intervalo entre o acasalamento fértil e o parto, período este que difere entre as espécies. Nas gatas, o período gestacional dura em média, cerca de 66 dias – podendo variar de 64 a 71 dias, ao passo que, nas cadelas, em função de sua fisiologia reprodutiva – as cadelas podem ovular em qualquer momento durante o estro – a determinação do tempo gestacional, com base na data de acasalamento é menos precisa, mas dura em média 63 ± 7 dias, contando a partir do primeiro acasalamento (NELSON; COUTO, 2015). No entanto, a raça e tamanho da ninhada, podem interferir no tempo de gestação: ninhadas grandes tendem a ter uma menor gestação do que pequenas ninhadas, especialmente na síndrome do filhote único, e raças pequenas tendem a gestar poucos filhotes (SMITH, 2012).

Animais multíparos, como cadelas e gatas, podem liberar de 3 a 15 óvulos por período ovulatório, no entanto pode ocorrer mortalidade embrionária no início da gestação de cerca de 20 a 40% dos embriões. Os fetos, como são numerosos, se distribuem ao longo dos cornos uterinos onde se fixam, e ao nascimento, o peso dos filhotes corresponde de 1 a 3% do peso da mãe (PRESTES; LANDIM-ALVARENGA, 2006).

Em cadelas com acasalamento múltiplo, ou que não se saiba a data do acasalamento, a ultrassonografia, tanto precoce quanto tardia, consiste numa boa ferramenta para predição da possível data de parto (ALVES; MACHADO; CARREIRA, 2016; LUVONI; GRIONI, 2000).

É importante salientar que durante a gestação ocorrem algumas alterações fisiológicas na gestante, em função da maior exigência metabólica a fim de nutrir e desenvolver os fetos, dentre essas alterações podem ser citadas: (1) aumento do volume plasmático – para compensar a perda de sangue e líquidos que ocorrerão no momento do parto –, levando à uma anemia normocítica normocrômica; (2) aumento do volume sanguíneo por retenção de eletrólitos, que associado a um aumento da frequência cardíaca, elevam o débito cardíaco; (3) uma redistribuição de sangue para o útero também é observada, aumentando ainda mais durante o terço final da gestação; (4) compressão do diafragma pelo útero gravídico, causando uma menor capacidade residual dos pulmões – ao passo que o consumo de oxigênio aumenta em até 20% durante a gravidez; e (5) aumento de proteínas plasmáticas durante a gravidez e diminuição de albumina e proteína total no momento do parto. Portanto, cuidado especial deve ser tomado ao analisar exames de uma cadela ou gata gestantes, pois alguns resultados fora dos valores de referência esperados para um adulto são na verdade normais, considerando se tratar de uma fêmea gestante (ETTINGER; FELDMAN, 2015, HENRIQUE et al., 2015; KUSTRITZ, 2010).

3 PARTO NORMAL

O planejamento do parto é uma importante medida a ser tomada pelos proprietários de cães e gatos com o objetivo de reduzir as perdas de proles a matrizes, uma vez que o parto é considerado um evento crítico na vida de mães e filhotes. Métodos preditivos da data do parto (dosagens hormonais e ultrassonografia) viabilizam este planejamento (BECCAGLIA et al., 2016).

O parto normal ou eutócico consiste num processo fisiológico de expulsão do feto e seus envoltórios, para tanto, ocorre dilatação da via de saída do feto e desencadeamento de contrações uterinas e abdominais, resultando no nascimento dos indivíduos (PRESTES; LANDIM-ALVARENGA, 2006). Não existe uma demarcação clara entre os estágios do parto, uma vez que o trabalho de parto é um processo contínuo, no entanto, para facilitar a descrição deste processo, habitua-se a dividir o parto em três estágios (JACKSON, 2015).

De modo geral, o primeiro estágio (Fase I) é clinicamente inaparente, onde ocorre o relaxamento e dilatação da cérvix, o feto adota sua posição para o nascimento e iniciam leves

contrações uterinas, que não podem ser visualizadas a olho nu, apenas com ajuda de ultrassonografia (JACKSON, 2015; KUSTRITZ, 2010; NELSON; COUTO, 2015).

Na cadela, esse estágio dura de 4 a 24 horas, e faz com que a fêmea apresente inquietação, carência, preparação do ninho, pode ainda apresentar febre, vômito, anorexia, tremores, mostrar-se ofegante e observar constantemente o flanco. Esses sinais aumentam progressivamente à medida que se aproxima a Fase II do parto. Cadelas ansiosas tendem a sofrer mais com os eventos preparatórios do parto, buscando incessantemente a proximidade de seus proprietários. As gatas também podem apresentar inquietação, confecção do ninho, vocalização e ronronar alto, porém, nesta espécie o primeiro estágio do parto tende a ser mais curto, variando entre 2 a 12 horas (JACKSON, 2015; KUSTRITZ, 2010, SMITH, 2012).

No segundo estágio do parto (Fase II) ocorrem as contrações uterinas mais consistentes, o feto entra no canal do parto e iniciam as contrações abdominais, que são visíveis pelos proprietários ou veterinários. É nesse estágio que ocorre a liberação do líquido amniótico e o nascimento dos fetos. As contrações podem ser mais intensas em cadelas de raças pequenas, com ninhadas pouco numerosas, onde observa-se fetos grandes para o tamanho do canal pélvico materno. Após a observação do início das contrações, o primeiro filhote deve nascer em no máximo quatro horas e o intervalo entre os nascimentos não deve ser superior a duas horas (em média há duração de 1 hora por nascimento) (DARVELID; LINDE-FORSBERG, 1994; KUSTRITZ, 2010).

Nas gatas, a eliminação dos filhotes costuma ocorrer entre cinco a 60 minutos do início do segundo estágio, e o mesmo vale para o intervalo de tempo entre nascimento dos filhotes. Dessa forma, a Fase II do trabalho de parto nas gatas tende a durar cerca de seis horas. Mas nas primíparas, onde o intervalo entre nascimentos costuma ser maior, as gatas podem ficar até 24 horas nesse estágio. Os filhotes, tanto caninos, quanto felinos, podem nascer recobertos pelo saco amniótico, ou este pode ser rompido durante a passagem pelo canal vaginal (JACKSON, 2015; KUSTRITZ, 2010; NELSON; COUTO, 2015; SMITH, 2012).

O terceiro estágio do parto (Fase III) compreende a expulsão das placentas e limpeza do neonato: a cadela remove as membranas amnióticas, corta o cordão umbilical e come as placentas; lambe e acaricia incessantemente o recém-nascido para estimulá-lo e encorajá-lo a amamentar e movê-lo para mais perto de si para manter sua temperatura corporal, além de estimular a respiração dos filhotes. As fases II e III podem se intercalar a cada nascimento e a placenta pode ser expulsa após o nascimento de cada feto, ou após um grupo de nascimentos, ou ainda ao final do trabalho de parto. No entanto, este estágio não pode perdurar mais do que

2 horas após o nascimento do último filhote tanto em cadelas quanto em gatas (JACKSON, 2015; KUSTRITZ, 2010; NELSON; COUTO, 2015; SMITH, 2012).

4 DISTOCIA

Um trabalho de parto que não ocorre como o esperado – eutócico – é denominado distócico, seja por falha em iniciar o parto no momento adequado, ou por falha na expulsão dos fetos, após iniciado o parto (LUZ; FREITAS; PEREIRA, 2005). Entretanto, para que seja possível identificar um parto distócico deve-se conhecer os eventos que se desenrolaram durante a gestação e durante o trabalho de parto da cadela e/ou gata. Dentre os sinais de distocia podem ser citados: expulsão de muco de coloração verde/acastanhada sem nascimento do feto dentro de 1 hora; contrações fracas por mais de 3 horas; contrações fortes e frequentes sem expulsão do feto em no máximo 30 minutos; intervalo entre nascimento superior a 3 horas; fêmea em fase II de parto há mais de 12 horas (PETERSON; KUTZLER, 2011).

Uma das maiores consequências da distocia é a morte – tanto dos filhotes, quanto da mãe – fato que pode ser evitado ou minimizado, (quando se trata do número de mortes da ninhada) se procurado socorro médico veterinário em tempo viável. A taxa de mortalidade da ninhada em um parto distócico aumenta mais do que duas vezes quando a mãe é levada ao veterinário após cinco horas ou mais no estágio II do parto, quando comparado a fêmeas, também em parto distócico, mas que recebem intervenção médico veterinária antes desse tempo. Portanto, a rapidez com que se busca o profissional é um fator determinante na sobrevivência de mães e filhotes frutos de um parto distócico (DARVELID; LINDE-FORSBERG, 1994).

O tempo de gestação da cadela ou gata também merece especial atenção e deve ser monitorado, pois uma das causas de distocia é a inércia uterina, e neste caso, o prolongamento do tempo gestacional é um dos principais indicativos de distocia (DARVELID; LINDE-FORSBERG, 1994).

4.1 DIAGNÓSTICO DE DISTOCIA

O diagnóstico da distocia inclui informações sobre o histórico de gestações/distocias anteriores, se a fêmea recebeu contraceptivos e há quanto tempo ela se encontra em trabalho de parto, bem como se houve expulsão de algum feto e há quanto tempo. Ao exame físico deve-se avaliar a condição geral da mãe, confirmar a gestação, avaliar a viabilidade fetal, realizar exame

digital do canal do parto para avaliar a dilatação cervical ou a presença de algum feto insinuado no canal do parto (LUZ; FREITAS; PEREIRA, 2005; SMITH, 2012).

Exames radiográficos e ultrassonográficos oferecem ricas informações neste momento. A radiografia informa ao clínico e/ou cirurgião, a quantidade de filhotes, o tamanho dos mesmos (se são compatível com o tamanho da mãe), e se a posição fetal adotada para o nascimento está adequada (SMITH, 2012), além de identificar presença de gás intra-uterino, indicativo de morte fetal (BERGSTRÖM et al., 2006).

A ultrassonografia fornece informações mais consistentes sobre a viabilidade fetal e a melhor manobra obstétrica a ser realizada, por dar informações em tempo real sobre os conceptos. Fetos com frequência cardíaca abaixo de 180 bpm (batimentos por minuto) estão em sofrimento fetal e frequências cardíacas fetais abaixo de 150 bpm indicam emergência e necessidade de uma cesariana imediata (GORRICHIO et al., 2018; PETERSON; KUTZLER, 2011). Hemograma completo, perfil renal e hepático, além de cálcio e glicose devem ser mensurados nessa paciente a fim de reunir informações sobre o quadro em que ela se encontra (SMITH, 2012).

4.2 CAUSAS DE DISTOCIA

A causa do parto distócico pode ser atribuída tanto à mãe quanto ao filhote. A principal causa materna de distocia é a inércia uterina, que representa também a principal causa de distocia em geral, sendo responsável por cerca de 60% dos casos. Esta condição primária, quando não ocorre contração uterina – normalmente associada à hipocalcemia ou a algum componente hereditário – ou secundária, quando ocorre exaustão da fêmea durante o trabalho de parto – normalmente observados em caso de desproporção feto-pélvica, onde a contração uterina cessa após um período de atividade improdutivo; ou ainda em casos de flacidez muscular (cadelas e gatas de idade avançada ou obesas) (HOSKINS, 2001; JACKSON, 2015; NELSON; COUTO, 2015).

Outra causa materna de distocia é a obstrução do canal do parto – muito comum em fêmeas que sofreram fratura de pelve em algum momento de sua vida, previamente ao parto. A obstrução também pode estar relacionada à alterações nos tecidos moles do canal do parto, como, estenose vaginal, torção e desvio uterino (HOSKINS, 2001; JACKSON, 2015; NELSON; COUTO, 2015).

As causas fetais que levam à distocia podem estar relacionadas à má disposição/apresentação fetal no canal do parto dificultando sua saída, como por exemplo,

apresentar-se com desvio lateral da cabeça; em ventroflexão; apresentar-se de nádegas para o canal do parto, com os membros pélvicos flexionados cranialmente; apresentação de dois fetos simultaneamente no canal do parto, e entre outras posições (ETTINGER; FELDMAN, 2015).

A desproporção feto-pélvica, muito comum na síndrome do filhote único, mas também podendo ser causada por anormalidades fetais (como a hidropsia) também é uma causa de distocia de origem fetal. Nesta condição, o feto cresce muito, chegando a atingir de 4 a 5% do peso materno, inviabilizando sua saída pelo canal do parto. Em raças braquicefálicas, a cabeça grandes dos fetos associada à pelve achatada da mãe são fatores que se somam e culminam em distocia (ETTINGER; FELDMAN, 2015; RODRIGUES et al., 2016).

Nas distocias obstrutivas de causa fetal, se a intervenção médico veterinária não ocorrer em tempo hábil, a obstrução do canal do parto causada por um feto pode levar à óbito os fetos subsequentes, bem como, colocar em risco a vida da mãe (RODRIGUES et al., 2016).

4.3 MANEJO CONSERVADOR NO TRATAMENTO DA DISTOCIA

O tipo de tratamento para a distocia é indicado considerando a presença ou ausência de obstrução e a saúde da fêmea e dos fetos. Em casos de obstrução ou sofrimento fetal, a cesariana deve ser feita imediatamente (HOSKINS, 2001). Quando a obstrução ocorre por causas fetais, o tratamento conservador tem menos chances de ser eficaz (ETTINGER; FELDMAN, 2015).

Manobras manuais podem ser aplicadas se o feto tiver tamanho compatível com o canal vaginal da mãe. Uma má apresentação ou uma má posição pode ser corrigida com uma manipulação cuidadosa do feto, com utilização de lubrificante. Alguns instrumentais cirúrgicos podem ser utilizados nesse processo, porém nem sempre há espaço para utilização dos mesmos. A maneira mais segura e recomendada para auxiliar a mãe neste momento é utilizar os próprios dedos, com ajuda de uma gaze, onde será realizada a tração em sentido caudal/ventral, agindo em sinergismo com as contrações maternas (HOSKINS, 2001; SMITH, 2012).

Caso a tração não seja bem-sucedida, deve-se imediatamente encaminhar a mãe para cirurgia. Se houver apenas um filhote e este estiver preso no canal vaginal, a cirurgia de episiotomia – incisão da comissura dorsal da vulva – pode ser considerada, sob anestesia local, peridural ou geral. Essa fêmea poderá vir a ter problemas futuros de distocia devido ao estreitamento do canal, que ocorrerá após a cicatrização (FOSSUM, 2015; SMITH, 2012).

Uma vez que a causa da distocia não seja obstrutiva, a fêmea esteja saudável, e não haja sofrimento fetal, pode-se suceder com a aplicação de estimulantes da contratilidade uterina, sendo a ocitocina o fármaco de primeira escolha. Pequenas doses de ocitocina de 0,3 a 1,5ml

devem ser administradas inicialmente, por via intramuscular e em até 30 minutos após a aplicação as contrações uterinas iniciam, acelerando a apresentação do feto no canal do parto. Se, após transcorrido esse tempo, a fêmea ainda não apresentar contrações, pode-se reaplicar o medicamento, com a mesma dose ou uma dose maior (respeitando o intervalo de dose recomendado). No entanto, o que se observa é que a maioria das fêmeas que não respondem à primeira aplicação, também não respondem às demais. Quando isso ocorre, o tratamento cirúrgico é indicado (ALLEN, 1995; HOSKINS, 2001; JACKSON, 2015)

A contração do miométrio é dependente do influxo de cálcio, portanto o gluconato de cálcio a 10%, por via subcutânea ou intravenosa, na dose de 0,22 a 0,44 ml/kg também pode ser utilizado em casos de distocias não obstrutivas, normalmente utilizado em associação ao tratamento com ocitocina. Caso a administração seja intravenosa, deve ser realizada lentamente e a gestante deve ser acompanhada quanto ao ritmo e frequência cardíaca, em caso de bradicardia ou arritmia, a aplicação do gluconato de cálcio deve ser suspensa. Novas doses de cálcio podem ser necessárias para a continuação do parto, ou podem ser realizadas novas aplicações de ocitocina (HOSKINS, 2001; JACKSON, 2015).

Muitos proprietários e veterinários negligenciam a gravidade da situação, pois só tomam qualquer providência quando a mãe começa a demonstrar sinais de sofrimento, mas antes da fêmea demonstrar esse comportamento, seus filhotes já se encontram em sofrimento (NELSON; COUTO, 2015).

4.4 CESÁREA

Quando o tratamento medicamentoso não for bem-sucedido, a cesariana deve ser imediatamente indicada, além de ser o tratamento de primeira escolha para (1) casos obstrutivos (feto de tamanho grande, ou pelve estreita, má posição fetal que não foi possível ser corrigida manualmente ou torção uterina); (2) identificação de sofrimento fetal, mesmo que a fêmea apresente contrações adequadas; (3) quando o trabalho de parto coloca a vida da fêmea em risco; ou (4) quando houver alguma doença materna preexistente que impossibilite o parto normal ou ofereça riscos à vida da mãe e/ou dos filhotes (MÜNNICH; KÜCHENMEISTER, 2014; NELSON; COUTO, 2015).

O objetivo da cesárea é extrair todos os fetos do útero gravídico com a maior rapidez possível, normalmente essa é uma prática emergencial para salvar a vida da mãe e dos filhotes em um parto distócico, porém, em raças braquicefálicas, ou em animais com antecedentes de distocia, a cesárea é uma cirurgia eletiva (FOSSUM, 2015).

Fêmeas em quadro distócico muitas vezes chegam à clínica apresentando distúrbio hidroeletrólítico em função do esforço e estresse em decorrência do parto dificultoso. Esses distúrbios precisam ser corrigidos antes da intervenção cirúrgica (FOSSUM, 2015; HENRIQUE et al., 2015). Em fêmeas cujos proprietários não possuem desejos reprodutivos, pode-se aproveitar a cesariana para realizar a ovariossalpingohisterectomia (MARTINS-BESSA et al., 2016).

Apesar da placenta funcionar como uma barreira de proteção para o feto contra substâncias tóxicas exógenas, substâncias de baixo peso molecular e lipossolúveis atravessam a barreira placentária e causam efeito no feto. Diversos medicamentos possuem essas características e conseguiriam ultrapassar esta barreira (LUMB; JONES, 2015; SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2011).

De modo geral, os fetos são mais sensíveis do que a mãe, pois, apesar de serem capazes de metabolizar as drogas no momento em que elas entram em sua circulação, sua atividade microssômica enzimática é reduzida, possui maior permeabilidade hematoencefálica e sua função renal é deficiente. Portanto, doses de medicamentos não tóxicas para a mãe, podem intoxicar ou até mesmo ser letal para o feto (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2011).

Compreender as mudanças fisiológicas materna e fetal que ocorrem durante a prenhez é de suma importância para determinar um protocolo anestésico seguro. Protocolos que incluem propofol e isoflurano são os que causam menos mortalidade materna e mais vigor neonatal. Xilazina, cetamina e metoxiflurano devem ser evitados em protocolos anestésicos para cesariana, pois estão relacionados com a redução do vigor neonatal e até mesmo à mortalidade neonatal e materna. A seleção de anestésicos adequados e o bom manejo perioperatório minimizam os riscos para mãe e filhotes, ajudam a reduzir a mortalidade materna e neonatal e aumentam o vigor neonatal (RYAN; WAGNER, 2006).

O decúbito dorsal adotado durante a cirurgia acaba levando à compressão da aorta abdominal e da veia cava caudal pelo útero gravídico, o que causa redução do retorno venoso e débito cardíaco, reduzindo o fluxo sanguíneo renal e uterino. Esta é uma condição extremamente importante a ser considerada no trans e pós-operatório, motivo pelo qual a cirurgia cesariana deve ser realizada com certa agilidade (LUMB; JONES, 2015).

Estudos mostraram que se o acompanhamento obstétrico for bem realizado, e se a intervenção obstétrica for realizada dentro do período correto, a cesárea e o tratamento conservador possuem a mesma eficácia, desde que não haja algum fator de impedimento para o parto normal (MAX; JURKA, 2013).

5 RESSUSCITAÇÃO DOS FILHOTES

Após o nascimento, os neonatos devem receber cuidados especiais, considerando suas particularidades fisiológicas, com o objetivo de viabilizar sua sobrevivência e adequado desenvolvimento. Principalmente quando estes nascem por cesariana, e neste caso, um cuidado especial deve ser tomado para que os fetos sejam reanimados, uma vez que a mãe se encontra anestesiada e não poderá fazê-lo (LOURENÇO; MACHADO, 2013).

Caso a mãe não demonstre interesse no recém-nascido em até 1 minuto após o parto, ou se o parto ocorreu por cesariana, deve haver intervenção humana nos cuidados neonatais. As membranas fetais devem ser removidas – com o auxílio de uma compressa umidificada com água morna – limpando primeiramente as narinas e a boca. Com o auxílio de uma seringa ou um dispositivo de sucção, deve ser sugado o muco das vias aéreas (cavidade oral/nasal). Vigorosas fricções torácicas podem ser feitas com o auxílio da gaze, ao mesmo tempo em que se mantém o filhote levemente inclinado, a favor da gravidade. Estas manobras estimulam a respiração e auxiliam na desobstrução das vias aéreas, respectivamente (GOERICKE-PESCH; WEHREND, 2012; SMITH, 2012; WILBORN, 2018).

Nos animais nascidos por cesariana, pode ainda ser observado o acúmulo de líquido no parênquima pulmonar (edema pulmonar) em consequência da (1) depressão respiratória - por ação de fármacos anestésicos e (2) por não sofrerem o estímulo compressivo conferido pela passagem pelo canal vaginal, estímulo esse que induz o reflexo respiratório (SILVA et al., 2008).

Se após as manobras de limpeza e estímulo respiratório o filhote ainda não começar a respirar, uma agulha de calibre 25G pode ser inserida no filtro nasal, no ponto de acupuntura Vaso Governador 26 (VG 26). A intubação de neonatos deve ser realizada em último caso, pois o tamanho diminuto do animal dificulta a técnica havendo grande probabilidade de trauma; uma alternativa a este procedimento consiste na utilização de cateter 12G ou 16G, ao invés do tubo traqueal. Oxigênio também pode ser administrada por meio de máscara de oxigênio, desde que bem ajustada ao animal. Pacientes que continuam sem responder a essas manobras devem receber compressões torácicas na frequência de 1 a 2 compressões por segundo, utilizando os dedos polegar e indicador (WILBORN, 2018).

Nos filhotes que ainda não responderam, ou apresentarem cianose após a limpeza e estimulação descrita anteriormente, deve-se administrar doxapram para estimular a respiração. Se no protocolo anestésico da mãe, foi utilizado opióide, o efeito deste medicamento deve ser antagonizado nos neonatos com o uso de naloxona. A epinefrina é utilizada como último

recurso para ressuscitar o filhote, no entanto, geralmente é ineficaz. A ventilação e as compressões torácicas devem continuar durante as tentativas medicamentosas de ressuscitação (SMITH, 2012; WILBORN, 2018).

Quando o recém-nascido já estiver respirando, deve ser colocado com a mãe. Um recém-nascido saudável começará a mamar imediatamente (PETERSON; KUTZLER, 2011). Filhotes nascidos de cesárea podem apresentar letargia logo após o nascimento em função dos anestésicos utilizados na mãe (SILVA et al., 2008). O cordão umbilical deve ser amarrado ou suturado e embebido em uma solução de clorexidina (PETERSON; KUTZLER, 2011).

Deve-se tomar cuidado caso a mãe demonstre agressividade e não se interesse em cuidar dos filhotes, nesses casos há necessidade de supervisão até que a mãe reconheça a prole, podendo ser necessária uma leve tranquilização com o uso de acepromazina ou aplicação de gotas de ocitocina na narina da mãe, visto que a ocitocina auxilia no desenvolvimento do instinto materno. Fluidos placentários também podem ser esfregados nos filhotes, para facilitar o reconhecimento materno (PETERSON; KUTZLER, 2011).

Um bom método de avaliar a condição imediata do recém-nascido é o Escore de Apgar modificado. Neste método, o neonato é avaliado quanto à frequência cardíaca, presença de esforço respiratório, capacidade de responder a estímulo nervoso, tônus muscular e coloração de mucosa. Pontos são atribuídos a cada um desses quesitos, variando de 0 a 10. Neonatos com Escore de Apgar abaixo de 6 necessitam de intervenção médica, e abaixo de 3 apresentam grandes chances de virem a óbito. Portanto, o Escore de Apgar é um importante método a ser utilizado na neonatologia veterinária como determinante de sobrevivência e prognóstico dos recém-nascidos e recomenda-se que seja realizado imediatamente após a ressuscitação, 30 minutos após e repetindo em 1 e 2 horas (VASSALO et al., 2014; VERONESI et al., 2009; WILBORN, 2018).

Após estabilização, todos os pacientes devem ser investigados quanto à anomalias congênitas, uma vez que algumas delas são incompatíveis com a vida, e é preferível que o animal seja eutanasiado antes de começar a sofrer as consequências de sua má formação (WILBORN, 2018).

6 CUIDADOS NEONATAIS

Em cães e gatos, o período neonatal compreende as primeiras 6 semanas de vida, e o período pediátrico se estende até a 12ª semana de vida (LUMB; JONES, 2015). Animais dessas espécies nascem muito mais imaturos do que neonatos de outras espécies domésticas, e,

portanto, são mais dependentes de cuidados durante os primeiros dias de vida, principalmente aqueles que nasceram por cesareana ou são frutos de um parto distócico (PETERSON; KUTZLER, 2011; SLATTER, 2003).

A transição da vida uterina para a vida externa traz ao recém-nascido uma série de desafios: circulatórios, respiratórios, metabólicos e imunológicos. Esse período da vida de todo indivíduo corresponde a um período de fragilidade e requer cuidados especiais, principalmente em função da imaturidade de várias vias fisiológicas associada à quebra das barreiras físicas, químicas e microbiológicas que o protegiam na vida intra uterina (DOMINGOS; ROCHA; CUNHA, 2008). As três ameaças mais comuns à vida do neonato são: hipotermia, hipoglicemia e desidratação (WILBORN, 2018).

Os neonatos não possuem capacidade termorreguladora eficiente devido a sua menor quantidade de gordura, dificuldade em tremer e gerar calor e incapacidade do hipotálamo de manter o controle da temperatura corporal, sendo, portanto muito susceptíveis à hipotermia. Além disso, a própria anestesia – nos animais que nascem por cesariana – tende a levar o animal à condição hipotérmica, pois reduz a atividade muscular, deprime o centro termorregulador e diminui o metabolismo. Com a redução do metabolismo ocorre bradicardia, redução do débito cardíaco e prolongamento da recuperação anestésica, fatores que pioram ainda mais a hipotermia, levando em última instância à parada cardíaca e à morte (ETTINGER; FELLDMAN, 2015). Portanto, imediatamente após o nascimento, esses pacientes devem ser mantidos em ambiente aquecido ou protegido do frio (SMITH, 2012).

Devido à sua incapacidade de utilizar o glicogênio como fonte de glicose, os recém-nascidos apresentam dificuldade em manter a glicemia normal sem alimentação frequente, sendo muito comumente encontrados em quadros hipoglicêmicos. Da mesma forma, filhotes desidratam com muita facilidade, e as técnicas utilizadas para avaliar o grau de desidratação em adultos, não são confiáveis para serem utilizados nos filhotes. A desidratação nesses pacientes é avaliada estimulando a micção: animais hidratados possuem urina transparente, ao passo que a coloração amarelada na urina indica desidratação (WILBORN, 2018).

Apesar do peso do neonato parecer não ter importância alguma nos primeiros momentos de vida, é necessário que eles sejam pesados após terem suas condições de vida adequadamente estabelecidas, pois sabe-se que os recém nascidos com baixo peso ao nascimento exigem maior atenção do veterinário e do proprietário, para garantir seu adequado desenvolvimento (VANUCCHI et al., 2012; VASSALO et al., 2015). O ganho de peso ideal é de 10% ao dia; a rotina de pesagem diária da ninhada permite identificar os animais que não estejam ganhando, ou que estejam perdendo peso, antes mesmo dos sinais clínicos começarem a aparecer. Causas

de perda de peso em filhotes incluem: agalactia, falta de experiência da mãe em estimular a defecação e micção dos filhotes; septicemia e patógenos virais (WILBORN, 2018).

Os recém-nascidos nascem com o sistema gastrointestinal estéril e vão desenvolver sua própria flora intestinal ao longo dos dias, recebendo influência da mãe e do ambiente em que vivem. Quando iniciam sua amamentação, ingerem o colostro que estimulará a liberação do mecônio. O sistema digestivo do recém-nascido é muito frágil e é facilmente afetado por sua dieta, pelo meio ambiente, ou patógenos, pois a defesa física contra infecções é reduzida no recém-nascido. A produção do ácido clorídrico ainda não está completamente desenvolvida e, portanto, a acidez estomacal nos neonatos é menor do que nos adultos. Como resultado, a defesa contra agentes infecciosos é pequena – uma vez que o ácido clorídrico também tem função de proteção – permitindo assim maior sobrevivência de bactérias e maior suscetibilidade a infecções gastrointestinais (PETERSON; KUTZLER, 2011).

Uma vez que menos que 5% dos anticorpos maternos são passados aos filhotes através da placenta, a ingestão do colostro nas primeiras 24 horas de vida é indispensável para os filhotes adquirirem a imunidade passiva da mãe. Após oito horas do nascimento, a permeabilidade intestinal às imunoglobulinas diminui e após 48 a 72 horas não é mais possível a absorção. Se por algum motivo os filhotes não ingerirem o colostro soro ou plasma por via oral ou subcutânea podem ser administrados para fornecer anticorpos à ninhada. O soro ou plasma podem ser colhidos de qualquer(is) outro(s) animal(is) adulto(s) e saudável(is) pode-se oferecer a eles o soro materno por via oral (PETERSON; KUTZLER, 2011).

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O acompanhamento do período final da gestação, associado ao diagnóstico precoce da distocia, com monitoramento intensivo do trabalho de parto e dos neonatos, bem como a instituição do tratamento correto e mais adequado para cada caso, é fundamental para se obter sucesso no parto e maximizar o número de filhotes vivos e viáveis.

A cesariana é um método seguro, tanto para a mãe quanto para os filhotes, e muito indicado para correção de distocia, porém ao invés de ser a primeira escolha em todos os casos de distocia, o clínico deve saber avaliar adequadamente um parto distócico e indicar a cesariana apenas para aqueles casos em que não for possível uma manobra obstétrica.

Entretanto, a neonatologia é uma área ainda em desenvolvimento da medicina veterinária e que exige conhecimento científico para garantir um auxílio efetivo aos recém-nascidos. Por isso a mortalidade neonatal permanece elevada na medicina veterinária, mesmo

apesar dos consideráveis progressos no desenvolvimento de biotecnologias, aparelhagem, anestesia e terapias de suporte.

8 REFERÊNCIAS

ALLEN, W. E. **Fertilidade e obstetrícia no cão**. São Paulo: Livraria Varela, 1995.

ALVES, L. da S.; MACHADO, V. M. de V.; CARREIRA, J. T. Estimativa da idade gestacional em cadelas utilizando as medias fetais e a organogênese obtidas por ultrassonografia. **Veterinária e Zootecnia**, v. 23, n. 4, p. 604-612, 2016.

BECCAGLIA, M. et al. Determination of gestational time and prediction of parturition in dogs and cats: an update. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 51, n. 1, p. 12-17, 2016.

BERGSTRÖM, A. et al. Primary uterine inertia in 27 bitches: a etiology and treatment. **Journal of Small Animal Practice**, v. 47, p. 456-60, 2006.

DARVELID, A. W.; LINDE-FORSBERG, C. Dystocia in the bitch: a retrospective study of 182 cases. **Journal os Small Animal Practice**, v. 35, n. 8, p. 402 – 407, 1994.

DOMINGOS, T. C. S.; ROCHA, A. A.; CUNHA, I. C. N. Cuidados básicos com a gestante e o neonato canino e felino: revisão de literatura. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, v. 1, n. 2, p. 94- 120, 2008.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Textbook of internal medicine**. 7. ed. Missouri: Elsevier Saunders, 2011.

FOSSUM, T. W. **Cirurgia de pequenos animais**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

GOERICKE-PESCH, S.; WEHREND, A. New method for removing mucus from the upper respiratory tract of newborn puppies following caesarean section. **Veterinary Record**, v. 170, n. 11, p. 289-293, 2012.

GORRICHIO, C. M. et al. Ultrassonografia obstétrica em cadelas. **Nucleus Animalium**, v. 10, n. 1, p. 71-86, 2018.

HENRIQUE, F. V. et al. Distocia materna pós inércia uterina primária associada ao choque hipoglicêmico em cadela: relato de caso. **Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoologia na UNIPAR**, v. 18, n. 3, p. 179 - 183, 2015.

HOSKINS, J. D. **Veterinary pediatrics: dogs and cats from to six months**. 3. ed. Philadelphia: Saunders. 2001.

JACKSON, P. G. G. **Obstetrícia veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2015.

KUSTRITZ, M. V. R. **Clinical canine and feline reproduction: evidence-based answers**. 1. ed. Hong Kong: Wiley-Blackwell, 2010.

- LOURENÇO, M. L.G.; MACHADO, L. H. A. Características do período de transição fetal-neonatal e particularidades fisiológicas do neonato canino. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n. 4, p. 303–308, 2013.
- LÚCIO, C. F. **Influência das condições obstétricas ao nascimento sobre padrões de vitalidade e bioquímica neonatal na espécie canina**. 2008. 76 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- LUMB; JONES. Anaesthesia for special patients: cesarean section patients. In: TRANQUILLI, W. J.; THURMON, J. C.; GRIMM, K. A. **Veterinary Anesthesia and Analgesia**. 5. ed. Philadelphia: Blackwell Publishing, 2015.
- LUVONI, G. C.; GRIONI, A. Determination of gestational age in medium and small size bitches using ultrasonographic fetal measurements. **Journal of Small Animal Practice**, v. 47, n. 7, p. 292 - 294, 2000.
- LUZ, M. R.; FREITAS, P. M. C.; PEREIRA, E. Z. Gestação e parto em cadelas: fisiologia, diagnóstico de gestação e tratamento das distocias. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 29, n. 3/4, p. 142 - 150, 2005.
- MARTINS-BESSA, A. et al. Reproductive emergencies in the bitch: a retrospective study. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**, v. 66, n. 4, p. 231–240, 2016.
- MAX, A.; JURKA, P. Effectiveness of obstetric procedures in miniature dogs. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v. 57, n. 3, p. 419–423, 2013.
- MÜNNICH, A.; KÜCHENMEISTER, U. Causes, diagnosis and therapy of common diseases in neonatal puppies in the first days of life: cornerstones of practical approach. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 49, n. 2, p. 64 - 74, 2014.
- NELSON, C.; COUTO, R. **Medicina interna de pequenos animais**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
- PETERSON, M. E.; KUTZLER, M. A. **Small animal pediatrics: the first 12 months of life**. 1. ed. Saunders: Philadelphia, 2011.
- PRESTES, N. C.; LANDIM-ALVARENGA, F. da C. **Obstetrícia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabra Koogan, 2006.
- RODRIGUES, D. S. de A. et al. Hidropsia fetal em neonato de cadela da raça bulldog francês - relato de caso. **PUBVET**, v. 10, n. 6, p. 466-469, 2016.
- RYAN, S.; WAGNER, A. E. C-section in dogs: anesthetic management. **Compendium**, v. 28, n. 1, p. 44–56, 2006.
- SILVA, L. C. G. et al. Canine neonatal clinical, hemogasometric and radiographic assessment in eutocis, vaginal dystocia or cesarean section. 6° **International Symposium on Canine and Feline Reproduction**. Austria, 2008.

- SLATTER. **Textbook of small animal surgery**. 1. ed. Philadelphia: Manole, 2003.
- SMITH, F. O. Guide to emergency interception during parturition in the dog and cat. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 42, n. 3, p. 489–499, 2012.
- SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 5. ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2011.
- VANUCCHI, C. I. et al. Prenatal and neonatal adaptations with a focus on the respiratory system. 7^o International Symposium on Canine and Feline Reproduction. **Anais...Canadá**: 2012
- VASSALO, F. G. et al. Escore de Apgar: história e importância na medicina veterinária. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 38, n. 1, p. 54 - 59, 2014.
- VASSALO, F. G. et al. Topics in the routine assessment of newborn puppy viability. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 30, n. 1, p. 16–21, 2015.
- VERONESI, M. C. et al. An apgar scoring system for routine assessment of newborn puppy viability and short-term survival prognosis. **Theriogenology**, v. 72, p. 401-407, 2009.
- WILBORN, R. R. Small animal neonatal health. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 48, n. 4, p. 683-699, 2018.



Capítulo
7

Sarcopenia em cães – revisão de literatura

Mayara Fernanda da Silva¹
Raphaella Pereira Paixão²
Luiz Filippe Simão Soares³
Franciely Mota de Oliveira⁴
Hévila Dutra Barbosa de Cerqueira⁵
Caroline Sant' Anna Feitosa⁶
Marieta Cristina Couto Kuster⁷
Daniela Fernandes Souza⁸
Lais Regina Ferreira Magnago⁹
Mariana Nogueira Gonçalves¹⁰
Carolina Machado Santos¹¹
Thiago Saloto Abreu Rezende¹²
Karen Carvalho Machado¹³
Karina Preising Aptekmann¹⁴

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mayara.fernanda201@gmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: raphapaixao28@gmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: luizfilippe.soares@gmail.com

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: francielymota94@gmail.com

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: hevila.veterinaria@hotmail.com

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: caroline.mvet@gmail.com

⁷ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: marieta.kuster@hotmail.com

⁸ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: dfsouza01@yahoo.com.br

⁹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: lais.magnago@hotmail.com

¹⁰ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mariana.nogueira@outlook.com

¹¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: car0lnamachado@hotmail.com

¹² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: salotorezende93@gmail.com

¹³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: karen.carvalho@hotmail.com

¹⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: kapreising@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

Atualmente existe um interesse crescente pela saúde e bem-estar dos cães idosos, sendo que esses animais representam de 30-40% da população canina e esse índice tende a aumentar. Esse grupo etário possui maior necessidade de cuidados e atenção, sendo que eles são mais susceptíveis a terem doenças crônicas (METZGER, 2005).

A sarcopenia é uma doença que acomete animais idosos, sendo ela decorrente da redução de massa magra corporal, que pode ser ocasionada devido a problemas multifatoriais, como a falta de atividade física, o aumento da produção de citocinas, e a diminuição da síntese proteica do músculo (HERBST et al., 2007). Deve-se diferenciar a sarcopenia da caquexia, que também se caracteriza pela perda muscular e por ser mais comum em animais mais velhos, porém a caquexia é uma síndrome metabólica complexa que acompanha doenças subjacentes (FREEMAN, 2012). As doenças que mais se observa nos animais com caquexia é a doença renal crônica, doença pulmonar obstrutiva crônica, câncer e insuficiência cardíaca congestiva (VON HAEHLING et al., 2009).

Ainda não existe um método de eleição ou específico para se fazer o diagnóstico de sarcopenia em cães. Estudos propõem realizar uma análise da massa muscular, velocidade de caminhada em cães jovens e idosos, comparando assim os resultados entre esses dois grupos (FREEMAN, 2012). Exames complementares para avaliar a perda da musculatura incluem tomografia computadorizada (TC), radiografia, ultrassonografia, ressonância magnética (RM) e densitometria por dupla emissão de raios-X (DEXA) (BULLEN et al., 2017; FREEMAN, 2012; HUTCHINSON et al., 2012).

O diagnóstico da sarcopenia é importante, pois ela está associada a um aumento da morbidade e mortalidade, tendo efeito importante sobre a força do animal (FREEMAN, 2012). Possibilitando uma maior ocorrência de fraturas, interferindo, assim, na qualidade de vida (CRUZ-JENTOFT et al., 2014). Em pessoas, estudos sugerem fazer um tratamento com o objetivo de melhorar a absorção de nutrientes e modificar as alterações metabólicas para prevenir e reverter os efeitos da sarcopenia, porém essas intervenções ainda não foram muito estudadas em animais (FREEMAN, 2012).

2 DEFINIÇÃO E PREVALÊNCIA

A sarcopenia é caracterizada pela perda de massa muscular com prejuízo de função, que ocorrem com a idade (DODDS; SAYER, 2014). É um processo multifatorial, no qual a redução na massa magra geralmente é decorrente de uma redução na síntese de proteínas específicas da musculatura e aumento da proteólise (PAGANO et al., 2015; SAYER et al., 2013).

Na medicina, é considerada um dos principais problemas clínicos em pessoas idosas (DODDS; SAYER, 2014). Na veterinária, poucos estudos foram realizados, entretanto, já foi descrita sua ocorrência em cães. A comprovação da perda de massa muscular, por meio da histopatologia, já foi descrita em cães com mais de 15 anos (PAGANO et al., 2015), e por meio

da utilização de ultrassonografia e tomografia, em cães da raça Labrador, com mais de 8 anos de idade (HUTCHINSON et al., 2012). Ainda, em estudo a longo prazo, verificou-se a redução na massa magra em 48 cães Labradores (LAWLER et al., 2008). Apesar das evidências de sarcopenia em cães, em estudo com 105 cães das raças Labrador, Great Danes e Papillon, observou-se que a massa magra se manteve no decorrer da idade, entretanto, não foi possível determinar qual a idade de cada animal, e nem determinar quantos eram idosos (SPEAKMAN; ACKER; HARPER, 2003).

3 FISIOPATOGENIA

Para que haja a perda da massa muscular, deve haver apoptose (morte celular programada), proteólise, que pode ser causado pelo processo de autofagia, pelas proteases ativadas por cálcio e pelo sistema ubiquitina-proteossomo e, por fim, pela redução na ativação das células satélites, que são responsáveis por auxiliar na regeneração muscular (TEIXEIRA; FILIPPIN; XAVIER, 2012).

A morte celular programada é responsável por manter a homeostase dos tecidos, porém ainda não está bem esclarecida o seu papel no músculo esquelético. No estágio inicial da apoptose ocorre envolvimento de sinais indutores de morte celular o que leva ao desequilíbrio da regulação de cálcio livre, além de alterar a composição de algumas proteínas (PRIMEAU; ADHIHETTY; HOOD, 2011). Em seguida, os receptores de superfície celular ou vias mitocondriais são ativados, causando o desencadeamento de eventos citoplasmáticos e nucleares, levando a morte celular (CANDE et al., 2004).

A proteólise muscular resulta de uma desproporção entre a degradação e a síntese de proteínas. Os sistemas proteolíticos que podem levar a degradação muscular é o processo de autofagia, as proteases ativadas por cálcio, como a calpaina e as caspases, e o sistema ubiquitina-proteossomo (TEIXEIRA; FILIPPIN; XAVIER, 2012).

Quando há privação prolongada de nutrientes no organismo, ocorre a autofagia, onde as células se auto consomem, incluindo o citosol e as organelas celulares, sendo lisossomo-dependente (LUM; DEBERARDINIS; THOMPSON, 2005). Em estudo realizado *in vitro*, com cultura de miócitos e com ausência de aminoácidos, observou-se que o aumento do catabolismo proteico ocorre, principalmente, pela indução de autofagia (MORDIER et al., 2000).

As calpains constituem uma via de degradação de proteínas de células eucarióticas, sendo essas proteases dependente de cálcio livre citoplasmático. Elas não são capazes de degradar diretamente a proteína contrátil do músculo, porém as calpains conseguem clivar as

proteínas que ancoram o complexo actina-miosina (KOH; TIDBALL, 2000). Já as caspases não dependem de cálcio, sendo elas capazes de clivar outras proteínas (TEIXEIRA; FILIPPIN; XAVIER, 2012). Essa protease é capaz de clivar a actina, desfazendo o complexo actina-miosina e liberando essas proteínas para serem destruídas por outros complexos proteolíticos (DU et al., 2004).

O sistema ubiquitina-proteossomo é um dos principais envolvidos no desenvolvimento da sarcopenia, em que ocorre uma degradação proteica não lisossomal (NAUJOKAT; BERGES, 2007; PAGANO et al., 2015).

As células satélites são precursores miogênicos quiescentes, estando entre a lâmina basal e o sarcolema da musculatura adulta, e possuem algumas características de célula-tronco (CASSANO et al., 2009). Estímulos de crescimento, remodelamento ou lesão muscular causam a ativação das células satélites (MORGAN; PARTRIDGE, 2003). Isso faz com que elas se diferenciem em mioblastos e que posteriormente formem os miotubos, que são responsáveis por se fundir com outras fibras musculares ou se tornarem uma nova. Isso ocorre para que seja possível que novas fibras musculares reparem outras miofibras lesadas ou causem uma hipertrofia muscular (YAMADA et al., 2008). Ainda não está bem esclarecido qual a via de ativação dessas células satélites, porém, acredita-se que essa ativação, para tentar regenerar o músculo que foi atrofiado, não seja suficiente para compensar a perda de proteína que ocorre na sarcopenia e/ou que a miogênese não esteja sendo completada por ocorrência da apoptose (TEIXEIRA; FILIPPIN; XAVIER, 2012).

A sarcopenia tem como consequência a modificação de estruturas, tais como redução de massa e fibras musculares e aumento de fibras tipo I. Todas essas alterações são responsáveis em causar fraqueza muscular, redução da força e resistência (NAIR, 2005). A atrofia da musculatura causa a diminuição do tamanho e da quantidade de fibras musculares, que acaba contribuindo para a redução da massa muscular (DIRKS; LEEUWENBURGH, 2012). Na musculatura existe a fibra tipo I, que realiza a contração lenta e são aeróbias; e as fibras tipo II de contração rápida e anaeróbias. Na sarcopenia é observado que as fibras tipo I possuem menos atrofia relacionada ao envelhecimento, já nas fibras tipo II ocorre um declínio bem evidenciado (ZHONG; CHEN; THOMPSON, 2007).

4 DIFERENCIAÇÃO DE SARCOPENIA E CAQUEXIA

Em muitos casos deve-se fazer a diferenciação entre sarcopenia e caquexia. Ambas são caracterizadas pela perda de massa magra corporal, porém, a caquexia está relacionada com

outras doenças primárias, como, principalmente, a doença cardíaca congestiva, doença renal crônica e neoplasias (FREEMAN, 2012).

A perda de peso que ocorre na caquexia é diferente da observada em animais saudáveis, nos quais a gordura é utilizada como fonte primária de energia, não sendo necessário utilizar a massa magra. Nos animais com alguma doença clínica, os aminoácidos que são utilizados como fonte primária de energia, catabolizando, rapidamente, a massa magra (von HAEHLING et al., 2009). O diagnóstico da caquexia deve ser realizado associando-se a perda de massa magra com a presença de alguma doença primária, devendo ser realizados exames complementares para o diagnóstico das doenças mais prováveis em causar caquexia (KARYDIS;TOLIS, 2009). A sarcopenia é caracterizada como perda de musculatura, semelhante ao que ocorre na caquexia, porém, a sarcopenia ocorre durante o envelhecimento e, principalmente, na ausência de outras doenças (CRUZ-JENTOFT et al., 2014). Além disso, na sarcopenia a perda de massa magra costuma ser acompanhada pelo aumento de gordura (FREEMAN, 2012).

5 DIAGNÓSTICO

Atualmente, na medicina, existem quatro meios para o diagnóstico de sarcopenia, sendo eles a TC, RM, DEXA e o índice de massa corporal, sendo que a TC e a RM são consideradas padrão ouro para o diagnóstico (BULLEN et al., 2017). O índice de massa corporal, embora tenha um custo relativamente baixo, tem resultados duvidosos quanto a sua precisão e confiabilidade, pois ele não distingue entre tecido adiposo, musculatura e água (PRADO; HEYMSFIELD, 2014).

Na veterinária, existem pesquisas que utilizam o DEXA, o índice de condição muscular, condição de escore corporal, a TC e a ultrassonografia (HUTCHINSON et al., 2012). Os estudos que utilizaram o DEXA para avaliar a composição muscular durante o envelhecimento dos animais, concluíram que apesar desse método ser um meio viável que fornece a composição corporal, ele também tem limitações quanto aos resultados da massa magra corporal, além de não ser facilmente disponível (HARPER, 1998; KEALY et al., 2002).

O índice de condição muscular é feito por meio do exame visual, palpação do músculo sobre as vértebras torácicas e lombar, ossos pélvicos, escápulas e ossos temporais, sendo classificado 0 quando não há perda muscular, 1 quando a perda é leve, 2 perda muscular moderada e 3 perda muscular grave (BALDWIN et al., 2010). Para classificar a condição de escore corporal, será feita a palpação e inspeção do animal, atribuindo a cada um uma classificação de 1 a 9 de acordo com a escala proposta por Laflamme (1997).

Um estudo realizado com 19 cães da raça labrador, utilizou a ultrassonografia e a TC para avaliar a musculatura epaxial e temporal (BULLEN et al., 2017). Em ambos os exames ficou claro que os animais mais velhos e saudáveis tinham uma área média do músculo epaxial menor, quando comparada com animais jovens e saudáveis. Esse resultado mostra que o ultrassom é um método que pode ser viável para o diagnóstico dessa doença (BULLEN et al., 2017; HUTCHINSON et al., 2012).

Uma avaliação precisa de massa magra pode permitir uma melhor otimização das terapias, sejam elas nutricionais, médicas ou farmacológicas para uso na medicina veterinária. É preciso estabelecer um método de diagnóstico que seja de fácil manipulação e de custo baixo. Mais pesquisas devem ser realizadas para avaliar e padronizar esses métodos de diagnósticos (HUTCHINSON et al., 2012).

6 TRATAMENTO

Na medicina não existe um protocolo único para o tratamento da sarcopenia, por isso ainda é preciso mais estudos que esclareçam quais os melhores métodos que podem ser utilizados. Os estudos que existem atualmente, na medicina, mostram que existe uma relação entre a falta de atividade física e a perda de massa muscular, mostrando que o exercício físico pode estar relacionado a uma atividade protetora da sarcopenia (SAYER et al., 2013).

Além do exercício, a dieta pode ter grande influência na sarcopenia (ROBINSON; COOPER; SAYER, 2012), sendo que a proteína dietética é capaz de fornecer os aminoácidos que são essenciais para a produção da proteína muscular (ANTHONY et al., 2002; DICKINSON et al., 2011). A dieta, com maior concentração de proteína, quando em combinação com a atividade física, tem efeitos positivos sobre a massa e a força muscular (SYMONS et al., 2011). Porém, ainda são necessários estudos mostrando qual é a interação entre nutrição e exercício físico, associando esses dados com as alterações musculares que ocorreram, para que assim possa ser estabelecido um métodos para prevenir e tratar a sarcopenia (KOOPTMAN, 2011).

Com o diagnóstico precoce é possível fazer intervenções nutricionais e clínicas o mais rápido possível e de maneira mais adequada para aquele paciente. A intervenção nutricional, mesmo não sendo capaz de reverter a perda muscular, pode auxiliar, atrasando o processo de perda muscular (EVANS, 2010).

Na veterinária, o tratamento para sarcopenia ainda não está estabelecido, sendo necessário mais estudos para determinar a melhor abordagem em animais idosos com essa

doença. Alguns estudos mostram que dietas com suplementação de ômega-3 pode fornecer benefícios para animais com sarcopenia ou para aqueles que apresentam doenças que predis põem a caquexia (FREEMAN et al., 1998). A atividade física também tem se mostrado um método eficaz no auxílio para manter a massa muscular. Exercícios como uma caminhada pode ser capaz de prevenir a sarcopenia em animais idosos, sendo que o desenvolvimento de métodos de treinamento de resistência para animais também pode ser benéfico para a prevenção da sarcopenia (FREEMAN, 2012).

7 REFERÊNCIAS

ANTHONY, J. C. et al. Orally administered leucine enhances protein synthesis in skeletal muscle of diabetic rats in the absence of increases in 4E-BP1 or S6K1 phosphorylation. **Diabetes**, v. 51, n. 4, p. 928-36, 2002.

BALDWIN, K. et al. AAHA nutritional assessment guidelines for dogs and cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 46, n. 4, p. 285-296, 2010.

BULLEN, L. E. et al. Validation of ultrasonographic muscle thickness measurements as compared to the gold standard of computed tomography in dogs. **Peer Journal**, v. 5, p. 2926, 2017.

CANDE, C. et al. Apoptosis-inducing factor (AIF): Caspase-independent after all. **Nature Publishing Group**, v. 11, p. 591-595, 2004.

CASSANO, M. et al. Cellular mechanisms and local progenitor activation to regulate skeletal muscle mass SpringerLink. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, v. 30, n. 7-8, p. 243-253, 2009.

CRUZ-JENTOFT, A. J. et al. Prevalence of and interventions for sarcopenia in ageing adults: A systematic review. Report of the International Sarcopenia Initiative (EWGSOP and IWGS). **Age and Ageing**, v. 43, n. 6, p. 48-759, 2014.

DICKINSON, J. M. et al. Mammalian target of rapamycin complex 1 activation is required for the stimulation of human skeletal muscle protein synthesis by essential amino acids. **Journal of Nutrition**, v. 141, n. 5, p. 856-62, 2011.

DIRKS, A. J.; LEEUWENBURGH, C. The Role of Apoptosis in Age-Related Skeletal Muscle Atrophy | SpringerLink. **Sports Medicine**, v. 35, n. 6, p. 473-483, 2012.

DODDS, R.; SAYER, A. A. Sarcopenia. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, v. 58, n. 5, p. 464-9, 2014.

DU, J. et al. Activation of caspase-3 is an initial step triggering accelerated muscle proteolysis in catabolic conditions. **Journal of Clinical Investigation**, v. 113, n. 1, p. 115-23, 2004.

EVANS, W. J. Skeletal muscle loss: cachexia, sarcopenia, and inactivity. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 91, n. 4, p. 1123S-1127S, 2010.

FREEMAN, L. M. Cachexia and sarcopenia: Emerging syndromes of importance in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 26, n. 1, p. 3-17, 2012.

HARPER, E. J. Changing perspectives on aging and energy requirements: aging, body weight and body composition in humans, dogs and cats. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 12, p. 2627s-2631s, 1998.

HERBST, A. et al. Accumulation of mitochondrial DNA deletion mutations in aged muscle fibers: Evidence for a causal role in muscle fiber loss. **Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 62, n. 3, p. 235-245, 2007.

HUTCHINSON, D. et al. Assessment of methods of evaluating sarcopenia in old dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 73, n. 11, p. 1794-1800, 2012.

KARYDIS, I.; TOLIS, G. Orexis, Anorexia, and Thyrotropin-Releasing Hormone. **Thyroid**, v. 8, n. 10, 2009.

KEALY, R. D. et al. Effects of diet restriction on life span and age-related changes in dogs. **Journal of American of Veterinary Medical Association**, v. 220, n. 9, p. 1315-20, 2002.

KOH, K. J. T. J.; TIDBALL, J. G. Nitric oxide inhibits calpain-mediated proteolysis of talin in skeletal muscle cells. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 279, n. 3, p. 806-812, 2000.

KOOPMAN, R. Dietary protein and exercise training in ageing. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 70, n. 1, p. 104-13, 2011.

LAFLAMME, D. Development and validation of a body condition score system for dogs. **Canine Practice**, v. 22, n. 4, p. 10-15, 1997.

LAWLER, D. F. et al. Diet restriction and ageing in the dog: major observations over two decades. **Brazilian Journal of Nutrition**, v. 99, n. 4, p. 793-805, 2008.

LUM, J. J.; DEBERARDINIS, R. J.; THOMPSON, C. B. Autophagy in metazoans: cell survival in the land of plenty. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 6, n. 6, p. 05-13, 2005.

METZGER, F. L. Senior and geriatric care programs for veterinarians. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 35, n. 3, p. 743-753, 2005.

MORDIER, S. et al. Leucine limitation induces autophagy and activation of lysosome-dependent proteolysis in C2C12 myotubes through a mammalian target of rapamycin-independent signaling pathway. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 38, p. 290-296, 2000.

MORGAN, J. E.; PARTRIDGE, T. A. Muscle satellite cells. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 35, n. 8, p. 1151-1156, 2003.

NAIR, K. S. Aging muscle. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 5, p. 953-963, 2005.

NAUJOKAT C, F. D., BERGES. Adaptive modification and flexibility of the proteasome system in response to proteasome inhibition. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1773, n. 9, p. 1389-1397, 2007.

PAGANO, T. B. et al. Age related skeletal muscle atrophy and upregulation of autophagy in dogs. **The Veterinary Journal**, v. 206, n. 1, p. 54-60, 2015.

PRADO, C. M.; HEYMSFIELD, S. B. Lean tissue imaging: a new era for nutritional assessment and intervention. **Journal of Parenter Enteral Nutrition**, v. 38, n. 8, p. 940-953, 2014.

PRIMEAU, A. J.; ADHIHETTY, P. J.; HOOD, D. A. Apoptosis in Heart and Skeletal Muscle. **The Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 25, p. 349-395, 2011.

ROBINSON, S.; COOPER, C.; SAYER, A. Nutrition and Sarcopenia: A Review of the Evidence and Implications for Preventive Strategies. **Journal of Aging Research**, v. 2012, n. 6, 2012.

SAYER, A. A. et al. New horizons in the pathogenesis, diagnosis and management of sarcopenia. **Age and Ageing**, v. 42, n. 2, p. 145-150, 2013.

SPEAKMAN, J. R.; ACKER, A. V.; HARPER, E. J. Age-related changes in the metabolism and body composition of three dog breeds and their relationship to life expectancy. **Anatomical society**, v. 2, n. 5, p. 265-275, 2003.

SYMONS, T. B. et al. The anabolic response to resistance exercise and a protein-rich meal is not diminished by age. **Journal of Nutrition and Health Aging**, v. 15, n. 5, p. 376-81, 2011.

TEIXEIRA, V. D. O. N.; FILIPPIN, L. I.; XAVIER, R. M. Mecanismos de perda muscular da sarcopenia. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 52, n. 2, p. 252-259, 2012.

VON HAEHLING, S. et al. Cardiac cachexia: A systematic overview. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 121, n. 3, p. 227-252, 2009.

YAMADA, M. et al. Matrix metalloproteinase-2 mediates stretch-induced activation of skeletal muscle satellite cells in a nitric oxide-dependent manner. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 40, n. 10, p. 2183-91, 2008.

ZHONG, S.; CHEN, C.; THOMPSON, L. Sarcopenia of ageing: functional, structural and biochemical alterations. **The Brazilian Journal of Physical Therapy**, v. 11, n. 2, p. 91-97, 2007.

A graphic element consisting of a light green shield-like shape with a dark green border. Inside the shield, the word "Capítulo" is written in a bold, black, sans-serif font, and the number "8" is written below it in a larger, bold, black, sans-serif font.

Métodos diagnósticos para a doença de Chagas canina

Beathriz Giotri Pontes¹
Letícia Azeredo de Freitas²
Fabiane Matos dos Santos³

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: bia.giotri@gmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: leticiaazeredo@gmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: fabiane.santos@ufes.br

1 INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (DC) ou tripanossomíase americana é uma enfermidade infecciosa de evolução lenta, progressiva e considerada negligenciada pela Organização Mundial da Saúde devido à maior prevalência ser associada a populações de baixo poder econômico e social na América Latina (WHO, 2017). O protozoário flagelado *Trypanosoma (Schyzotripanum) cruzi* é o agente etiológico responsável pela ocorrência do processo infeccioso no organismo de indivíduos chagásicos, tendo sido descrito pela primeira vez em 1909 no estado de Minas Gerais, Brasil (CHAGAS, 1909).

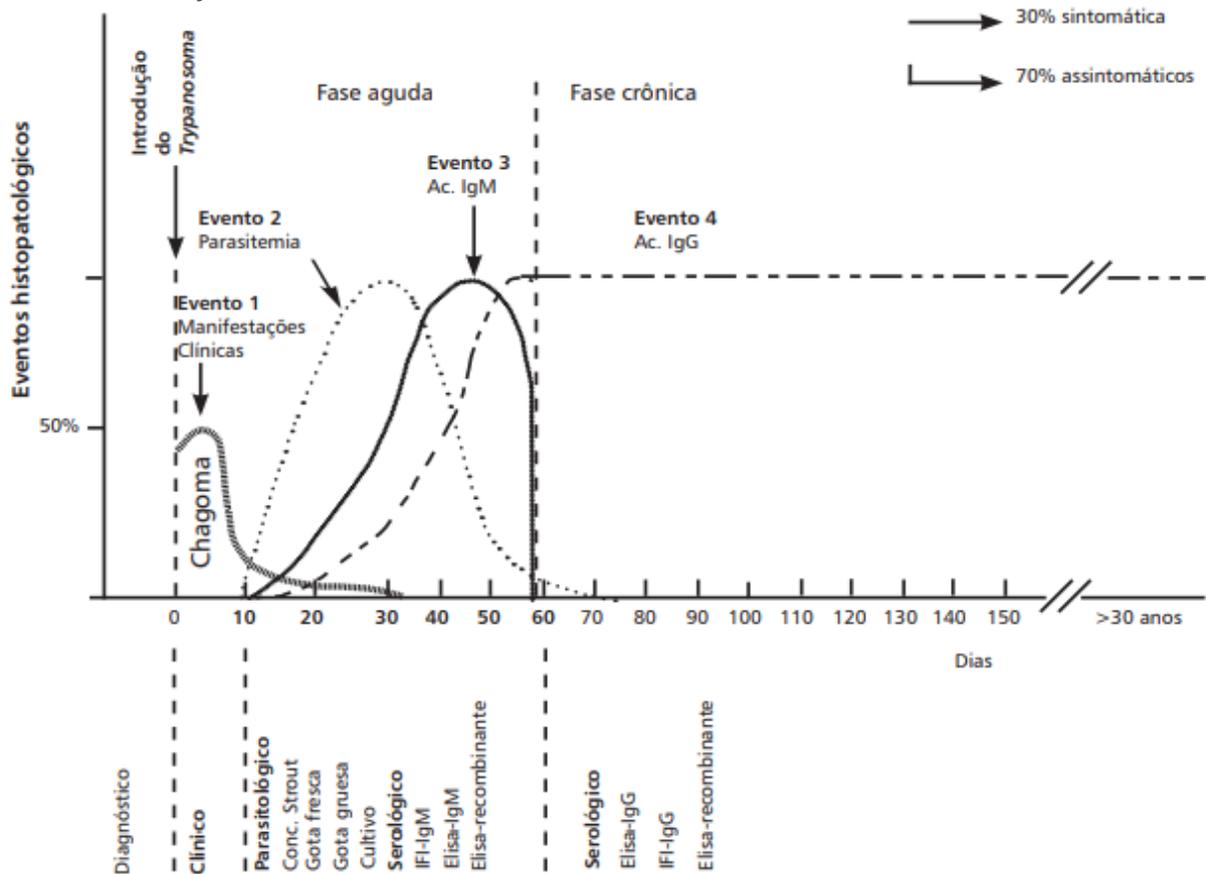
Atualmente existem 21 países da América Latina endêmicos para DC, com aproximadamente 7 milhões de indivíduos infectados que são provenientes, principalmente, de regiões caracterizadas pela coexistência do hábitat natural dos triatomíneos, os hospedeiros intermediários considerados vetores biológicos desta afecção. Aproximadamente 10.000 mortes humanas atribuíveis às manifestações clínicas da DC são registradas anualmente e 25 milhões de pessoas se encontram sob risco de adquirir a infecção. O movimento migratório populacional auxiliou na disseminação da tripanossomíase americana pelo mundo com a transmissão do parasito por procedimentos como doação de sangue e transplante de órgãos provenientes de doadores infectados (WHO, 2018).

No ciclo biológico do *T. cruzi* diferentes espécies de animais silvestres e domésticos, além dos seres humanos, são considerados os hospedeiros definitivos do parasito, o que permite classificar a DC como uma zoonose. Dentre os animais domésticos, os cães representam hospedeiros definitivos de elevada importância epidemiológica, pois uma vez infectados se tornam os reservatórios do *T. cruzi* fisicamente mais próximos aos seres humanos em função da afetividade e convívio familiar, além de assumirem também o papel de sentinelas para identificação da doença (COHEN; GÜRTIER, 2001; GÜRTLER; CARDINAL, 2015; LUCHEIS et al., 2005; MACEDO; MARÇAL JÚNIOR, 2004;).

No processo de identificação da doença, os métodos diagnósticos são valiosas ferramentas que auxiliam na dinâmica detecção da presença ou ausência do agente infeccioso em um determinado hospedeiro (GÜRTLER; CARDINAL, 2015; VOLLER; BIDWELL; BARTLETT, 1976; TIZARD, 2009). Neste contexto, ensaios de imunofluorescência e testes imunoenzimáticos são exemplos da aplicabilidade de testes de diagnósticos sorológico que vem determinando há muitos anos a soroprevalência de cães positivos para infecções naturais pelo *T. cruzi* em diversos locais do continente americano (ARCE-FONSECA et al., 2017; BASSO et al., 2016; FREITAS et al., 2018; MASCOLLI et al., 2016; SANTANA et al., 2012; SALDAÑA et al., 2015; SOUZA et al., 2008; SOUZA et al., 2009).

Os métodos diagnósticos devem considerar a cinética do parasito durante a infecção no hospedeiro definitivo que se diferencia em diferentes formas evolutivas nas fases aguda e crônica da infecção, além das manifestações clínicas mais comumente associadas a cada fase da doença. As formas clínicas da DC variam desde a forma indeterminada, característica dos pacientes assintomáticos, até as formas cardíaca, digestiva, nervosa e mais raramente a forma mista. As alterações fisiopatológicas acontecem de acordo com a forma clínica predominante, tais como desenvolvimento de cardiopatia, megaesôfago e megacólon evidenciados respectivamente nas formas cardíaca e digestiva, além de sinais clínicos inespecíficos como linfadenopatia generalizada, síncope, depressão, intolerância a exercícios, letargia, anorexia, diarreia, arritmias, hepatomegalia e esplenomegalia (ANDRADE et al., 2015; MONCAYO, 1999; NELSON; COUTO, 2010; SANTOS et al., 2012a; SANTOS et al., 2016a; SIMÕES et al., 2018; SEDLACEK, et al, 2016; TAFURI, 1987; TILLEY; SMITH, 2003). As fases evolutivas da infecção influenciam diretamente no desenvolvimento da resposta imune, na localização do *T. cruzi* no organismo e conseqüentemente no método a ser empregado para o diagnóstico da DC (FIGURA 1). Neste capítulo serão apresentados os métodos diagnósticos disponíveis à infecção pelo *T. cruzi* e sua melhor aplicabilidade de acordo com os estágios evolutivos perceptíveis dessa enfermidade em cães.

Figura 1 - Eventos da fisiopatologia da doença de Chagas e indicações de métodos diagnósticos conforme a fase evolutiva da infecção.



Fonte: Ministério da saúde (2016 apud ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE, 2007).

2 MÉTODOS DIAGNÓSTICOS NA FASE AGUDA DA DOENÇA DE CHAGAS

2.1 EXAME PARASITOLÓGICO DIRETO

Os exames parasitológicos diretos auxiliam a pesquisa e identificação do parasito em amostras de sangue examinado em microscopia óptica. A aplicação destes testes é oportuna na fase aguda da DC, momento em que o *T. cruzi* se encontra em grande quantidade na corrente sanguínea, podendo ser facilmente localizado no sangue periférico (JUNQUEIRA; GONÇALVES; MOREIRA, 2011).

2.1.1 Esfregaço sanguíneo

O esfregaço sanguíneo é uma técnica parasitológica direta rápida que permite a detecção e identificação morfológica do *Trypanosoma* sp. por meio de coloração e fixação do sangue em lâmina, confirmando a infecção do paciente. O sangue é coletado através de uma lesão, em

regiões de vasos periféricos como em ponta de orelha, posteriormente transferido para a lâmina com o auxílio de um tubo capilar e arrastado com a lamínula, formando o esfregaço (BEZERRA et al., 2014; BRENER, 1962; COLPO et al., 2005; FRANCISCATO et al., 2007; JUNQUEIRA; GONÇALVES; MOREIRA, 2011; SÁ et al., 2015). A punção venosa, principalmente das veias cefálicas e braquiocefálicas também permite a obtenção de sangue para análise em microscópio óptico. Os esfregaços são realizados tanto em gota espessa quanto em distensão fina (ALMEIDA et al., 2013; DARIO et al., 2017; GALAVIZ-SILVA et al., 2017; JUNQUEIRA; GONÇALVES; MOREIRA, 2011; RENDÓN et al., 2015; RODRÍGUES-MORALES et al., 2011; VILLENA et al., 2018). A detecção de tripanosomatídeos em microscopia óptica demonstra sensibilidade elevada na fase aguda comparável a metodologias moleculares, como a reação em cadeia da polimerase convencional (PCR); entretanto, na identificação da espécie *T. cruzi* o método molecular é mais específico (VILLENA et al., 2018).

2.1.2 Exame de sangue à fresco

Em situações que objetivam apenas a confirmação da presença do parasito, a pesquisa direta pode ser realizada pela gota de sangue examinada a fresco, não sendo necessárias coloração e fixação do material. A visualização das formas tripomastigotas sanguíneas do *T. cruzi* é possibilitada pelos seus movimentos entre as hemácias no aumento de 400 vezes (JUNQUEIRA; GONÇALVES; MOREIRA, 2011; LUQUETTI; RASSI, 2000). Em cães infectados com o *T. cruzi* a visualização das formas tripomastigotas sanguíneas em microscópio óptico e mensuração da parasitemia durante toda a fase aguda da infecção ocorre normalmente a partir do 10º dia após infecção até início da fase crônica, no momento em que os parasitos não mais são visualizados ao exame de sangue à fresco coletado da veia marginal na orelha dos animais (GUEDES et al., 2004).

3 MÉTODOS DIAGNÓSTICOS NA FASE CRÔNICA DA DOENÇA DE CHAGAS

3.1 EXAME PARASITÓLOGICO INDIRETO

Na fase crônica da infecção a parasitemia se encontra reduzida e indetectável ao exame de sangue à fresco, uma vez que a maior especificidade da resposta imune humoral neste estágio da infecção acarreta na evasão do *T. cruzi* da corrente sanguínea para os tecidos corporais. Os exames parasitológicos indiretos são mais convenientes neste estágio da doença porque são

capazes de fornecer condições para a multiplicação parasitária e conseqüentemente maior sensibilidade na visualização dos parasitos para confirmação da infecção (BEZERRA; NETO, 2010; BRONFEN et al., 1989; JUNQUEIRA; GONÇALVES; MOREIRA, 2011; MOURÃO; CHIARI, 1975;). Os métodos parasitológicos indiretos também podem ser empregados no diagnóstico da infecção na fase aguda quando os métodos parasitológicos diretos não forem disponíveis ou de suficiente sensibilidade à confirmação da infecção por cepas do *T. cruzi* de baixa parasitemia e reduzido período patente.

3.1.1 Hemocultura

A hemocultura é uma técnica de diagnóstico que decorre do cultivo de parasitos a partir da inoculação de uma amostra biológica coletada do paciente, oriunda de sangue e em alguns casos de líquido cefalorraquidiano. Pode ser usada no controle de cura de pacientes submetidos ao tratamento específico e empregada como técnica de isolamento parasitário para realização de estudos moleculares e bioquímicos. O meio de cultura consolidado para este tipo de prática é o *Liver Infusion Tryptose* (LIT), a quantidade de amostra e avaliação periódica das culturas varia entre os estudos, podendo as leituras serem feitas após 30, 60, 90 e 120 dias do cultivo e permanência do material preparado em temperatura de 28°C (BEZERRA; NETO, 2010; CHIARI et al., 1989; DARIO et al., 2017; GOLDSMITH et al., 1985; JUNQUEIRA; GONÇALVES; MOREIRA, 2011; LUZ et al., 1994; LUZ, 1999; MOURÃO; CHIARI, 1975; RENDÓN et al., 2015; SANTOS, 2008; SANTOS, 2010; ZENTUN et al., 2014). A metodologia da hemocultura é eficiente para detecção da infecção pelo *T. cruzi* em cães com as diferentes formas clínicas na fase crônica da doença de Chagas (SANTANA et al., 2012; SANTOS et al., 2016a).

A sensibilidade da hemocultura não é muito elevada na fase crônica da infecção e eventualmente para melhor confirmação diagnóstica, são realizadas análises moleculares (RÉNDON et al., 2015; ZENTUN et al., 2014). A faixa de sensibilidade varia de 30% a 79% de resultados positivos na fase crônica quando o paciente está verdadeiramente infectado (JUNQUEIRA; GONÇALVES; MOREIRA, 2011).

3.1.2 Xenodiagnóstico

O xenodiagnóstico (DIAS, 1940) consiste na confirmação da presença do *T. cruzi* pelo uso de triatomíneos hematófagos, predominantemente a partir do estágio de ninfa. No

xenodiagnóstico direto os triatomíneos são colocados sob a pele, em porção ventral do abdome, em um período de 15 a 30 minutos, tempo necessário para que fiquem totalmente repletos de sangue. No xenodiagnóstico indireto o contato dos triatomíneos com o sangue do paciente ocorre de modo artificial. Após o repasto sanguíneo são aguardados cerca de 30 a 60 dias para avaliação microscópica das fezes no aumento de 400x, sendo o resultado dependente da espécie e número de triatomíneos utilizados (BROFEN et al., 1989; BRUM-SOARES et al., 2010; ENRIQUEZ et al., 2013; ENRIQUEZ et al., 2014; ENRIQUEZ et al., 2016; HARTLEY et al., 2014; JUNQUEIRA; GONÇALVES; MOREIRA, 2011). Quando comparado a uma técnica molecular como a PCR em tempo real, a sensibilidade do xenodiagnóstico é muito baixa na fase crônica da infecção chagásica. Em um estudo com 44 cães soropositivos, o xenodiagnóstico representou apenas 48% de infecciosidade média enquanto que a técnica molecular demonstrou 100% para todos os animais (ENRIQUEZ et al., 2014). Os percentuais de sensibilidade do xenodiagnóstico oscilam desde 13% a 50% na fase crônica da infecção em humanos (JUNQUEIRA; GONÇALVES; MOREIRA, 2011).

A xenocultura eventualmente pode proceder como exame confirmatório e de garantia na qualidade do xenodiagnóstico, sendo uma parte da amostra avaliada em lâmina a fresco cultivada em meio LIT para posterior leitura microscópica (BROFEN et al., 1989; JUNQUEIRA; GONÇALVES; MOREIRA, 2011).

4 MÉTODOS DIAGNÓSTICOS EMPREGADOS NAS FASES AGUDA E CRÔNICA

4.1 MÉTODOS SOROLÓGICOS

Os métodos sorológicos são técnicas indiretas de diagnóstico, utilizados quando os exames parasitológicos demonstram negatividade e em situações onde ainda prevalece a suspeita clínica. A eficácia do emprego destes em fase aguda é questionável uma vez que funcionam através da detecção de anticorpos anti-*T.cruzi* da classe IgM e IgG. A imunoglobulina M tem seus níveis alterados em diversas situações de desafio do organismo, principalmente ocorrências de síndrome febril (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). Dessa forma, a sensibilidade da sorologia varia de acordo com a fase da doença em que o animal se encontra, sendo significativamente mais elevada em fase crônica (FERRER et al., 2013).

O uso de imunoglobulinas é amplo e variável na literatura, podendo IgG e IgM serem utilizadas em conjunto apenas para confirmação da doença ou de forma isolada, auxiliando na determinação da fase da infecção. A identificação dos anticorpos do tipo IgG está relacionada

à fase crônica da doença de Chagas, e os anticorpos do tipo IgM são associados à fase aguda da infecção (FIGURA 1) (ARCE-FONSECA et al., 2017; FREITAS et al., 2018; MEYERS; MEINDERS; HAMER, 2017; VARGAS et al., 2018). Entretanto, é válido ressaltar que alguns estudos demonstram a eficácia do organismo em produzir anticorpos anti-*T.cruzi* quando exposto a um desafio vacinal com outra espécie de *Trypanosoma* sp., tal como o *Trypanosoma rangeli*. Tal fato é justificado pela semelhança morfológica entre as espécies de *Trypanosoma* sp. (BASSO et al., 2007; BASSO et al., 2016).

4.1.1 Ensaio de imunofluorescência indireta (IFI)

Os testes com anticorpos de fluorescência indireta (IFI) são usados na identificação de antígenos específicos obtidos através de homogenatos das formas tripomastigota ou epimastigota para a mensuração da presença de anticorpos anti-*T. cruzi* no soro a ser avaliado (CAMUSSONE et al., 2009; JAIMES-DUEÑEZ et al., 2017; RODRÍGUEZ-MORALES et al., 2011; SOUZA et al., 2008; TIZARD, 2009; VARGAS et al., 2018). As características de elevada especificidade, sensibilidade e padronização da técnica de IFI sustentam sua recomendação à detecção da presença do *T. cruzi* no organismo (FREITAS et al., 2018). Eventualmente, a introdução desse teste é concomitante ou secundária ao uso de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) ou teste de hemaglutinação indireta, auxiliando na confirmação diagnóstica (ARCE-FONSECA et al., 2017; BRUM-SOARES et al., 2010; ENRIQUEZ et al., 2014; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016; RODRÍGUEZ-MORALES et al., 2011; SANTOS et al., 2016b).

Na aplicação da IFI ao diagnóstico da DC, é importante considerar o alto índice de reações cruzadas com antígenos obtidos de *Leishmania* sp., um protozoário filogeneticamente próximo ao *T. cruzi*. A diferenciação dessas espécies deve dispor também da análise de dados epidemiológicos locais, considerando a presença de flebotomíneos e triatomíneos, vetores das leishmanioses e doença de Chagas, respectivamente (DARIO et al., 2017; LEATTE et al., 2014; LUCIANO et al., 2009; MATOS et al., 2015; SANTANA et al., 2012; SOUZA et al., 2008; SOUZA et al., 2009). Além disso, a ocorrência da forma indeterminada na fase crônica pode dificultar a diferenciação de dados clínicos na DC canina, podendo ser necessário a realização de testes moleculares de maior especificidade e sensibilidade para confirmação diagnóstica na fase crônica da DC em cães (LUCIANO 2009; SANTANA et al., 2012).

4.1.2 Ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA)

O ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) é um método de diagnóstico indireto que se fundamenta na utilização de antígenos específicos ligados à placa de poliestireno, a fim de verificar a ligação desses antígenos a anticorpos específicos presentes em amostra biológica. A associação de uma enzima à antiglobulina conjugada gera uma intensidade de coloração equivalente às ligações de antígenos-anticorpos presentes, que pode ser ponderada visualmente ou quantificada por espectrofotometria (GAN; PATEL, 2013; JAIMES-DUEÑEZ et al., 2017; TIZARD, 2009; VARGAS et al., 2018).

A técnica tem ampla utilização na medicina veterinária devido à elevada sensibilidade para confirmação diagnóstica, sendo em muitos estudos utilizadas antiglobulinas caninas conjugadas que auxiliam perfeitamente na confirmação da soroprevalência da DC em cães (ENRIQUEZ et al., 2014; FREITAS et al., 2018; GONZÁLEZ-VIEYRA et al., 2011; RODRÍGUEZ-MORALES et al., 2011; SALDAÑA et al., 2015). No entanto, o ensaio de ELISA apresenta especificidade limitada pela possibilidade de ocorrência de reações cruzadas entre antígenos de *T. cruzi* e *Leishmania* sp., tal como ocorre no teste de IFI (SANTANA et al., 2012; SOUZA et al., 2008; SOUZA et al., 2009).

Alguns autores optam pela utilização de proteínas recombinantes que demonstram maior eficácia quanto à especificidade, embora apresentem baixa sensibilidade. No intuito de promover elevada especificidade concomitante a altas taxas de sensibilidade para o diagnóstico da DC pelo método de ELISA, foram desenvolvidos antígenos com múltiplos epítomos, também denominados proteínas quiméricas (CAMUSSONE et al., 2009; SANTOS et al., 2012b; SANTOS et al., 2016b). Os resultados se mostraram favoráveis ao uso de proteínas quiméricas quando comparadas às misturas de peptídeos para o diagnóstico da DC pela técnica de ELISA. Tais resultados são justificados pelas moléculas únicas quiméricas serem mais facilmente processadas, purificadas, imobilizadas e equilibradas em relação à mistura de epítomos (CAMUSSONE et al., 2009; HERNÁNDEZ et al., 2010; SANTOS et al., 2012b; SANTOS et al., 2016b). O uso de proteínas purificadas também demonstra uma eficaz estratégia de redução drástica dos resultados falso-positivos e falso-negativos no diagnóstico da infecção pelo *T. cruzi* pelo método de ELISA. No entanto, o custo elevado dessas moléculas faz com que sejam pouco disponíveis nos sistemas de saúde e de limitado acesso também à utilização para diagnóstico da DC canina (SANTOS et al., 2012b).

4.1.3 Ensaio de hemaglutinação indireta (IHA)

A hemaglutinação indireta (IHA) é uma técnica que possibilita o diagnóstico através da reação de aglutinação das hemácias provocada pela reação antígeno-anticorpo. A reação ocorre a partir da ligação de anticorpos a antígenos que foram adsorvidos na superfície das hemácias. A interpretação do teste é visual, sem a necessidade de microscopia óptica (JUNQUEIRA; GONÇALVES; MOREIRA, 2011; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). Este método diagnóstico é susceptível à ocorrência de resultado falso positivo em função da presença de anticorpos anti-hemácias e IgM naturais que podem também promover aglutinação dos eritrócitos (JUNQUEIRA; GONÇALVES; MOREIRA, 2011).

Apresenta aplicabilidade em estudos experimentais para avaliação de reservatórios domésticos de *T. cruzi* conjuntamente com outros métodos sorológicos para ampliar a confirmação do resultado positivo, entretanto a técnica de IHA também apresenta a possibilidade de ocorrência de reações cruzadas entre antígenos de *T. cruzi* e *Leishmania* sp. (BARBABOSA-PLIEGO et al., 2011; ENRIQUEZ et al., 2013; ENRIQUEZ et al., 2014; ENRIQUEZ et al., 2016; GONZÁLEZ-VIEYRA et al., 2011; HARTLEY et al., 2014; MONTENEGRO et al., 2002; PETERSEN et al., 2001; SARTOR et al., 2011). Em um estudo para avaliar a presença da infecção natural pelo *T. cruzi* entre 52 cães e 16 gatos, as sensibilidades dos testes de ELISA e IHA foram semelhantes nos cães com um nível de concordância de 92%, entretanto a IHA exibiu apenas 62% de concordância com o PCR convencional que demonstrou a maior especificidade dos resultados (ENRIQUEZ et al., 2013).

4.2 MÉTODOS MOLECULARES

4.2.1 Reação em cadeia da polimerase (PCR) – convencional

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é uma metodologia molecular que permite a identificação do material genético de um agente infeccioso específico. A aplicabilidade deste método para confirmação da infecção pelo *T. cruzi* ainda é restrita a atividades experimentais em instituições de ensino e laboratórios de pesquisa. Além da aplicabilidade diagnóstica, em muitos estudos a PCR convencional também tem sido utilizada no controle de cura para acompanhar a evolução de pacientes que foram submetidos ao tratamento específico (ALMEIDA et al., 2013; BILHEIRO et al., 2018; BRUM-SOARES et al., 2010; DARIO et al.,

2017; ENRIQUEZ et al., 2013; ENRIQUEZ et al., 2014; FREITAS et al., 2018; JAIMES-DUEÑEZ et al., 2017; SANTOS et al., 2012a; SANTOS et al., 2016a).

O modelo convencional permite a visualização do resultado após toda a reação, abrangendo dados de composição qualitativa e exige maiores concentrações do DNA a ser replicado e DNA complementar (MATTOS; BERTO, 2011). Nesta metodologia a pesquisa para identificação qualitativa da presença do *T. cruzi* ocorrerá primeiramente a partir da extração de DNA em amostras de sangue ou tecidos do hospedeiro. A leitura do exame é realizada pela observação de fragmentos de pesos moleculares definidos, revelados a partir da eletroforese em géis de poliacrilamida ou agarose (ALMEIDA et al., 2013; BEZERRA et al., 2014; BRYAN et al., 2016; GALAVIZ-SILVA et al., 2017; SANTANA et al., 2012; SANTOS et al., 2012a; SANTOS et al., 2016a; VILLENA et al., 2018).

A sensibilidade da PCR é alta e quando comparada aos outros métodos diagnósticos, demonstra ser a ferramenta mais precisa e a técnica complementar mais utilizada em muitos estudos para identificação específica do *T. cruzi*, incluindo o modelo de infecção chagásica canina (BEZERRA et al., 2014; DARIO et al., 2017; ENRIQUEZ et al., 2013; ENRIQUEZ et al., 2014; GALAVIZ-SILVA et al., 2017; ROCHA et al., 2013; SANTOS et al., 2012; ZENTUN et al., 2014). A especificidade da PCR convencional alcança valores próximos a 100% quando comparada aos métodos sorológicos de ELISA e IFI (FERRER et al., 2013).

4.2.2 Reação em cadeia da polimerase em tempo real ou quantitativa (PCR- RT ou qPCR)

A reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) é um método em que detecção, quantificação e amplificação de DNA ocorrem em etapa única. A aplicação do PCR em tempo real na infecção pelo *T. cruzi* abrange estudos de genotipagem, teste de eficiência terapêutica, interpretação de expressões gênicas estimuladas ou inibidas pelo parasito e a própria quantificação do protozoário. A visualização dos dados pode ser feita durante a reação de amplificação do DNA, sendo menor a exigência de concentração de material genético e mais elevadas a reprodutibilidade e precisão dessa técnica quando comparadas a outros métodos diagnósticos (COSTA et al., 2016; DARIO et al., 2017; ENRIQUEZ et al., 2016; JAIMES-DUEÑEZ et al., 2017; MEYERS; MEINDERS; HAMER, 2017; SANTOS et al., 2016; VARGAS et al., 2018). A sensibilidade da qPCR para detecção do *T. cruzi* demonstrou ser mais elevada que a PCR convencional e o xenodiagnóstico em cães e gatos com diferentes níveis de infecciosidade (ENRIQUEZ et al., 2014).

5 VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS

A validação dos testes diagnósticos é obtida a partir da análise dos resultados em pelo menos dois testes diferentes ou pela realização de repetições do mesmo teste em momentos diferentes (BASSO et al., 2007; BASSO et al., 2016; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016; SANTOS et al., 2012a; SANTOS et al., 2016a).

A utilização de testes diferentes auxilia na confirmação da positividade e eliminação de resultados falso-positivos. Os resultados quando analisados pela interação de dois testes demonstram maior especificidade, alcançando valores de 99,4% por exemplo. Entre os métodos sorológicos para a confirmação diagnóstica, o ELISA deverá ser preferencialmente um dos exames realizados quando existirem pelo menos dois testes reagentes diferentes, dado à vantagem de operacionalização da análise de várias amostras ao mesmo tempo, além da elevada e considerável sensibilidade da técnica para detecção dos anticorpos específicos anti-*T. cruzi* na fase crônica da infecção chagásica (ARCE-FONSECA, 2017; FREITAS et al., 2018; MEYERS; MEINDERS; HAMER, 2017; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016; SOUZA et al., 2009).

6 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. B. P. F. et al. Natural Infection by *Trypanosoma cruzi* in One Dog in Central Western Brazil: A Case Report. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 4, p. 287-289, 2013.

ANDRADE, C. de M. et al. Chagas disease: morbidity profile in an endemic area of Northeastern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, n. 6, p. 706-715, 2015.

ARCE-FONSECA, M. et al. Seropositivity for *Trypanosoma cruzi* in domestic dogs from Sonora, Mexico. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 6, n. 1, p. 120-127, 2017.

BARBABOSA-PLIEGO, A. et al. Prevalence of *Trypanosoma cruzi* in Dogs (*Canis familiaris*) and Triatomines During 2008 in a Sanitary Region of the State of Mexico, Mexico, **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 11, n. 2, p. 151-156, 2011.

BASSO, B. et al. Vaccination of dogs with *Trypanosoma rangeli* induces antibodies against *Trypanosoma cruzi* in a rural area of Córdoba, Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 111, n. 4, p. 271-274, 2016.

BASSO, B. et al. Vaccination with *Trypanosoma rangeli* reduces the infectiousness of dogs experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. **Vaccine**, v. 25, n. 19, p. 3855–3858, 2007.

BEZERRA, R. C.; NETO, V. A. *Trypanosoma cruzi*, hemocultura: uma abordagem prática*. **Revista Brasileira de Clínica Médica**, v. 8, n. 3, p. 205-207, 2010.

BEZERRA, C. M. et al. Domestic, peridomestic and wild hosts in the transmission of *Trypanosoma cruzi* in the Caatinga area colonized by *Triatoma brasiliensis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 7, p. 887-898, 2014.

BILHEIRO, A. B. et al. First Report of Natural Infection with *Trypanosoma cruzi* in *Rhodnius montenegrensis* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) in Western Amazon, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, <https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2266>, 2018.

BRENER, Z. Therapeutic activity and criterion of cure in mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 4, p. 389-396, 1962.

BRONFEN, E. et al. Isolamento de amostras do *Trypanosoma cruzi* por xenodiagnóstico e hemocultura de pacientes na fase crônica da doença de Chagas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 84, n. 2, p. 237-240, 1989.

BRUM-SOARES, L. M. et al. Morbidade da doença de Chagas em pacientes autóctones da microrregião do Rio Negro, Estado do Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 2, p. 170-177, 2010.

BRYAN, L. K. et al. Chagas disease in a Texan horse with neurologic deficits. **Veterinary Parasitology**, v. 216, n. 30, p. 13-17, 2016.

CAMUSSONE, C. et al. Comparison of recombinant *Trypanosoma cruzi* peptide mixtures versus multiepitope chimeric proteins as sensitizing antigens for immunodiagnosis. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 16, n. 6, p. 899-905, 2009.

CHAGAS, C. Nova tripanozomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., Agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.1, n. 2, p. 159-218, 1909.

COHEN, J. E.; GÜRTLER, R. E. Modeling household transmission of American trypanosomiasis. **Science**, v. 293, p. 694-698, 2001.

COLPO, C. B. et al. Infecção Natural por *Trypanosoma evansi* em cão no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 717-719, 2005.

COSTA, G. P. et al. Doxycycline and Benznidazole Reduce the Profile of Th1, Th2, and Th17 Chemokines and Chemokine Receptors in Cardiac Tissue from Chronic *Trypanosoma cruzi*-Infected Dogs. **Mediators of Inflammation**, v.2016, Article ID 3694714, <https://doi.org/10.1155/2016/3694714>, 2016.

CHIARI, E. et al. Hemocultures for the parasitological diagnosis of human chronic Chagas disease. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 22, n. 1, p. 19-23, 1989.

DARIO, M. A. et al. High *Trypanosoma* spp. diversity is maintained by bats and triatomines in Espírito Santo state, Brazil. **PLoS One**, v. 12, n. 11, p. 1-22, 2017.

- DIAS, E. Técnica do xenodiagnóstico na molestia de Chagas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 35, n. 2, p. 335-342, 1940.
- ENRIQUEZ, G. F. et al. Detection of *Trypanosoma cruzi* infection in naturally infected dogs and cats using serological, parasitological and molecular methods. **Acta Tropica**, v. 126, n. 3, p. 211-217, 2013.
- ENRIQUEZ, G. F. et al. High levels of *Trypanosoma cruzi* DNA determined by qPCR and infectiousness to *Triatoma infestans* support dogs and cats are major sources of parasites for domestic transmission. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 25, p. 36-43, 2014.
- ENRIQUEZ, G. F. et al. Is the infectiousness of dogs naturally infected with *Trypanosoma cruzi* associated with poly-parasitism? **Veterinary Parasitology**, v. 223, n. 15, p. 186-194, 2016.
- FERRER, E. et al. Comparación entre técnicas inmunológicas y moleculares para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 31, n. 5, p. 277–282, 2013.
- FRANCISCATO, C. et al. Cão naturalmente infectado por *Trypanosoma evansi* em Santa Maria, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v. 37, n. 1, p. 288-291, 2007.
- FREITAS, Y. B. N. et al. Natural infection by *Trypanosoma cruzi* in triatomines and seropositivity for Chagas disease of dogs in rural areas of Rio Grande do Norte, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 2, p. 190-197, 2018.
- GALAVIZ-SILVA, L. et al. Prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in dogs and small mammals in Nuevo León, Mexico. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 49, n. 3, p. 216-223, 2017.
- GAN, S. D.; PATEL, K. R. Enzyme immunoassay and enzyme-linked immunosorbent assay. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 133, n. 12, p. 1-3, 2013.
- GOLDSMITH, R. S. et al. Clinical and epidemiologic studies of Chagas disease in rural communities in Oaxaca state, Mexico, and a seven-year follow-up: I. cerro del aire. **Bulletin of the Pan American Health Organization**, v. 19, n. 2, p. 120-138, 1985.
- GONZÁLEZ-VIEYRA, S. D. et al. *Trypanosoma cruzi* in dogs: electrocardiographic and echocardiographic evaluation, in Malinalco, State of Mexico. **Research and Reports in Tropical Medicine**, v. 2, p. 155-161, 2011.
- GUEDES, P. M. M. et al. Activity of the New Triazole Derivative Albaconazole against *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* in Dog Hosts. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 11, p. 4286-4292, 2004.
- GÜRTLER, R. E.; CARDINAL, M. V. Reservoir host competence and the role of domestic and commensal hosts in the transmission of *Trypanosoma cruzi*. **Acta Tropica**, v. 151, p. 32-50, 2015.

- HARTLEY, A. N. et al. Frequency of IFN γ -producing T cells correlates with seroreactivity and activated T cells during canine *Trypanosoma cruzi* infection, **Veterinary Research**, v. 45, n. 6, p. 1-10, 2014.
- HERNÁNDEZ, P. et al. Highly effective serodiagnosis for Chagas' disease. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 17, n. 10, p. 1598–1604, 2010.
- JAIMES-DUEÑEZ, J. D. et al. Molecular and serological detection of *Trypanosoma cruzi* in dogs (*Canis lupus familiaris*) suggests potential transmission risk in areas of recent acute Chagas disease outbreaks in Colombia. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 141, n. 1, p. 1–6, 2017.
- JUNQUEIRA, A. C. V.; GONÇALVES, T. C. M.; MOREIRA, C. J. C. **Manual de capacitação na detecção de Trypanosoma cruzi para microscopistas de malária e laboratoristas da rede pública**. 2. ed. Rio de Janeiro: Organização Mundial da Saúde e Instituto Oswaldo Cruz, 2011.
- LEATTE, E. P. et al. Aspectos epidemiológicos e laboratoriais da leishmaniose tegumentar americana em uma região endêmica do Sul do Brasil. **Revista Uningá Review**, v. 19, n. 1, p. 19-33, 2014.
- LUCIANO, R. M. et al. Avaliação da reatividade cruzada entre antígenos de *Leishmania spp* e *Trypanosoma cruzi* na resposta sorológica de cães pela técnica de imunofluorescência indireta (RIFI). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, n. 3, p. 181-187, 2009.
- LUCHEIS, S. B. et al. Trypanosomatids in dogs belonging to individuals with chronic Chagas disease living in Botucatu town and surrounding region, São Paulo State, Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 11, n. 4, p. 492-509, 2005.
- LUQUETTI, A. O.; RASSI, A. Diagnóstico Laboratorial da Infecção do *Trypanosoma cruzi*. In: BRENER, Z.; ANDRADE, Z. A.; BARRAL-NETO, M. **Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas**. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 344-378, 2000.
- LUZ, Z. M. Changes in the Hemoculture Methodology Improve the Test Positivity. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. suppl., p. 295-298, 1999.
- LUZ, Z. M. et al. Hemoculture: sensitive technique in the detection of *Trypanosoma cruzi* in chagasic patients in the chronic phase of Chagas disease. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 27, n. 3, p. 143-148, 1994.
- MACEDO, H. S.; MARÇAL JUNIOR, O. Distribuição de vetores da doença de Chagas em nível domiciliar: um estudo na zona rural de Uberlândia. **Caminhos da Geografia**, v. 3, n. 12, p. 50-66, 2004.
- MATOS, F. S. et al. Reação cruzada nos testes sorológicos entre doença de chagas e leishmaniose visceral em regiões endêmicas para ambas as doenças. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v.6, n.1, p.51-54, 2015.

MATTOS, E. R.; BERTO, B. P. Doença de chagas: uma breve revisão das recentes ocorrências, vias de transmissão e métodos diagnósticos. **Saúde & Ambiente em Revista**, v. 6, n. 2, p. 40-45, 2011.

MASCOLLI, R. et al. Prevalence and risk factors for leishmaniasis and Chagas disease in the canine population of the tourist city of Ibiúna, São Paulo, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 1971-1980, 2016.

MEYERS, A. C; MEINDERS, M.; HAMER, S. A. Widespread *Trypanosoma cruzi* infection in government working dogs along the Texas-Mexico border: Discordant serology, parasite genotyping and associated vectors. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 8, p. 1-19, 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Doença de chagas. In:_____. **Guia de Vigilância em Saúde**. 1 ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2016, p. 480-503.

MONCAYO, A. Progress towards interruption of transmission of Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 1, p. 401-404, 1999.

MONTENEGRO, V. M. et al. Chagas disease in dogs from endemic areas of Costa Rica. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n.4, p.491-494, 2002.

MOURÃO, O. G.; CHIARI, E. Comprovação parasitológica na fase crônica da doença de Chagas por hemoculturas seriadas em meio “LIT”. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 9, n. 5, p. 215-219, 1975.

PETERSEN, R. M. et al. Association between nutritional indicators and infectivity of dogs seroreactive for *Trypanosoma cruzi* in a rural area of northwestern Argentina. **Parasitology Research**, v. 87, n. 3, p.208-214, 2001.

RENDÓN, L. M. et al. New scenarios of *Trypanosoma cruzi* transmission in the Orinoco region of Colombia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 3, p. 283-288, 2015

RODRÍGUEZ-MORALES, O. et al. *Trypanosoma cruzi* connatal transmission in dogs with chagas disease: experimental case report. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 11, n. 10, p. 1365-1370, 2011.

ROCHA, F. et al. *Trypanosoma cruzi* TcI and TcII transmission among wild carnivores, small mammals and dogs in a conservation unit and surrounding areas, Brazil. **Parasitology**, v. 140, n. 2, p. 160-170, 2013.

SÁ, M. A. R. et al. Infecção canina por *Trypanosoma* sp. em Sergipe, Brasil. **Revista Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 21, p. 1200-1209, 2015.

SALDAÑA, A. et al. Risk factors associated with *Trypanosoma cruzi* exposure in domestic dogs from a rural community in Panama. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 7, p. 936-944, 2015.

- SANTANA, V. L. et al. Caracterização clínica e laboratorial de cães naturalmente infectados com *Trypanosoma cruzi* no semiárido nordestino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 6, p. 536-541, 2012.
- SANTOS, F. M. et al. Cardiomyopathy prognosis after benznidazole treatment in chronic canine Chagas disease. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, p. 1987-1995, 2012a.
- SANTOS, L. da S. et al. Método de ELISA in-house na análise da reatividade de IgG anti-*Trypanosoma cruzi* para o diagnóstico diferencial e avaliação da morbidade da doença de Chagas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 1, p. 35-44, 2012b.
- SANTOS, F. M. et al. Chagas cardiomyopathy: The potential effect of benznidazole treatment on diastolic dysfunction and cardiac damage in dogs chronically infected with *Trypanosoma cruzi*. **Acta Tropica**, v. 161, p. 44–54, 2016a.
- SANTOS, F. L. et al. Performance assessment of four chimeric *Trypanosoma cruzi* antigens based on antigen-antibody detection for diagnosis of chronic Chagas disease. **Plos One**, v. 11, n. 8, p. 1-15, 2016b.
- SARTOR, P. A. et al. trans-Sialidase neutralizing antibody detection in *Trypanosoma cruzi*-infected domestic reservoirs. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 18, n. 6, p. 984-989, 2011.
- SEDLACEK, E. C. et al. Alterações ao doppler tecidual em pacientes com a forma aguda da doença de Chagas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 29, n. 4, p. 112-117, 2016.
- SIMÕES, M. V. et al. Chagas disease cardiomyopathy. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, v. 31, n. 2, p. 173-189, 2018.
- SOUZA, A. I. et al. Aspectos clínico-laboratoriais da infecção natural por *Trypanosoma cruzi* em cães de Mato Grosso do Sul. **Ciência Rural**, v. 38, n. 5, p. 1351-1356, 2008.
- SOUZA, A. I. et al. Soroprevalência da infecção por *Trypanosoma cruzi* em cães de uma área rural do Estado de Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 150-152, 2009.
- TAFURI, W. L. Patogenia da doença de Chagas. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 29, n. 4, p. 194-199, 1987.
- TILLEY, L. P.; SMITH, F. W. K. Doença de Chagas (Tripanossomíase Americana). In: _____. **Consulta Veterinária em 5 Minutos – Espécies Canina e Felina**: 2. ed. São Paulo: Editora Manole, 2003. p. 538.
- TIZARD, I. R. Técnicas de imunodiagnóstico. In: _____. **Imunologia veterinária: uma introdução**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. p. 519-537.

VARGAS, J. T. et al. Quantitative and histological assessment of maternal-fetal transmission of *Trypanosoma cruzi* in guinea pigs: An experimental model of congenital Chagas disease. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n.1, p. 1-16, 2018.

VILLENA, F. E. et al. First Report of *Trypanosoma cruzi* Infection in Salivary Gland of Bats from the Peruvian Amazon. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0816>, 2018

VOLLER, A.; BIDWELL, D. E.; BARTLETT, A. Enzyme immunoassays in diagnostic medicine. Theory and practice. **Bull World Health Organ**, v. 53, n. 1, p. 55-65, 1976.

WHO - World Health Organization. **Chagas disease: potentially a life-threatening neglected tropical disease**. Disponível em: <<http://www.who.int/chagas/en/>>. Acesso em: 23 jun. 2017.

WHO - World Health Organization. **Chagas disease (American trypanosomiasis)**. Disponível em:< <http://www.who.int/chagas/disease/en/>>. Acesso em: 18 jul. 2018.

ZENTUN, C. B. et al. Infecção por *Trypanosoma cruzi* em animais silvestres procedentes de zoológicos do Estado de São Paulo. **Veterinária e Zootecnia**, v. 21, n. 1, p.139-147, 2014.



Capítulo
9

Uso indiscriminado de medicamentos veterinários na pecuária

Mayara Mezabarba Riva¹
Felipe Martins Pastor²
Maria Aparecida da Silva³

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mayarariva@yahoo.com.br

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: felipempastor@gmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mvmariaaparecida@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

A produção de alimentos foi extremamente alterada, devido ao aumento da população mundial e pela entrada de grandes indústrias no setor. Novas técnicas agrícolas, mais intensivas, possibilitadas pela Revolução Verde nas décadas de 60 e 70, possibilitaram o aumento da produção e da produtividade. Algumas práticas, no entanto, são consideradas contrárias ao desenvolvimento sustentável, pois tornam a produção dependente de insumos externos, intensificam a exploração da terra, reduzem a biodiversidade local e aumentam a quantidade de resíduos gerados (GALDINO; DOMINGUES; LAPENNA, 2012).

A fim de aumentar a produtividade animal, os pecuaristas acabam por desencadear dependência cada vez maior do uso de substâncias químicas, sejam elas medicamentosas ou não, dentre as quais se destacam os agentes que alteram a produção animal. Tais substâncias químicas são, muitas vezes, ofertadas em doses diferentes das recomendadas e sem controle adequado por parte dos sistemas de vigilância (SOUSA et al., 2012).

Na Medicina Veterinária, um dos maiores problemas é o uso indiscriminado de medicamentos sem a prescrição adequada de profissionais. Muitas vezes, tais medicamentos são adquiridos pelo produtor por meio da indicação do revendedor, que leva em conta apenas os sinais clínicos que o animal afetado apresenta, sem anamnese, exame clínico e métodos de

diagnóstico adequados realizados por veterinário (LEITE et al., 2006; SOUZA JUNIOR et al., 2016). Aparentemente, essa prática parece ser inofensiva, no entanto pode gerar gastos supérfluos, atraso no diagnóstico e na implementação de terapêutica adequada, reações adversas, intoxicações e confusão entre sintomatologias que ficam mascaradas (QUESSADA, 2010). Entretanto, não é possível estabelecer precisamente todas as inter-relações entre as consequências da administração dessas substâncias em longo prazo e as diferentes enfermidades.

Diante disto, há grande desafio das ciências agrárias em manter a produção agropecuária de forma equilibrada e sustentável a níveis que abasteçam a crescente população (SOARES et al., 2011). Além de manter os níveis altos de produção, há ainda a necessidade de atender a população preocupada com a segurança alimentar e a preservação do meio ambiente, uma vez que, os aspectos relacionados à saúde das pessoas têm aumentado e os consumidores estão se tornando mais informados e buscam por produtos de maior qualidade e saudável do ponto de vista de segurança alimentar.

Assim, diante do uso abusivo de medicamentos veterinários e o interesse do consumidor por produtos saudáveis do ponto de vista da segurança alimentar, objetivou-se com essa revisão abordar os aspectos relacionados ao uso indiscriminado de tais medicamentos na pecuária.

2 PECUÁRIA BRASILEIRA

No agronegócio brasileiro o setor agropecuário é um dos que mais tem contribuído para o crescimento econômico do Brasil nos últimos anos, com destaque para a bovinocultura (EMBRAPA, 2014). O país tem cerca de 217,7 milhões de cabeças de bovinos e 1,3 milhões de cabeças de bubalinos (MAPA, 2018a). A participação da carne bovina brasileira no comércio internacional cresce a cada ano, estimativas indicam que o Brasil pode se manter como o primeiro exportador mundial (FORMIGONI, 2018).

A importância econômica e social da bovinocultura no país é demonstrada pela presença da atividade em todos os estados brasileiros. O rebanho bovino brasileiro proporciona o desenvolvimento de dois segmentos lucrativos, a cadeia produtiva do leite e a cadeia produtiva da carne, estando à segunda na primeira colocação em produção mundial (CARVALHO, 2018). A análise da EMBRAPA (2014) relata que o aumento da produção de carne, responsáveis pelos ganhos do agronegócio, é decorrente dos rendimentos de carcaça e dos resultados da modernização da pecuária, que permite o abate de animais precoces e mais pesados. Entretanto, a maior parte da produção brasileira é proveniente de pequenas propriedades rurais, com pouca

tecnologia e muitas vezes de agricultura familiar (GALDINO; DOMINGUES; LAPENNA, 2012).

Contudo, quer sejam obtidos da produção de grandes propriedades ou em propriedades familiares, os países que importam a carne e o leite brasileiros fazem várias exigências em relação às características de qualidade, alimentação do rebanho, métodos de produção e instalações (LUCHIARI FILHO, 2006) a fim de adquirirem alimentos isentos de resíduos e de riscos à saúde do consumidor (LIU; PIENIAK; VERBEKE, 2013), ou seja, um alimento seguro. Os consumidores internos também estão cada vez mais exigentes em relação aos produtos de origem animal que adquirem, buscando segurança alimentar, sociedade justa e preservação do meio ambiente. Portanto, o pecuarista brasileiro não pode perder de vista o conceito de qualidade (LUCHIARI FILHO, 2006).

Dentro desse contexto, as boas práticas agropecuárias em toda a cadeia produtiva são essenciais, há conjuntos de normas e de procedimentos que devem ser praticados pelos produtores rurais. Estes procedimentos, além de tornar os sistemas de produção mais rentáveis e competitivos, garantem a oferta de alimentos seguros. Assim, o produtor rural poderá identificar e controlar os diversos fatores que influenciam a produção e ampliar as possibilidades de conquista de novos mercados (EMBRAPA, 2014).

3 USO INDISCRIMINADO DE MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS

O Brasil está inserido como o quinto maior mercado veterinário em todo o mundo, tendo um faturamento crescente a cada ano. O setor vem se destacando pelo aumento das exportações de produtos veterinários e pela maior conscientização dos criadores da importância de manter os rebanhos saudáveis (SOUZA JUNIOR et al., 2016).

De acordo com o MAPA (2018b):

Os produtos de uso veterinário são todas as substâncias química, biológica, biotecnológica ou preparação manufaturada, cuja administração seja de forma individual ou coletiva, direta ou misturada com os alimentos, destinada à prevenção, ao diagnóstico, à cura ou ao tratamento das doenças dos animais, incluindo os aditivos, suprimentos promotores, melhoradores da produção animal, medicamentos, vacinas, antissépticos, desinfetantes de uso ambiental ou equipamentos, pesticidas e todos os produtos que, utilizados nos animais ou no seu habitat, protejam, restaurem ou modifiquem suas funções orgânicas e fisiológicas, bem como os produtos destinados ao embelezamento dos animais.

Dentre estes, os fármacos e produtos químicos são frequentemente utilizados no manejo dos bovinos para o combate às doenças, parasitos e pragas das pastagens, contudo, o sistema de produção tem sido contestado em função do uso de forma indiscriminada ou irregular. Assim, os defensivos agrícolas, medicamentos químicos, hormônios sintéticos e adubos químicos devem ser utilizados sob diversas restrições com o objetivo principal de tornar os rebanhos saudáveis pelo manejo adequado. Além de libertar os produtores e os animais da dependência das indústrias farmacêuticas que incentivam a utilização de seus fármacos, que inevitavelmente contaminam o meio ambiente e afetam os consumidores pelos resíduos presentes nos alimentos de origem animal (ROSSI; LEMOS, 2013).

Ressalta-se que dentre os produtos veterinários há expressiva quantidade de medicamentos que só pode ser vendida sob prescrição médica veterinária, com a orientação ao proprietário da posologia recomendada e do cumprimento do período de carência do medicamento, de modo que evitem danos à saúde animal e humana. Uma vez que na medicina veterinária, devem sempre ser considerados o paciente e o seu proprietário (GOEBEL-LAUTH, 2014). Entretanto, muitas vezes medicamentos são comercializados sem essa prescrição. Isso acontece, pois há proprietários desinformados, falhas na fiscalização, falta de seriedade e de responsabilização dos profissionais, que compactuam com a irregularidade e descumprem a legislação, infringindo diretamente o código de ética de suas categorias profissionais (AQUINO, 2012).

A automedicação, procedimento comum em seres humanos, refere-se à utilização de fármacos sem a prescrição do profissional responsável. Em medicina veterinária, apesar de não ser automedicação, a utilização de medicamentos sem prescrição ocorre por parte de proprietários em seus animais. Os medicamentos, muitas vezes são indicados por balconistas, vendedores de lojas de produtos agropecuários (CARVALHO et al., 2012; LEITE et al., 2006). Parte dos proprietários também recorre a fármacos de uso humano para tratamento sintomático em seus animais (SILVA FILHO et al., 2013).

Estudos demonstram que há facilidade de obtenção de medicamentos veterinários pelos produtores em lojas agropecuárias, sem a necessidade de prescrição, o que contribui com a intensificação do uso indiscriminado. Em uma pesquisa realizada por Korb et al. (2011), os produtores de leite afirmaram que utilizam os serviços de médico veterinário somente em casos graves, pois geralmente compram o medicamento diretamente da loja agropecuária e sem prescrição de profissional capacitado.

Benedito et al. (2015) constataram que a administração de fármacos sem prescrição

profissional é uma realidade comprovada na clínica de grandes animais, sendo ponto importante a ser considerado na anamnese e na prevenção de falhas no tratamento. Avaliando fichas de animais atendidos em um hospital veterinário os mesmos autores observaram que os principais medicamentos utilizados sem prescrição foram anti-inflamatórios, como flunixin meglumine e fenilbutazona, e antibióticos, como as penicilinas, tetraciclina e sulfa/trimetoprim, além de associações entre antibióticos e anti-inflamatórios, antiparasitários, analgésicos e suplementos vitamínicos.

Silva Filho et al. (2013) passaram-se por clientes em 38 pontos comerciais de produtos e medicamentos veterinários na Paraíba, descrevendo caso clínico fictício de vômito e diarreia iniciado no dia anterior em um cão, porém sem a presença do animal. Em todos os estabelecimentos visitados o atendimento foi efetuado por balconista e/ou proprietários do estabelecimento, todos desabilitados de efetuar a prescrição de medicamentos. Apenas quatro (10,5%) dos estabelecimentos visitados não indicaram medicamentos e recomendaram a consulta com profissional para diagnóstico e tratamento adequados. A prescrição de fármacos por balconistas e proprietários leigos apresentou índice de 89,5%, fato extremamente preocupante. Na pesquisa, a enrofloxacin foi o medicamento mais indicado, por 15 dos atendentes consultados, o que representa 33,3%. Neste trabalho, os autores constataram que a indicação de medicamentos de uso restrito à medicina veterinária vem sendo praticada indiscriminadamente, para o tratamento de diferentes enfermidades, por pessoas não capacitadas para tal função, em diversas lojas agropecuárias, farmácias veterinárias e outros estabelecimentos comerciais.

Em estabelecimentos nos municípios de Nanuque/MG e Ponto Belo/ES, Souza Júnior et al. (2016) verificaram que os medicamentos comercializados perante receituário veterinário representam apenas 12%, sendo a comercialização de medicamentos feita sem receituário em 88% dos casos, tendo como base apenas os sinais e sintomas descritos pelo comprador e a indicação pelo atendente. Os autores concluíram que a não consulta com o médico veterinário está relacionada diretamente com a parte cultural. Visto que o mesmo ocorre com os seres humanos que, na maioria das vezes, ao invés de procurarem o médico para realizar o diagnóstico e o tratamento adequado, recorrem às farmácias a fim de comprarem medicamentos sem prescrição para tratamento sintomático.

3.1 CONSEQUÊNCIAS DIRETAS AOS ANIMAIS E AOS HUMANOS

O uso indiscriminado de medicamentos veterinários pode gerar problemas de magnitudes diversas, como por exemplo, oferecer riscos para o animal que está sendo tratado e para a pessoa que administra o medicamento (GOEBEL-LAUTH, 2014).

Nos animais, os medicamentos administrados sem controle podem causar possíveis intoxicações, as mais variadas reações adversas e, em longo prazo, problemas crônicos (SOUZA JUNIOR et al., 2016). A cada ano, são atendidos vários casos de intoxicação exógena, acidentais ou intencionais, nas clínicas e nos hospitais veterinários. Uma das principais causas de intoxicação é o uso inadequado de medicamentos, muitas vezes administrados nos animais sem orientação ou acompanhamento de um profissional qualificado, devido à falta de informação da população (MEDEIROS et al., 2009).

Paralelo a isso, além de possíveis danos à saúde do animal, o ser humano pode sofrer direta ou indiretamente prejuízos ao seu bem-estar em decorrência do inadequado tratamento medicamentoso do animal. A medicação inadequada dos bovinos - dosagens incorretas, via de administração não recomendada, terapia indiscriminada e uso de substâncias proibidas - pode deixar resíduos em produtos alimentícios de origem animal caso não ocorra respeito ao tempo de carência, colocando em risco a saúde humana (MAFFEI; NOGUEIRA; BRONDI, 2009).

Resíduos de diversas classes de medicamentos veterinários são frequentemente encontrados nas análises laboratoriais de alimentos de origem animal, como carnes, leite, ovos e mel (PRESTES et al., 2013). A aplicação indiscriminada de medicamentos veterinários em vacas tem criado problemas ao homem pela presença de resíduos no leite e em seus derivados (SOUSA et al., 2012). Além dos prejuízos ocasionados à saúde humana, tem-se o prejuízo econômico para a indústria de laticínios, pois a presença de antimicrobianos no leite inibe as bactérias utilizadas na fabricação de queijos, iogurtes, manteiga e de outros produtos fermentados (SILVA; SARMENTO; FRANCA, 2008). A pasteurização, a fervura e a esterilização do leite não destroem os resíduos de antibióticos, constituindo em riscos para o consumidor e um problema para a indústria (KORB et al., 2011), evidenciando a necessidade de empregar os medicamentos veterinários de acordo com as boas práticas de uso em animais de produção, de forma a proteger a saúde pública e evitar prejuízos para as agroindústrias.

Entretanto, a magnitude do impacto na saúde pública da ingestão de alimentos com resíduos de medicamentos suficientes para determinar o poder cumulativo, o efeito combinado, a mutabilidade e as possibilidades de interação de tais resíduos no organismo humano ainda não está completamente elucidada. No entanto, há evidências suficientes que causam

apreensão, como situações em que após o consumo de alimentos que apresentam resíduos de medicamentos veterinários, pessoas apresentaram efeitos adversos, incluindo reações alérgicas em indivíduos hipersensíveis (SOUZA, 2013), os efeitos podem variar dependendo da constituição química do resíduo e da quantidade que foi ingerida. Demais agentes químicos também podem representar risco à população, como os resíduos de pesticidas, a contaminação por micotoxinas e por metais pesados (SPISSO; NÓBREGA; MARQUES, 2009).

Além dos prejuízos causados aos animais e aos humanos, pelo uso indiscriminado de medicamentos, há ainda riscos para o meio ambiente, pois os animais podem ser mantidos em pastagens e expor seu habitat diretamente a substâncias que apresentam risco potencial, justificando a importância dos testes de segurança ambiental (GOEBEL-LAUTH, 2014).

3.2 PROBLEMAS RELACIONADOS AOS PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

A segurança alimentar refere-se ao significado político de direito à alimentação em quantidade e qualidade necessárias a boa nutrição, bem como, no sentido restrito de alimentos seguros, inócuos. A qualidade e a segurança dos produtos de origem animal começam na propriedade e se estendem até o momento em que o alimento é consumido (CARVALHO, 2010). Desta forma, para produtos de saúde veterinária, uma parte considerável do dossiê de registro trata da segurança alimentar humana, porque os animais de criação produzem alimentos para consumo humano (GOEBEL-LAUTH, 2014).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) dividem as responsabilidades referentes aos riscos de agravo à saúde decorrente da exposição humana a resíduos de medicamentos veterinários. Entretanto, o gerenciamento e a comunicação do risco no país têm se alicerçado mais na adequação às exigências internacionais do que propriamente na proteção à saúde da população brasileira (SPISSO; NÓBREGA; MARQUES, 2009).

Diante dessa responsabilidade, a ANVISA implantou em 2003, o Programa Nacional de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo (PAMVET), para avaliar a qualidade dos principais produtos de origem animal, dentre eles o leite, pela importância que ele assume na nutrição humana (KORB et al., 2011). O Programa tem como objetivo avaliar o potencial de exposição do consumidor a resíduos de medicamentos veterinários pela ingestão de alimentos de origem animal adquiridos no comércio.

Assim, é competência da ANVISA o estabelecimento de limites máximos de resíduos (LMR) e contaminantes para os alimentos de origem animal. O LMR é a concentração máxima

de resíduos resultante da utilização de um medicamento veterinário que se pode aceitar. Este limite baseia-se no tipo e quantidade de resíduos que não apresentam risco de toxicidade para a saúde humana, levando-se em consideração a Ingestão Diária Aceitável (IDA). Os LMR também consideram as boas práticas veterinárias e levam em conta os resíduos presentes nos alimentos de origem vegetal e/ou no ambiente.

Embora haja legislação que regulamente a presença de resíduos em alimentos, não há rigor dos produtores em cumpri-la e, tão pouco, fiscalização eficiente de órgãos competentes. Para Rossi e Lemos (2013) a presença de perigos para a saúde humana nos alimentos está relacionada aos aspectos físico-químicos dos alimentos e medicamentos, devido, principalmente, à alimentação fornecida e ao tipo de instalação e manejos utilizados, pois estes influenciam nas características do produto final. Um dos fatores que contribuem para a presença de resíduos medicamentosos é, por exemplo, não respeitar o período de carência, que se caracteriza como o tempo entre a aplicação e a eliminação substanciada da droga e de seus metabólitos. Além das consequências à saúde humana, tal prática pode gerar impacto econômico ao impedir a comercialização interna e a exportação de carnes, pois a produção de carnes é uma das atividades agropecuárias mais importantes para a economia brasileira (SOUZA JUNIOR et al., 2016).

Dentre os medicamentos veterinários utilizados os antimicrobianos e os antiparasitários são os que comumente contaminam o leite e a carne, alimentos largamente consumidos pela população e de alto valor nutritivo, pela não observação do período de carência específico após a administração de tais medicamentos (AMBROZIN; SEVERINO; RODRIGUES, 2007).

A incidência de contaminação no leite consumido e comercializado no Brasil é alta. Os estudos publicados na última década indicam que cerca de 8% do leite comercializado no país apresenta níveis de antibióticos mais elevados do que o permitido pela legislação em vigor (TROMBETE; SANTOS; SOUZA, 2014). Em pesquisa de resíduos de antibióticos com 26 amostras de leite pasteurizado tipo C, coletadas em estabelecimentos comerciais de Salvador, Barros, Jesus e Silva (2011) encontraram 38,5% das amostras com resultado positivo, em desacordo com a legislação. O fato foi atribuído pelos pesquisadores ao uso indiscriminado de antibióticos, seja para fins terapêuticos ou incorporados à alimentação como suplemento dietético, e ao desrespeito ao tempo de carência indicado. Destaca-se, contudo, a complexidade de se analisar contaminantes químicos nos alimentos e a dificuldade de relacionar tais substâncias à etiologia de enfermidades (SOUSA et al., 2012). É fundamental o desenvolvimento de métodos para a determinação de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal e a orientação e conscientização de profissionais da pecuária e de produtores,

assim como a fiscalização dos produtos.

Além de colocar em risco a saúde dos consumidores, resíduos em alimentos comprometem as relações comerciais que envolvam produtos de origem animal *in natura* e processados, principalmente no âmbito internacional (LERAYER et al., 2002). Apenas por meio da articulação do setor saúde com os demais setores, igualmente comprometidos com a segurança de alimentos, será possível criar uma estrutura adequada e eficaz para identificar, prevenir e eliminar ou minimizar os riscos à saúde humana provenientes do uso de medicamentos veterinários em animais de produção (SPISSO; NÓBREGA; MARQUES, 2009).

3.3 RESISTÊNCIA BACTERIANA E DE OUTROS PATÓGENOS

Segundo a Food and Agriculture Organization (WHO, 2000) agentes que alteram a produção animal são substâncias, que não apresentam características de nutrientes, administradas aos animais de criação pelas vias oral, por meio da incorporação à ração ou à água, ou por via parenteral, sendo injetadas ou implantadas, visando aumentar a produtividade.

Dentre estas substâncias estão os medicamentos, que inicialmente eram administrados apenas com propósito terapêutico, porém, com o desenvolvimento de novos conhecimentos e a descoberta de novos compostos, passaram a ser empregados como métodos preventivos de doenças e como promotores de crescimento, quase sempre em doses subterapêuticas, principalmente em rebanhos. Exemplos disso são os antibióticos, medicamentos amplamente utilizados na produção animal como medida terapêutica no tratamento de infecções, subterapêutica na prevenção de doenças e também como promotores do crescimento (KORB et al., 2011). O uso de antibióticos em dose subterapêutica ou de forma indiscriminada pode provocar a resistência bacteriana.

Quando os antibióticos utilizados na saúde humana e na saúde animal possuem os mesmos princípios ativos, as bactérias que se tornaram resistentes em virtude do medicamento utilizado no tratamento de animais poderão afetar a saúde humana. Esse fenômeno é chamado de resistência cruzada de antimicrobianos (SILVA; SARMENTO, FRANÇA, 2008).

No entanto, são poucos os dados que relacionam a problemática da resistência bacteriana na pecuária com a saúde humana, e que destacam o fenômeno da resistência cruzada decorrente da semelhança entre os antibióticos utilizados em seres humanos com os utilizados nos animais (KORB et al., 2011). Fato preocupante, uma vez que a vasta gama de antibióticos utilizados em animais possuem o mesmo princípio ativo e estruturas moleculares daqueles

utilizados na saúde humana (SOUZA JUNIOR et al., 2016), pertencendo às mesmas classes de antimicrobianos (ARIAS; CARRILHO, 2012).

Além das classes de antibióticos utilizadas no tratamento de humanos e animais na maioria das vezes serem as mesmas, outra preocupação ocorre em relação ao uso de antibióticos na pecuária. Brito (2003) afirma que antibióticos veterinários são administrados por conta própria pelos proprietários e tratadores, e isso ocasiona erros de administração, na dosagem, na via de administração ou na duração do tratamento, ocasionando a resistência de cepas bacterianas (KORB et al., 2011). Consequências semelhantes ocorrem devido ao uso indiscriminado de antiparasitários, que fez com que a maior parte dos produtos perdesse a eficácia. Associado a este problema, está o uso de fármacos anti-helmínticos que causam a seleção de nematódeos resistentes aos medicamentos (SOARES; CAVALCANTE; HOLANDA JUNIOR, 2015).

O Ministério da Agricultura instituiu o Programa Nacional de Prevenção e Controle de Resistência a Antimicrobianos na Agropecuária (AgroPrevine), por meio da instrução Normativa Nº 41, publicada no Diário Oficial de 9 de novembro de 2017. O AgroPrevine promoverá intervenções estratégicas no mercado, como estudos epidemiológicos, fortalecimento da implementação de medidas de prevenção e controle de infecções, promoção do uso racional dos antimicrobianos e da sua resistência. O objetivo é fortalecer as ações de prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos na agropecuária, considerando o conceito de saúde única, que estabelece a interdependência entre a saúde humana, animal e ambiental, utilizando como ferramentas educação sanitária, vigilância e defesa agropecuária (BRASIL, 2017a).

Tendo em vista a complexidade da resistência bacteriana, é necessário o uso racional de antibióticos, tanto na saúde humana, quanto na saúde animal e o seu controle exige a atuação conjunta entre o setor da saúde, da educação, da agricultura e dos meios de comunicação (KORB et al., 2011).

4 AÇÕES E ALTERNATIVAS PARA REDUZIR O USO INDISCRIMINADO DE PRODUTOS QUÍMICOS NA PECUÁRIA

Frente à crescente demanda por produtos de origem animal, o país se respalda em legislações e normas, que regem princípios importantes no manejo da produção animal para a garantia da qualidade do leite e da carne produzidos. Foi publicado em 2017 o Novo Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal -

RIISPOA, Decreto nº 9.013 de 29 de Março de 2017 (BRASIL, 2017b), que regulamenta a Lei nº 1283, de 18 de dezembro de 1950, que é a legislação máxima, sob o ponto de vista industrial e sanitário, das atividades do Serviço de Inspeção Federal-SIF/ Dipoa – MAPA.

Soares et al. (2011) destacam que saúde não é apenas ausência de doença, mas habilidade de resistir a infecções, ataques de parasitas e perturbações metabólicas, desta forma, o tratamento veterinário é considerado um complemento e nunca um substituto às boas práticas de manejo. Os mesmos autores afirmam que em relação ao tratamento veterinário, o objetivo principal das práticas de criação deve ser a prevenção de doenças, que é a base da medicina veterinária, devendo ser objetivo em qualquer tipo de criação. E quando houver necessidade de intervenções é importante identificar e controlar as causas e não somente tratar os sinais clínicos.

Dentre as boas práticas de manejo, está a aquisição de animais saudáveis, de forma a minimizar a ocorrência de doenças e, conseqüentemente, a necessidade de administração de substâncias medicamentosas nos espécimes do rebanho. É imprescindível o uso de raças adaptadas, capazes de produzir satisfatoriamente em condições naturais de criação, sem o uso preventivo de antibióticos, promotores de crescimento e implantes hormonais (ALMEIDA, 2013).

Assim, os produtores devem levar em conta a utilização de animais com bom potencial produtivo e reprodutivo, adaptados ao meio e que respondam positivamente aos insumos utilizados na cadeia produtiva, levando-se em conta a preservação ambiental (SOARES et al., 2011). Muitas enfermidades podem ser evitadas com a adoção de instalações e condições ambientais apropriadas para os animais, alimentação balanceada e rigoroso controle sanitário.

Dentre as enfermidades que podem ser evitadas estão as transmitidas pelo carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, um dos principais ectoparasitas no Brasil e que acarreta muitos prejuízos a bovinocultura (VERÍSSIMO, 2013). Levando-se em conta que 95% dos carrapatos de uma propriedade encontram-se no ambiente, o rodízio de pastagens com descanso de 30 dias, o que interrompe o ciclo de vida do artrópode, reduz o nível de infestações, possibilitando controle mais eficiente com menor número de tratamentos químicos (SOARES; CAVALCANTE; HOLANDA JUNIOR, 2015).

Em busca da oferta de produtos saudáveis, tem crescido a adesão dos pecuaristas brasileiros à produção e ao mercado orgânico. Entre janeiro de 2014 e janeiro de 2015, a quantidade de produtores que optaram pela produção orgânica passou de 6.719 para 10.194, aumento de 51,7%. A área total de produção orgânica no Brasil chega a quase 750 mil hectares (MAPA, 2015).

Entretanto, há controvérsias quanto ao valor nutricional e ao preço de venda dos alimentos orgânicos em comparação com os alimentos produzidos convencionalmente (SOUSA et al., 2012). Fato comprovado pelo estudo realizado por Granella et al. (2013) que verificou a contaminação de leite por resíduos químicos em três estados brasileiros. Foram analisadas cinco marcas de leite pasteurizado orgânico certificados e cinco marcas de leite pasteurizado convencional, os resultados mostraram que tanto o leite orgânico quanto o convencional apresentaram contaminação por defensivos agrícolas. Das 56 amostras obtidas, cinco (8,9%) continham resíduos de defensivos, sendo que destas, três eram amostras de leite orgânico (duas foram positivas para clomazone e uma para clorpirifós). Os dados encontrados preocupam, demonstrando que a produção orgânica de leite não está em conformidade com a legislação vigente (BRASIL, 2011), pois os produtos de origem animal orgânicos, tendem a serem alimentos mais saudáveis do ponto de vista da segurança alimentar do que os produzidos em sistemas convencionais. Contudo, é indispensável a fiscalização dos órgãos competentes para a certeza de se obter um produto saudável.

Outra forma de melhorar a sustentabilidade da pecuária é utilizar as terapias alternativas na medicina veterinária, que vêm crescendo a cada ano, principalmente pela possibilidade de serem utilizadas sem ocasionar resíduos tóxicos nos produtos de origem animal (BENEZ, 2002). A busca de métodos naturais para tratamento veterinário ganha espaço cada vez maior entre os produtores, principalmente quando esses métodos estão associados ao manejo adequado da produção.

Dentre os métodos alternativos, o tratamento homeopático vem sendo utilizado com bons resultados e diminuição de custos (SOARES; CAVALCANTE; HOLANDA JUNIOR, 2015). O princípio da homeopatia é a utilização de medicamentos dinamizados, ou seja, medicamentos preparados a partir de substâncias animais, vegetais, minerais ou tecidos doentes. Dados apresentados por Mendonça (2001) revelaram que, nas fazendas onde houve a utilização de tais medicamentos, houve menor infestação por ectoparasitas, e a qualidade do leite melhorou, apresentando menor contagem de células somáticas e menor frequência de casos de mastite.

As plantas medicinais também têm sido utilizadas como método alternativo no controle de doenças do gado. Ressalta-se que ela tem potencial como método alternativo por ser mais barato, e bem como resgatar à cultura e à tradição dos produtores. Contudo, há necessidade de esclarecimentos à população quanto à utilização das mesmas, da necessidade de acompanhamento e melhor entendimento de suas implicações. O conhecimento é empírico e, para sua credibilidade, requer comprovações de resultados eficazes (ARCEGO, 2005).

Os fitoterápicos são medicamentos convencionais obtidos empregando-se, como princípios ativos, exclusivamente derivados de drogas vegetais (ANVISA, 2015). Medicamentos fitoterápicos podem ser destinados ao uso humano ou veterinário, no entanto devem ser regulamentados, respectivamente pela ANVISA e pelo MAPA. No mercado, são encontrados produtos fitoterápicos, mas é importante verificar se são registrados no MAPA (SOARES; CAVALCANTE; HOLANDA JUNIOR, 2015), pois apesar de naturais, o registro comprova a idoneidade e procedência dos mesmos. Destaca-se que a utilização inadequada dos fitoterápicos pode trazer efeitos colaterais, portanto é de grande importância educar a população, conscientizando-a sobre o uso adequado das plantas e medicamentos ditos naturais (CARLINI, 2004).

Além dos tratamentos homeopáticos e fitoterápicos, há o controle biológico que pode ser realizado na bovinocultura tanto para o controle de parasitas dos animais quanto para o de pragas das pastagens. Controle biológico é definido como o uso de qualquer agente biológico para regular as populações de pragas. Entre estes agentes, que são os “inimigos naturais” das pragas, encontram-se os parasitoides, predadores e patógenos (BORJA, 2004). Por meio da liberação no ambiente, incremento e conservação de inimigos naturais, impede-se que os insetos-praga atinjam níveis capazes de causar dano econômico, tendo como principais vantagens não deixar resíduos no ambiente, ser atóxicos para o homem e atuarem de forma específica (OLIVEIRA; ÁVILA, 2010).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pecuária tem sido contestada em função do uso indiscriminado ou errôneo de medicamentos veterinários, fato que pode acarretar problemas econômicos para o produtor, prejudicar a fabricação de subprodutos do leite, e, principalmente, trazer problemas à saúde dos animais e dos consumidores.

Além de aumentar a produção, é fundamental que os produtores empenhem-se para implantar em seus rebanhos boas práticas ligadas à qualidade dos alimentos de origem animal, que garantam segurança alimentar, saúde pública, bem estar animal e preservação do meio ambiente.

A contenção ou minimização dos danos pelo uso indiscriminado de medicamentos veterinários somente será alcançada com o uso racional destes, e isso requer a participação consciente e constante dos médicos veterinários, profissionais responsáveis pelo estabelecimento comercial, proprietários, sistema público, sociedade e indústria farmacêutica.

6 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L. R. de. Manejo de parasitoses em sistema orgânico de produção de leite. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, n. 1, p. 129-134, 2013.
- AMBROZIN, B. R.; SEVERINO, R. J.; RODRIGUES, E. C. Segurança alimentar e seu aspecto legal no comércio da carne no Brasil. **Revista Núcleo de Pesquisa Interdisciplinar**, v. 2, n. 2, p. 26-28, 2007.
- ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Medicamentos fitoterápicos e produtos tradicionais fitoterápicos. **Consolidado de normas da COFID (Versão V)**. Brasília: ANVISA: 2015. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33836/351410/Consolidado+de+normas+da+COFID+%28Vers%C3%A3o+V%29/3ec7b534-a90f-49da-9c53-ce32c5c6e60d?version=1.0>>. Acesso em: 07 jul. 2018.
- AQUINO, C. **Indiscriminado e perigoso**. Brasília: Caderno Saúde, Correio Braziliense, 2012. p. 19.
- ARCEGO, M. S. C. **Plantas medicinais no controle de doenças no gado leiteiro**. Porto Alegre: EMATER/RS, 2005. p. 1-11
- ARIAS, M. V. B.; CARRILHO, C. M. D. M. Resistência antimicrobiana nos animais e no ser humano. Há motivo para preocupação? **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 2, p. 775-790, 2012.
- BARROS, G. M. S.; JESUS, N. M. de; SILVA, M. H. Pesquisa de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado tipo C, comercializado na cidade de Salvador. **Revista Brasileira Saúde e Produção Animal**, v. 2, n. 3, p. 69-73, 2011.
- BENEDITO, G. S. et al. Retrospective study : incidence of medication without veterinary hospital. In: 42º CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA E 1º CONGRESSO SUL-BRASILEIRO DA ANCLIVEPA. **Anais...** Curitiba - PR, 2015. p. 1238-1242, 2015.
- BENEZ, S. M. **Manual de homeopatia veterinária: indicações clínicas e patológicas – teoria e prática**. São Paulo: Robe Editorial, 2002. 594 p.
- BORJA, G. E. M. Controle biológico do berne, *Dermatobia hominis* e de seus foréticos: crise e perspectiva. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, s.1, p. 111-113, 2004.
- BRASIL. Decreto-lei nº 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 29 mar. 2017b. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2015-2018/2017/Decreto/D9013.htm>. Acesso em: 28 jul. 2018.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 29 dez. 2011; Seção 1. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 23 set. 2018.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução normativa nº 41, de 23 de outubro de 2017. Institui o Programa Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos na Agropecuária - Agro-Previne, no âmbito do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 9 nov. 2017, nº 215, Seção 1, pág. 5. 2017a. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/noticias/ministerio-da-agricultura-cria-programa-de-prevencao-e-controle-de-antimicrobianos>>. Acesso em: 26 jul. 2018.

BRITO, M. A. V. P. Normas internacionais e exigências do Codex Alimentarius e comparação entre blocos comerciais sobre a adoção de testes para detecção de resíduos de antibióticos no leite. In: BRITO, J. R. F. (Ed.). **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2003. p. 65-76

CARLINI, E. **Entre conhecimento popular e científico**. 2004. Disponível em:<<http://www.comciencia.br>>. Acesso em: 15 fev. 2016.

CARVALHO, C. F. et al. Incidência de medicação em cães e gatos por seus responsáveis sem orientação médico-veterinária: levantamento em um hospital veterinário universitário. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, p. 1035-1042, 2012.

CARVALHO, R. R. de. **Segurança alimentar: aspectos sociais, políticos e econômicos no consumo da carne no estado do Rio de Janeiro**. 2010. 129f. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Programa de Pós-Graduação em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2010.

CARVALHO, T. B. de. **A importância do Brasil na produção mundial de carne bovina**. São Paulo, 2018. Disponível em: <<https://www.cepea.esalq.usp.br/br/opiniao-cepea/a-importancia-do-brasil-na-producao-mundial-de-carne-bovina.aspx>>. Acesso em: 22 set. 2018.

EMBRAPA. **Capacitação continuada de técnicos da cadeia da pecuária de corte**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Sinop, 2014. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agrossilvipastoril/capacitacao-continuada-corte>>. Acesso em: 24 jul. 2018.

FORMIGONI, I. **O Brasil é o maior exportador mundial de carne bovina**. 2018. Disponível em: <<http://www.farmnews.com.br/mercado/maior-exportador-mundial-de-carne-bovina/>>. Acesso em: 22 set. 2018.

GALDINO, M. C.; DOMINGUES, P. F.; LAPENNA, P. F. A produção de leite orgânico e aspectos de segurança alimentar. **Veterinária e Zootecnia**, v. 19, n. 4, p. 490-501, 2012.

GOEBEL-LAUTH, S. Veterinary regulatory writing in Europe. **Medical Writing**, v. 23, n. 3, p. 178–181, 2014.

GRANELLA, V. et al. Resíduos de agrotóxicos em leites pasteurizados orgânicos e convencionais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 4, p. 1731-1739, 2013.

KORB, A. et al. Riscos para a saúde humana do uso de antibióticos na cadeia produtiva leiteira. **Revista Saúde Pública**, v. 4, n. 1, p. 21-36, 2011.

LEITE, L. C. et al. Prescrição de medicamentos veterinários por leigos: um problema ético. **Revista Acadêmica**, v. 4, n. 4, p. 43-47, 2006.

LERAYER, A. L. S. et al. **Nova legislação de produtos lácteos: revisada, ampliada e comentada**. São Paulo: Revista Indústria de Laticínios, 2002. 327 p.

LIU, R.; PIENIAK, Z.; VERBEKE, W. Consumers' attitudes and behaviour towards safe food in China: A review. **Food Control**, v. 33, n. 1, p. 93–104, 2013.

LUCHIARI FILHO, A. Produção de carne bovina no Brasil: Qualidade, quantidade ou ambas? In: II SIMBOI - Simpósio sobre Desafios e Novas Tecnologias na Bovinocultura de Corte. Brasília-DF, 2006. **Anais...** Disponível em: <<http://www.abccriadores.com.br/newsite/images/Artigos/produo%20de%20carne%20bovina%20no%20brasil.pdf>> Acesso em: 21 jun. 2018.

MAFFEI, D. F.; NOGUEIRA, A. R. A.; BRONDI, S. H. G. Determinação de resíduos de pesticidas em plasma bovino por cromatografia gasosa- espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1713-1716, 2009.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Dados de rebanho bovino e bubalino no Brasil-2017**. 2018a. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/febre-aftosa/documentos-febre-aftosa/DadosderebanhobovinoebubalinodoBrasil_2017.pdf>. Acesso em: 08 jun. 2018.

_____. **Produtos veterinários**. 2018b. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios>>. Acesso em: 30 ago. 2018.

_____. **Produção sustentável: Número de produtores orgânicos cresce 51,7% em um ano**. 2015. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/comunicacao/noticias/2015/03/numero-de-produtores-organicos-cresce-51porcento-em-um-ano>>. Acesso em: 12 fev. 2016.

MEDEIROS, R. J. et al. Casos de intoxicações exógenas em cães e gatos atendidos na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense durante o período de 2002 a 2008. **Ciência Rural**, v. 39, n. 7, p. 2105–2110, 2009.

- MENDONÇA, A. Tratamento homeopático na produção de leite e o cooperativismo de verdade. In: FERNANDES, E. N.; BRESSAN, M.; VILELA, D. (Ed.). **Produção orgânica de leite no Brasil**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001. p. 49-58.
- OLIVEIRA, H. N.; ÁVILA, C. J. Controle biológico de pragas no Centro-Oeste brasileiro. **Revista de Controle Biológico**, p. 11-13, 2010.
- PRESTES, O. D. et al. O estado da arte na determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal empregando técnicas cromatográficas acopladas à espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 36, n. 5, p. 697-710, 2013.
- QUESSADA, A. M. et al. Uso de medicamentos sem prescrição médico veterinária. **Veterinária Notícias**, v. 16, n. 1. p. 10-19, 2010.
- ROSSI, G. A. M.; LEMOS, P. P. L.; Comparação da produção animal entre os sistemas orgânico e o convencional. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 11, n. 1, p. 6-13, 2013.
- SILVA FILHO, M. P. et al. Indicações de medicamentos de uso veterinário por balconistas de farmácias e estabelecimentos veterinários em diversos municípios do estado da Paraíba. **BioFar: Revista de Biologia e Farmácia**, v. 09, n. 03, p. 01, 2013.
- SILVA, M. V. M.; SARMENTO, A. M. C.; FRANCA, A. P. Resíduos de antibióticos no leite e seus efeitos na saúde pública: uma preocupação constante. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35, 2008, Gramado. **Anais...** Gramado, RS, 2008.
- SOARES, J. P. G.; CAVALCANTE, A. C. R.; HOLANDA JUNIOR, E. V. **Agroecologia e sistemas de produção orgânica para pequenos ruminantes**. 2015. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/36656/1/AAC-Agroecologia-e-sistemas.pdf>>. Acesso em: 06 jul. 2018.
- SOARES, J. P. G. et al. **Produção orgânica de leite: desafios e perspectivas**. III Simpósio Nacional de Bovinocultura de Leite e I Simpósio Internacional de Bovinocultura Leiteira. Suprema Gráfica e Editora LTDA, Viçosa - MG. p. 13-44. 2011. Disponível em: <<http://www.simleite.com/home/anais/III/palestra/02%20-%20Jo%C3%A3o%20Paulo.pdf>>. Acesso em: 8 jun. 2018.
- SOUSA, A. A. de, et al. Alimentos orgânicos e saúde humana: estudo sobre as controvérsias. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 31, n. 6, p. 513-517, 2012.
- SOUZA JUNIOR, L. O. de, et al. Panorama do comércio de medicamentos veterinários sem receita, em lojas de produtos agropecuários, nas cidades de Nanuque/MG e Ponto Belo/ES e os perigos que esse fato pode acometer à saúde pública. **Congresso Nacional de Conhecimento (CONAC)** 13 p. Porto Seguro BA, set. 2016. Disponível em: <<http://www.conacademico.com.br/2016/selecionados.php>>. Acesso em: 16 jul. 2018.
- SOUZA, U. A. **Resíduos de lactonas macrocíclicas no leite bovino**. 2013. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

SPISSO, B. F.; NÓBREGA, A. W. de; MARQUES, M. A. S. Resíduos e contaminantes químicos em alimentos de origem animal no Brasil: histórico, legislação e atuação da vigilância sanitária e demais sistemas regulatórios. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 14, n. 6, p. 2091-2106, 2009.

TROMBETE, F. M.; SANTOS, R. R. D.; SOUZA, A. L. R. Resíduos de antibióticos en la leche comercializada en Brasil: una revisión de los estudios publicados en los últimos años. **Revista chilena de nutrición**, v. 41 n. 2, p. 191-197, 2014.

VERÍSSIMO, C. J.; Controle biológico do carrapato do boi, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 11, n. 1, p. 14-23, 2013.

WHO. **Global principles for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food**. WHO/CDS/CSR. v. 4, p. 1-21. 2000. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/68931/WHO_CDS_CSR_APH_2000.4.pdf?sequence=1&isAllowed=y/>. Acesso em: 23 jul. 2018.



Capítulo
10

Aplicação de nanoemulsões na agricultura e medicina veterinária

Bianca de Oliveira Botelho¹
Davi Cardoso Aguiar de Melo²
Caroline de Souza Fontes³
Vagner Tebaldi de Queiroz⁴
Adilson Vidal Costa⁵
Isabella Vilhena Freire Martins⁶

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: biancabotelho93@hotmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: dcam21@hotmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: carolinefontes17@gmail.com

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: vagnertq@gmail.com

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: avcosta@hotmail.com

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: isabella.martins@ufes.br

1 INTRODUÇÃO

Em 2017, a agropecuária foi o setor com melhor desempenho na economia brasileira, se destacando com alta de 13%, enquanto a indústria ficou estagnada e serviços tiveram recuperação moderada (0,3%) (MAPA, 2018). Neste segmento econômico a agricultura é um dos setores que impulsionam a economia brasileira, gerando cerca de 8,5 bilhões de reais por ano (CARVALHO; KIST; TREICHEL, 2017).

A relevância das Ciências Veterinárias para a economia pode ser destacada pelo número de animais domésticos existentes atualmente no Brasil. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2013) existem mais de 132 milhões de animais domésticos. Considerando apenas o número de cachorros, 55 milhões, a população pet é maior que o número de crianças de 0 a 14 anos, que é de 44 milhões (IBGE, 2013).

Devido ao crescimento desses setores da economia, evidencia-se a importância de investimentos em pesquisas voltadas para o desenvolvimento de ferramentas visando minimizar

as perdas da produção ocasionada por fitopatógenos e a melhoria do bem estar e a produção animal (AMORIM; REZENDE; BERGAMIN FILHO, 2011; MEENA et al., 2018).

No setor agrícola, os agroquímicos são utilizados em conjunto com outras medidas de manejo integrado para o controle de diversos patógenos. Porém, o controle químico apresenta algumas limitações visto que alguns destes produtos são constituídos por um complexo de compostos químicos com baixa solubilidade em água e suscetíveis à degradação. Estas características contribuem para a redução da atividade biológica destes produtos em condições de campo (DIMA et al., 2016; PEDRO et al., 2013).

Neste contexto, a nanotecnologia propicia oportunidades na área de desenvolvimento tecnológico de agroquímicos, como a capacidade de melhorar a solubilidade de ingredientes ativos em água, assegurar a biodisponibilidade destes ingredientes e, conseqüentemente, a sua atividade biológica (CHANG; MCCLEMENTS, 2014; FENG et al., 2018).

Considerando o bem estar e a produção animal, a nanotecnologia encontra aplicações que variam desde o diagnóstico utilizando sondas e sensores *in vivo* até tratamentos na área da nanotecnologia farmacêutica (FENEQUE, 2003). A síntese de novas moléculas sintéticas fornece compostos terapêuticos para tratamento de doenças em animais de estimação e de produção (CHAKRAVARTHI; BALAJI, 2010). Esses novos compostos poderão ser utilizados no tratamento de infecções virais, bacterianas ou fúngicas, para acelerar processos de cicatrização, potencializar a ação de imunomoduladores e antiinflamatórios, e diminuir a toxicidade dos fármacos em função do aumento da biodisponibilidade dos mesmos (CHAKRAVARTHI; BALAJI, 2010).

O principal alvo de pesquisas na área de nanofármacos é a criação de sistemas de veiculação/distribuição de medicamentos. O desenvolvimento destes sistemas tem possibilitado melhorias na taxa de absorção, distribuição, metabolismo e excreção de drogas ou outras substâncias no corpo (FENEQUE, 2003).

Bernsteen e colaboradores (2003) demonstraram que a imunossupressão usando microemulsão de ciclosporina, um imunomodulador, combinada com azatioprina e prednisolona, pode ser eficaz na prevenção da rejeição aguda de aloenxertos renais em cães por até 100 dias.

No campo da nanotecnologia existe um grande interesse industrial na utilização das nanoemulsões, visto que estas possuem baixa viscosidade, estabilidade ao longo do tempo, transparência óptica, e podem realizar liberação controlada e assegurar a biodisponibilidade de diferentes compostos (GUPTA et al., 2016; WANG et al., 2007). Quando comparadas com as emulsões convencionais, as nanoemulsões apresentam vantagens como: baixa tensão

superficial, estabilidade cinética e maior poder de penetração dos agentes ativos (FENG et al., 2016).

O principal objetivo deste capítulo é incentivar o desenvolvimento de trabalhos de pesquisa nas áreas agrícola e em Ciências Veterinárias no campo da nanotecnologia visando explorar o potencial das nanoemulsões no controle de fitopatógenos e na clínica e na produção de animais.

2 NANOEMULSÃO

As nanoemulsões são dispersões coloidais, termodinamicamente instáveis, que apresentam gotículas esféricas com diâmetro variando entre 1 e 300 nm (ANTON; VANDAMME, 2011; LEONG et al., 2009; MCCLEMENTS, 2012). As microemulsões são dispersões coloidais termodinamicamente estáveis, formadas com quantidades elevadas de surfactante. Estas são compostas por pequenas partículas esferoides, constituídas por óleo, surfactante e possivelmente co-surfactante, dispersas em meio aquoso, e apresentam diâmetro médio de partícula inferior a 100 nm (MCCLEMENTS, 2012).

Assim como as microemulsões, as nanoemulsões são compostas por óleo, água e surfactante e o seu modo de preparo pode ser realizado com quantidades menores de surfactante. As nanoemulsões podem ser originadas a partir de microemulsões, quando é empregada certa quantidade de energia (MCCLEMENTS, 2012).

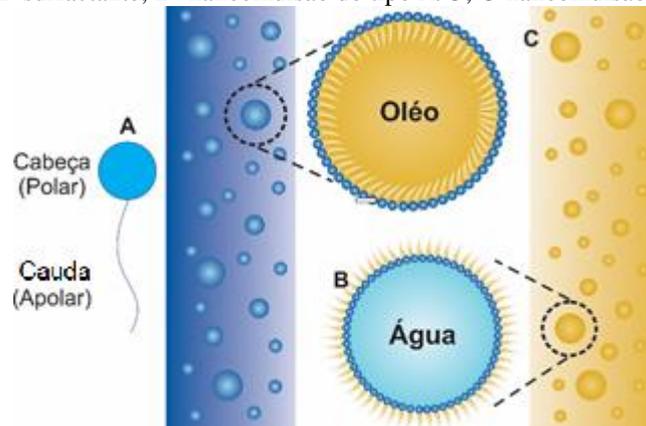
Em função do acima exposto, é importante salientar que a diferença entre micro- e nanoemulsão não deve ser associada aos prefixos micro (10^{-6}) e nano (10^{-9}) para descrever o diâmetro médio das gotículas presente nessas dispersões (MCCLEMENTS, 2012). É importante distinguir estes dois tipos de dispersões coloidais, pois essa distinção afeta diretamente os métodos usados para fabricá-las, as estratégias usadas para estabilizá-las e as abordagens usadas para projetar seus atributos funcionais (MCCLEMENTS, 2012).

No processo de preparo, os surfactantes (FIGURA 1A) são utilizados para que haja interação entre a fase polar e apolar de forma a garantir a estabilidade das emulsões coloidais. A parte polar (cabeça) do surfactante polar interage com o núcleo hidrofílico e a parte apolar (cauda) interage com o núcleo hidrofóbico (MCCLEMENTS, 2012).

As nanoemulsões mais comuns são do tipo água em óleo (A/O) representada pela figura 1B, ou óleo em água (O/A) representada pela figura 1C. Essa classificação é feita quando uma fase em forma de gotículas (fase dispersa) se encontra dispersa em outra fase (fase contínua),

permitindo a interação e o equilíbrio entre ambas (ANTON; VANDAMME, 2011; MCCLEMENTS, 2012; MCCLEMENTS; DECKER; WEISS, 2007).

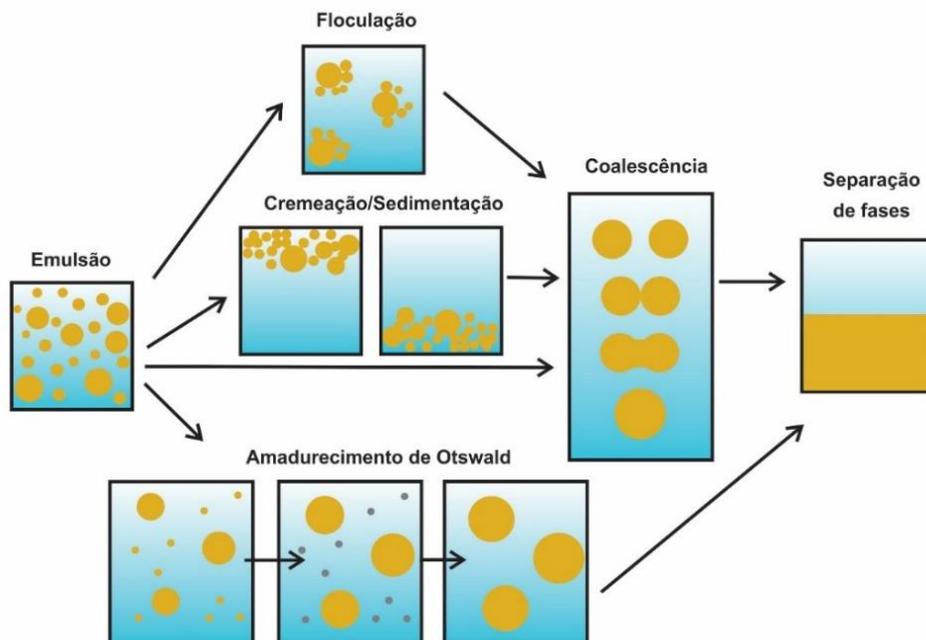
Figura 1. A- surfactante; B- nanoemulsão do tipo A/O; C-nanoemulsão do tipo O/A.



Fonte: Adaptado (SINGH et al., 2017).

Para garantir a estabilidade entre as fases presentes na nanoemulsão é necessário estabelecer uma relação adequada entre o surfactante e a fase oleosa. Quando essa relação não é estabelecida podem ocorrer os mecanismos de desestabilização descritos na figura 2 (MCCLEMENTS, 2005a; TADROS et al., 2004).

Figura 2. Mecanismos de desestabilização cinética das emulsões.



Fonte: Adaptado (MCCLEMENTS, 2005b).

Dentre os processos de desestabilização observados na figura 2, a coalescência é o resultado da colisão entre as gotículas. Esta colisão promove o rompimento da barreira interfacial, formando uma gotícula maior. Outro processo é a maturação de Ostwald, que ocorre quando o óleo presente em uma gotícula desloca-se para outra, dando origem a uma gotícula de tamanho maior e outra de tamanho menor (NAZARZADEH; ANTHONYPILLAI; SAJJADI, 2013). A falta de surfactante também pode resultar na separação entre as fases e na floculação, que é observada quando as gotículas se agregam no interior do sistema (SALAGER, 1988).

Os surfactantes possuem um papel importante para evitar a desestabilização do sistema, pois com a força interfacial e quantidade adequada de surfactante as nanoemulsões adquirem estabilidade cinética, sendo mais estável ao longo do tempo, diferente do que ocorre nas emulsões convencionais (BRÖSEL; SCHUBERT, 1999; PAL, 2011).

Estes sistemas de distribuição coloidais baseados em nanoemulsões estão sendo cada vez mais utilizados no meio industrial, para encapsular, proteger e distribuir componentes bioativos lipofílicos. O tamanho pequeno das partículas nesses sistemas significa que eles têm benefícios potenciais para certas aplicações, como estabilidade a longo prazo; alta clareza óptica; e maior biodisponibilidade (MCCLEMENTS, 2012). Em função da estabilidade cinética, as nanoemulsões são estáveis ao longo do tempo e, por isso possuem maior interesse industrial do que as microemulsões (ANTON; VANDAMME, 2011; MCCLEMENTS, 2012; WANG et. al., 2007).

2.1 MODO DE PREPARO

2.1.1 Baixa energia

O preparo de nanoemulsões usando métodos de baixa energia está associado à formação espontânea das gotículas, dentro da mistura de óleo, água e surfactante (O/S/A) (ANTON; BENOIT; SAULNIER, 2008; BOUCHEMAL et al., 2004). Algumas abordagens de baixa energia utilizadas para preparar nanoemulsões do tipo O/A se encontram a seguir:

1) Inversão de fase → A inversão de fase de um sistema do tipo (A/O) para (O/A) depende da variação de pelo menos um dos parâmetros da formulação (características físico-químicas do surfactante ou relação água/óleo). Esta variação está relacionada com a titulação de uma fase aquosa com uma fase orgânica, sob agitação constante até que ocorra a inversão de fases (ANTON; BENOIT; SAULNIER, 2008; MILLER, 1988).

2) Formação de nanoemulsões por métodos de autoemulsificação ou emulsificação espontânea → A energia química é liberada devido a um processo de diluição com a fase contínua. Geralmente ocorre a temperatura constante, sem nenhuma transição de fase durante a emulsificação. Ao diluir, ocorre a difusão de componentes miscíveis com água (solvente, surfactante e / ou co-tensioativo) da fase orgânica para a fase aquosa, para obter nanoemulsões O/A, o que resulta em aumento da área interfacial, originando o estado de emulsão metaestável (MILLER, 1988)

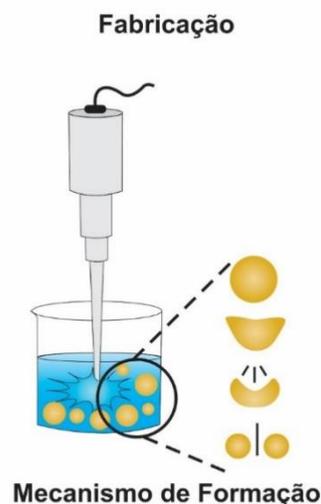
2.1.2 Alta energia

Inicialmente é formada uma emulsão grosseira, ou seja, uma simples mistura dos componentes, óleo, água e surfactante. Posteriormente essa emulsão passa por um processo de alta energia (GUPTA et al., 2016). Os métodos de alta energia geram uma força de ruptura com alta intensidade sobre as gotículas, induzindo a ruptura das mesmas e formando nanopartículas na fase dispersa (MCCLEMENTS, 2012).

Os métodos de alta energia mais utilizados são os microfluidificadores, homogeneizadores de alta pressão e métodos de sonicação. Dentre os métodos de sonicação, o mais comum é a homogeneização ultrassônica (MCCLEMENTS, 2011).

O homogeneizador ultrassônico é um aparelho que utiliza ondas ultrassônicas com alta intensidade para reduzir o tamanho de gotícula e auxiliar a homogeneização entre as fases presentes na emulsão (POVEY; MCCLEMENTS, 1992). Este aparelho possui uma sonda que é mergulhada na amostra, onde gera força resultante da combinação de cavitação, turbulência e ondas interfaciais, capaz de romper as gotículas, reduzindo-as de tamanho (FIGURA 3) (KENTISH et al., 2008; LEONG et al., 2009; MCCLEMENTS, 2011).

Figura 3. Mecanismo de formação de gotículas.



Fonte: Adaptado (MCCLEMENTS, 2012).

O menor tamanho da gotícula é atingido com associação de boas condições de preparo da amostra e maiores tempos de exposição ao homogeneizador ultrassônico, visto que quanto maior o tempo utilizado, menor será o tamanho da gotícula (LEONG et al., 2009; MCCLEMENTS, 2011).

Ao comparar o método de baixa energia com um método de alta energia observa-se que os dois métodos apresentam a possibilidade produzir gotículas menores em função da variação da relação surfactante óleo (QIAN; MCCLEMENTS, 2011).

Estudos demonstram que nanoemulsões contendo gotículas com diâmetro inferior a 300 nm podem ser produzidas usando o método de baixa energia. Este método é adequado para a produção de nanoemulsões sem a necessidade do uso de equipamentos como o ultrassom ou microfluidificador, desde que sejam utilizados níveis de surfactante suficientemente elevados. Por outro lado, o uso do ultrassom ou microfluidificador é capaz de produzir gotículas menores em níveis relativamente baixos de surfactante (OSTERTAG; WEISS; MCCLEMENTS, 2012; QIAN; MCCLEMENTS, 2011).

Uma grande vantagem do método de alta energia é, portanto, o fato de que muito menos surfactante é necessário para formar uma nanoemulsão. Sendo assim, este método possibilita benefícios econômicos e práticos, entre eles, menor custo com ingredientes; sabores desagradáveis reduzidos (associados a surfactantes); e menos problemas com a formação de espuma (ANTON; BENOIT; SAULNIER, 2008; OSTERTAG; WEISS; MCCLEMENTS, 2012; QIAN; MCCLEMENTS, 2011).

3 APLICAÇÕES

3.1 AGRICULTURA

Muitos dos pesticidas que são amplamente utilizados em aplicações agrícolas são moléculas altamente hidrofóbicas com baixa solubilidade em água e, portanto, precisam ser carregados em sistemas adequados para a sua distribuição (FENG et al., 2018). Em função disto as nanoemulsões têm apresentado aplicações práticas em formulações para solubilizar o princípio ativo dos pesticidas, a fim de viabilizar a utilização de agroquímicos na agricultura (FENG et al., 2018; WANG et al., 2007).

O uso de óleos essenciais (OEs) tem demonstrado atividade no controle *in vitro* de fitopatógenos. Entretanto, a sua utilização em condições de campo é dificultada pela volatilidade e baixa solubilidade em água dos OEs. Uma alternativa é o desenvolvimento de nanoemulsões que apresentem baixa viscosidade, contribuem para reduzir a volatilidade dos OEs bem como aumentem a sua solubilidade em água. Desta forma, as nanoemulsões contribuem para melhorar a atividade biológica dos OEs, possibilitando a utilização destes produtos em condições de campo (FENG et al., 2016, 2018; MCCLEMENTS et al., 2011).

Em outros estudos foi comprovada a melhoria da biodisponibilidade de composto ativo presente em sistemas nanoemulsionados da sua solubilidade em água e compatibilidade ambiental de perfis de toxicidade. (FENG et al., 2016).

3.2 MEDICINA VETERINÁRIA

O bem-estar dos animais, a segurança de produtos derivados de animais, os riscos para o meio ambiente, a saúde humana e a consolidação da indústria estão entre as principais preocupações da medicina veterinária, e as pesquisas em nanotecnologia estão voltadas para estas questões (MEENA et al., 2018).

Nesse contexto, as nanoemulsões têm sido utilizadas para aumentar a estabilidade e a biodisponibilidade de substâncias lipofílicas para o desenvolvimento de medicamentos (DILBAGHI et al., 2013). A formulação de nanoemulsões é uma das abordagens da nanociência que tem recebido cada vez mais atenção nas ciências farmacêuticas.

O uso de uma formulação de nanoemulsão é recomendado devido à sua maior capacidade de aprisionar a substância oleosa e manter uma consistência fluida, o que pode

facilitar a administração dos fármacos às espécies alvo (CHIME; KENECHUKWU; ATTAMA, 2014).

Os principais mecanismos responsáveis pelo aumento da biodisponibilidade se devem à melhora da solubilização do fármaco (LIPINSKI, 2002), proteção contra a hidrólise enzimática e aumento da área da superfície de contato de gotículas que levam a ampla distribuição da droga, bem como alterações de permeabilidade induzidas pelo surfactante (KE et al., 2005).

As nanoemulsões têm sido produzidas para uso veterinário (VANDAMME; ANTON, 2010) e resultados promissores estão sendo obtidos usando nanoemulsões para liberação de fármacos por diferentes vias de administração. Quando as nanopartículas de óleo entram em contato com as membranas de bactérias ou vírus envelopados, a tensão superficial das gotas força uma fusão com a membrana, destruindo-a e matando o patógeno (CHAKRAVARTHI; BALAJI, 2010).

Uma nanoemulsão de óleos de oliva, eucalipto, endro, mamona, hortelã-pimenta, alho, gengibre, girassol e capim-limão foi produzida por uma mistura simples dos óleos com Tween 80® na proporção de 1:4. Esta formulação melhorou significativamente a atividade antimicrobiana nas infecções de *Staphylococcus aureus* e *Aspergillus niger* quando comparada a emulsão convencional contendo os mesmos óleos e não apresentou toxicidade nos testes com modelos murinos (OSONWA et al., 2018).

O florfenicol é um antibiótico bacteriostático amplamente utilizado em espécies de animais de produção, incluindo suínos. O fármaco possui baixa solubilidade em água (cerca de 1,3 mg/mL), o que dificulta a formulação de uma solução aquosa concentrada de florfenicol em solventes orgânicos (SCHWARZ et al., 2004). Zhang e colaboradores (2016) realizaram um estudo para determinar as propriedades farmacocinéticas da nanoemulsão formulada de florfenicol do tipo óleo em água. A nanoemulsão e o controle de florfenicol comercial foram administrados a suínos numa dose de 20 mg/kg. Em comparação com o grupo controle, a biodisponibilidade relativa da nanoemulsão formulada foi de até 134,5%, demonstrando assim a capacidade de solubilização do fármaco pela nanoemulsão.

Vandamme e Anton (2010) desenvolveram nanoemulsões dos compostos lipofílicos cetoprofeno e sulfametazina, livres de solventes e formuladas com um método de baixa energia. Considerando que são preferencialmente administradas via parenteral e oral, respectivamente, essas nanoemulsões podem ser utilizadas para a liberação controlada de drogas injetáveis ou na administração de quantidades controladas de drogas pouco solúveis em água na dieta líquida de animais de produção.

No caso do método de dispersão na água de bebida de animais de produção, um problema importante está ligado à formulação de compostos lipofílicos, uma vez que se estima que 40% das formulações tenham um grande problema com a sua solubilidade em água. Nesse contexto a tecnologia de nanoemulsificação contribui para a resolução desse problema (LIPINSKI et al., 2001).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As nanoemulsões são amplamente utilizadas em diversos setores industriais e apresentam grande potencial para veiculação de pesticidas (FENG et al., 2016, 2018; MCCLEMENTS et al., 2011).

As potencialidades apresentadas pela nanotecnologia podem ser exploradas para projetar e direcionar a entrega de drogas para aplicações em ciências veterinárias. Também é importante mencionar que, como a nanotecnologia está em estágio inicial de desenvolvimento, ainda são necessários vários anos de pesquisas e ensaios clínicos para obtenção de resultados significativos.

Estudos *in vitro* e *in vivo* ainda precisam ser realizados para estabelecer completamente seu comportamento físico-químico. Além disso, as altas concentrações de solventes, surfactantes e co-surfactantes em algumas formulações de nanoemulsões podem ser tóxicas para os tecidos onde se acumulam ou são aplicadas, resultando em hemólise, dano celular e inflamação tecidual.

O potencial de toxicidade dos solventes e surfactante que são adequados para uso foram publicados por vários órgãos reguladores, incluindo a Organização Mundial da Saúde e o FDA (FDA, 2011), e qualquer formulação de nanoemulsão para aplicação veterinária deve atender a tais padrões de regulamentação.

5 AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelo auxílio financeiro.

6 REFERÊNCIAS

- AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres 2011.
- ANTON, N.; BENOIT, J. P.; SAULNIER, P. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates-A review. **Journal of Controlled Release**, v. 128, n. 3, p. 185–199, 2008.
- ANTON, N.; VANDAMME, T. F. Nano-emulsions and micro-emulsions: clarifications of the critical differences. **Pharmaceutical Research**, v. 28, n. 5, p. 978–985, 2011.
- BERNSTEEN, L. et al. Microemulsified cyclosporine- based immunosuppression for the prevention of acute renal allograft rejection in unrelated dogs: preliminary experimental study. **Veterinary Surgery**, v. 32, n. 3, p. 213-219, 2003
- BOUCHEMAL, K. et al. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimisation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 280, n. 1–2, p. 241–251, 2004.
- BRÖSEL, S.; SCHUBERT, H. Investigations on the role of surfactants in mechanical emulsification using a high-pressure homogenizer with an orifice valve. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 38, n. 4–6, p. 533–540, 1999.
- CHAKRAVARTHI, P. V.; BALAJI, S. N. Applications of nanotechnology in veterinary medicine. **Veterinary World**, v. 3, n. 10, p. 477-480, 2010.
- CHIME, S. A.; KENECHUKWU, F. C.; ATTAMA, A. A. Nanoemulsions—advances in formulation, characterization and applications in drug delivery. In: SEZER, D., **Application of Nanotechnology in Drug Delivery**. Rijeka: InTech, , 2014. p.76–126.
- CHANG, Y.; MCCLEMENTS, D. J. Optimization of orange oil nanoemulsion formation by isothermal low-energy methods: influence of the oil phase, surfactant, and temperature. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 10, 2014.
- DILBAGHI, N. et al. Nanoscale device for veterinary technology: trends and future prospective. **Advanced Materials Letters**, v.4, n.3, p. 175-184, 2013.
- DIMA, C. et al. The kinetics of the swelling process and the release mechanisms of *Coriandrum sativum* L. essential oil from chitosan/alginate/inulin microcapsules. **Food Chemistry**, v. 195, p. 39–48, 2016.
- CARVALHO, C.; KIST, B. B.; TREICHEL, M. **Anuário Brasileiro Hortaliças 2017**. Santa Cruz do Sul: Editora gazeta Santa Cruz, 2017.88 p.
- FDA (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION). Impurities: Residual Solvents in New Veterinary Medicinal Products, Active Substances and Excipients (Revision). **U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine**, November, 2011. Disponível em:

<https://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/ucm052441.pdf> Acesso em: 10 out. 2018.

FENEQUE, J. Nanotechnology: a new challenge for veterinary medicine. **The Pet Tribune**, v.6, n.5, p. 16- 20, 2003.

FENG, J. et al. Effect of emulsifying process on stability of pesticide nanoemulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 497, p. 286–292, 2016.

FENG, J. et al. Application of Nanoemulsions in Formulation of Pesticides. In: JAFARI, S. M.; MCCLEMENTS, D. J. **Nanoemulsions**. Londres:Elsevier, 2018. p. 379–413.

GUPTA, A. et al. Nanoemulsions: formation, properties and applications. **Soft Matter**, v. 12, n. 11, p. 2826–2841, 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE) - População de animais de estimação no Brasil - Em milhões. 2013. Disponível em: [<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras/setoriais/tematicas/documentos/camaras-tematicas/insumos-agropecuarios/anos-anteriores/ibge-populacao-de-animais-de-estimacao-no-brasil-2013-abinpet-79.pdf>] Acesso em: 27 set. 2018.

KENTISH, S. et al. The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, n. 2, p. 170–175, 2008.

KE, W. T. et al. Physical characterizations of microemulsion systems using tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate (TPGS) as a surfactant for the oral delivery of protein drugs. **Journal of Controlled Release**, v. 102, p. 489–507, 2005.

LEONG, T. S. H. et al. Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 16, n. 6, p. 721–727, 2009.

LIPINSKI, C. A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 46, n.1–3, p.3–26, 2001.

LIPINSKI, C. Poor aqueous solubility – an industry wide problem in drug delivery. **Journal of American Pharmacological Review**, v. 5, p. 82–85, 2002.

MAPA. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. **Agropecuária cresceu 13% em 2017**. Notícias. 2018. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/noticias/agropecuaria-cresceu-13-em-2017>. Acesso em: 08 ag. 2018.

MCCLEMENTS, D. J. **Food Emulsions: Principles, Practice and Techniques**. 2. ed. Boca Raton, Flórida: CRC Press, 2005a.

MCCLEMENTS, D. J. Principles, Practicies, and Techniques. **Food Emulsions**, v. 2, n. Boca Raton, Flórida: CRC PRESS, 2005b.

- MCCLEMENTS, D. J. Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance. **Soft Matter**, v. 7, n. 6, p. 2297–2316, 2011.
- MCCLEMENTS, D. J. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. **Soft Matter**, v. 8, n. 6, p. 1719–1729, 2012.
- MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A.; WEISS, J. Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 8, p. 109–124, 2007.
- MEENA, N. S. et al. Applications of nanotechnology in veterinary therapeutics. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 6, n. 2, p. 167-175, 2018.
- MILLER, C. A. Spontaneous Emulsification Produced by Diffusion - a review. **Colloids and Surfaces**, v. 29, n. 1, p. 89–102, 1988.
- NAZARZADEH, E.; ANTHONYPILLAI, T.; SAJJADI, S. On the growth mechanisms of nanoemulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 397, p. 154–162, 2013.
- OSONWA, U. et al. Formulation and evaluation of therapeutic potential of nanoemulsion of a blend of antimicrobial oils. **Tropical Journal of Natural Product Research**, v. 2, n. 2, p. 67–73, 2018.
- OSTERTAG, F.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D. J. Low-energy formation of edible nanoemulsions: Factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 388, n. 1, p. 95–102, 2012.
- PAL, R. Influence of interfacial rheology on the viscosity of concentrated emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 356, n. 1, p. 118–122, 2011.
- PEDRO, A. S. et al. The use of nanotechnology as an approach for essential oil-based formulations with antimicrobial activity. **Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**, p. 1364–1374, 2013.
- POVEY, M. J. W.; MCCLEMENTS, D. J. **Developments in Acoustics and Ultrasonics**. 1. ed. Boca Raton, Flórida: CRC Press, 1992.
- QIAN, C.; MCCLEMENTS, D. J. Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 5, p. 1000–1008, 2011.
- SALAGER, J. L. Phase transformation and emulsion inversion on the basis of catastrophe theory. **Encyclopedia of emulsion technology**, v. 3, p. 79-134, 1988.
- SCHWARZ, S. et al. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 28, p. 519–542, 2004
- SINGH, Y. et al. Nanoemulsion: concepts, development and applications in drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 252, p. 28–49, 2017.
- TADROS, T. et al. Formation and stability of nano-emulsions. **Advances in Colloid and**

Interface Science, v. 108–109, p. 303–318, 2004.

VANDAMME, T. F., ANTON, N. Low-energy nanoemulsification to design veterinary controlled drug delivery devices. **International Journal of Nanomedicine**, v. 5, p. 867–873, 2010.

WANG, L. et al. Oil-in-water nanoemulsions for pesticide formulations. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 314, n. 1, p. 230–235, 2007.

ZHANG, Q. et al. Nanoemulsion formulation of florfenicol improves bioavailability in pigs. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 39, n. 1, p. 84-89, 2016.



Capítulo
11

Efeitos de óleos essenciais no controle de moluscos transmissores de fasciolose

Maria Larissa Bitencourt Vidal¹
Natania do Carmo Sperandio²
Isabella Vilhena Freire Martins³
Natalia Assis Guedes⁴
Adilson Vidal Costa⁵
Vagner Tebaldi de Queiroz⁶

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: larissabvidal@hotmail

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: nataniasperandio@gmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: ivfmartins@gmail.com

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, email: nataliaassisg@hotmail.com

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: avcosta@hotmail.com

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: vagnertq@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

O trematoda *Fasciola hepatica* é uma espécie de parasito que acomete ruminantes e outros animais incluindo o homem e depende da presença de limneídeos para a ocorrência, sendo sua associação principal no Brasil com a presença de espécies de moluscos aquáticos *Lymnaea columella*, *Lymnaea viatrix* e *Lymnaea cubensis*. A espécie *L. columella* apresenta maior distribuição geográfica, ocorrendo na região Sudeste do Brasil (MATTOS et al., 1997; MEDEIROS et al., 2014).

A redução da população de hospedeiros intermediários através de métodos químicos, físicos e biológicos é a maneira ideal de controle efetivo da doença. Associado a isto, a redução do número de animais infectados, o que pode ser realizado pela transferência do rebanho a uma área de pastejo livre do parasito, também configura como uma boa estratégia de controle (FOREYT, 2005).

No entanto, Cantanhede et al. (2010) descrevem que o uso de moluscicida sintético tem gerado preocupação em relação a fatores como: toxicidade para outras espécies, devido à sua baixa seletividade e contaminação do meio ambiente. Assim medidas alternativas de estratégia que minimizam a taxa de contaminação ambiental, vêm sendo desenvolvidas, e algumas são baseadas na possibilidade do uso de plantas ou de seus derivados como agentes moluscicidas, além de outros tipos de controle naturais (TUNHOLI et al., 2017).

Nesse contexto, a procura por substâncias facilmente biodegradáveis tem aumentado o número de trabalhos de pesquisa envolvendo produtos naturais, biodegradáveis e que não agridam o ambiente. Assim, o objetivo deste capítulo foi relatar a utilização de óleos essenciais com efeito moluscicida e que controlem hospedeiros intermediários de Fasciolose.

2 *Fasciola hepatica* E A FASCIIOLOSE

A Fasciolose é causada pela espécie *Fasciola hepatica*, um helminto da classe Trematoda (ALEIXO et al., 2015; MAZERI et al., 2016). Enfermidade de grande importância clínica e também econômica, a fasciolose afeta diversos mamíferos, entre eles os humanos, considerada pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2009) uma zoonose emergente, revelando-se como um sério problema de saúde pública (CORAL et al., 2007; MAS-COMA et al., 2009).

A doença está presente no mundo inteiro e têm grande importância em animais de interesse econômico-agropecuário. Estima-se que milhões de ruminantes são infectados em todo o mundo, acarretando em perdas econômicas que chegam a três bilhões de dólares anualmente (CWIKLINSKI et al., 2016; OLAECHEA, 2004).

A *F. hepatica* encontra-se distribuída em todo o mundo (CWIKLINSKI et al., 2016). No Brasil, entre os estados que podem ser citados como de maior frequência, encontram-se o Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Minas Gerais, Goiás e Paraná (OLIVEIRA; SPÓSITO-FILHA, 2009).

O Estado do Espírito Santo se torna um potencial local de reprodução, possui clima quente e úmido e a topografia local ideal para o desenvolvimento do parasito e seu hospedeiro. Segundo Martins et al. (2012) foram observadas existência de áreas de risco para fasciolose na região sul do estado do Espírito Santo, onde relataram taxas de prevalência de até 28,41% para a doença.

No sul do estado do Espírito Santo, de vinte e três municípios avaliados por Martins et al. (2014), em dezoito a Fasciolose em bovinos foi diagnosticada. Jerônimo Monteiro,

município componente da região do Caparaó, destacou-se como o de maior prevalência, com 66,7% de prevalência para a doença.

A *F. hepatica* depende de um ciclo biológico indireto, necessita obrigatoriamente de um hospedeiro intermediário para completar seu ciclo. Os hospedeiros intermediários são compostos por moluscos do gênero *Lymnaea* sp. (MAS-COMA; VALERO; BARGUES, 2009).

Após a penetração no molusco há o desenvolvimento, e formação dos esporocistos, que posteriormente se transformarão em rédias e mais adiante em cercárias. As cercárias deixam os moluscos e pela água alcançam a vegetação onde se fixam a estruturas firmes como folhas ou talos de capim. Depois de se fixarem, se incistam e formam as metacercárias, a forma infectante da Fasciolose (MAS-COMA; AGRAMUNT; VALERO, 2014; TAYLOR; COOP; WALL, 2010).

3 OS HOSPEDEIROS INTERMEDIÁRIOS DE FASCIULOSE

Moluscos gastrópodes, tais como os dos gêneros *Biomphalaria* e *Lymnaea*, são organismos de grande importância para a medicina humana e veterinária, por atuarem como hospedeiros intermediários de vários parasitos, como trematódeos digenéticos e nematóides (SANTOS et al., 2009). Muitos desses helmintos acometem animais, bem como o homem causando problemas em saúde pública (ALEIXO et al., 2015; MAZERI et al., 2016).

Os moluscos do gênero *Lymnaea* atualmente renomeados para *Pseudosuccinea*, são limineídeos de hábitos aquáticos comum de águas estagnadas ou de cursos lentos presentes em regiões neotropicais. Tal gastrópode está comumente associado à alta morbidade da fasciolose hepática (MEDEIROS et al., 2014).

No Brasil, as espécies *Galba truncatula*, *Galba viatrix*, *Galba cubensis* e *Pseudosuccinea columella* se mostraram suscetíveis a infecção pela *F. hepatica* (MEDEIROS et al., 2014). Estes autores observaram ainda, que a espécie *Pseudosuccinea columella* é a que possui maior distribuição no país, sendo encontrada principalmente nas regiões Sul e Sudeste e em menor escala no Centro-Oeste, Norte e Nordeste.

Estes moluscos reproduzem-se com alta velocidade e conseguem ser facilmente levados por córregos e coleções de água, estabelecendo-se em bebedouros que são então abastecidos por tais recursos e quando em demasia de água, acabam por ficar em frestas ou ambientes úmidos dos quais podem permanecer em anidrobiose (TRIPATHY; MUKHOPADHAYAY, 2015).

4 MÉTODOS DE CONTROLE DE MOLUSCOS GASTRÓPODES

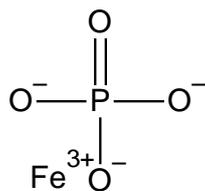
Os métodos de controle de moluscos podem ser classificados em: biológico, físico e químico. O biológico envolve o uso de outras espécies de animais predadores, competidores e parasitas das populações de moluscos, porém há questionamentos quanto à introdução de espécies exóticas, as quais podem eliminar a biodiversidade nativa, além de serem suscetíveis a hospedar outras espécies inconvenientes (ARAÚJO et al, 2002; MOTA; CAMPOS; ARAÚJO, 2003).

O método físico envolve a alteração de fatores responsáveis pelo desenvolvimento dos moluscos, entre eles, destaca-se o aterramento de corpos hídricos, drenagem e retificação de leitos bem como limpeza e retirada da vegetação aquática, contudo, algumas desvantagens deste método são: alto custo, alteração nos *habitats* e produção/aceleração do processo de eutrofização por meio da drenagem de sedimentos (OLIVEIRA; SPÓSITO-FILHA, 2009).

O método químico é feito pela utilização de substâncias denominadas moluscidas, estas podem ser de origem sintética ou de origem vegetal (BRASIL, 2008). Para registro e uso de moluscidas são considerados alguns aspectos de risco tal como: toxicidade e concentração da substância; finalidade; condições de uso; relato de problemas já ocorridos; exposição do produto a população bem como frequência e duração.

4.1 MOLUSCICIDAS DE ORIGEM SINTÉTICA

O Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2018) é o órgão responsável por fornecer o registro de agrotóxicos no Brasil, porém cabe a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2018) fazer a avaliação toxicológica dos produtos. Atualmente existe apenas um produto registrado no MAPA para classe moluscida. Ferramol é um produto de classificação toxicológica III (mediamente tóxico) e ambiental IV (pouco perigoso ao meio ambiente) e é destinado para controle do caracol *Helix aspersa* e da lesma *Vaginula langsdoeffii*. Sua ação baseia-se na interrupção da alimentação dos moluscos, que morrem no período de 2 a 6 dias. O produto apresenta como ingrediente ativo (IA) o fosfato férrico (FePO₄) (FIGURA 1).

Figura 1. Fórmula estrutural do ingrediente ativo fosfato férrico (FePO₄).

No sítio eletrônico do MAPA (2018), o baixo número de registros de produtos moluscicidas pode estar relacionado ao não atendimento aos critérios estabelecidos por esta agência. Na Tabela 1 encontram-se os produtos que já foram registrados no MAPA/ANVISA para este propósito. Entretanto, observa-se que o IA da grande maioria se encontra em condição de reavaliação pela ANVISA (2018).

Tabela 1. Informações de registro e alvo biológico de alguns produtos registrados no MAPA e ANVISA para classe de moluscicidas.

Órgão do Registro	Nº de Registro	Produto	Ingrediente ativo (IA)	Alvo Biológico
MAPA	3107	Ferramol	Fosfato	<i>Helix aspersa</i> ;
ANVISA	313330019	organic	férrico	<i>Vaginula langsdorf</i>
ANVISA ^a	320570054	Madelesma	Metaldeído	<i>Achatina fulica</i> ; <i>Limax sp.</i>
ANVISA ^a	327810014	Lesmax	Metaldeído	<i>Sarasinula linguaeformis</i> ; <i>Achatina fulica</i>
ANVISA ^a	361090001	Acay	Metaldeído	<i>Limax sp.</i> ; <i>Helix sp.</i>
ANVISA ^a	348190014	Lesmiway	Metaldeído	<i>Sarasinula linguaeformis</i> ; <i>Achatina fulica</i> .
ANVISA ^a	329230020	Lesmicida Citromax	Metaldeído	Lesmas e Caramujos Africanos
ANVISA ^a	322330081	Metarex SP	Metaldeído	Lesmas e Caramujos Africanos
ANVISA ^a	320680050	Suprema	Metaldeído	Lesmas e Caramujos Africanos
ANVISA ^a	329230039	Lesmecida imbativel	Metaldeído	Lesmas e Caramujos Africanos
ANVISA ^a	325220044	Lesmicida kelldrin	Metaldeído	Lesmas e Caramujos Africanos
ANVISA ^a	320680048	Lesmafin	Metaldeído	Lesmas e Caramujos Africanos
ANVISA ^a	323400030	Termifin mata lesmas	Metaldeído	<i>Limax sp</i> ; <i>Achatina fulica</i>
ANVISA ^a	356850010	Letalrex	Metaldeído	<i>Sarasinula linguaeformis</i> ; <i>Achatina fulica</i>
ANVISA ^a	316060090	Blockmoll	Metaldeído	Lesmas e caramujos
ANVISA ^a	333080037	Molustarex	Metaldeído	Lesmas e caramujos

^a - I.A em reavaliação técnica pela ANVISA.

A niclosamida (FIGURA 2) é um IA para classe de moluscidas registrado na ANVISA, porém não foram encontrados produtos formulados a partir desse IA no mercado.

O uso de moluscidas de origem sintética tem gerado preocupações quanto ao desenvolvimento de resistência dos moluscos às substâncias, falta de seletividade e o fato de não ser economicamente viável. Geralmente a quantidade de produto a ser aplicado deve ser aumentada em ambientes de vegetação densa e deve-se ter o cuidado de recobrir a vegetação e evitar contato com cursos d'água para evitar contaminação (BRASIL, 2008). Nesse contexto, vem aumentando a procura por substâncias biodegradáveis que apresentem baixa toxicidade ao homem, animais e meio ambiente. Uma alternativa que vem sendo estudada é a utilização de moluscidas de origem vegetal.

4.2 MOLUSCIDAS DE ORIGEM VEGETAL

O uso de moluscidas de origem vegetal no controle da esquistossomose vem desde a década de 1930, quando foi observada a inibição de caramujos no foco de transmissão, graças ao plantio de *Balanites aegyptiaca* L. (Balanitaceae) espécie típica do deserto, no Sudão. Ao caírem das árvores, os frutos inibiam a densidade populacional de caramujos (ARCHIBALD, 1933). Desde então se encontram na literatura vários trabalhos investigando a ação moluscida de várias espécies vegetais (TABELA 2).

Tabela 2. Atividade moluscida de algumas espécies vegetais (Continua).

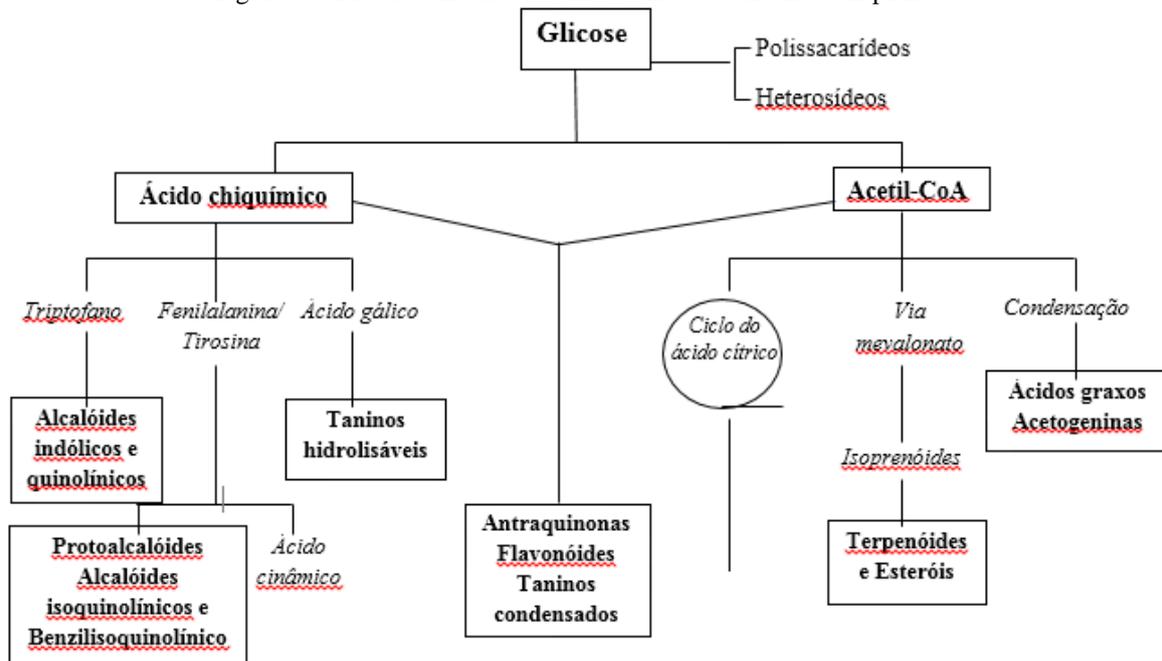
Planta	Material vegetal	Alvo biológico	Referencia
<i>Euphorbia splendens</i>	Látex	<i>Lymnaea columella</i>	VASCONCELLOS; ; AMORIM (2003)
<i>Melia azedarach</i> L.	Extrato de frutos e sementes	<i>Lymnaea cubensis</i>	PEREZ et al. (1998)
<i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt	Óleo essencial das folhas	<i>Lymnaea columella</i> ; <i>Biomphalaria tenagophila</i>	COSTA et al. (2015)
<i>Annona muricata</i> e <i>Jatropha elliptica</i>	Extrato das folhas e raízes	<i>B. glabrata</i>	ROCHA et al. (2013)
<i>Kielmeyera variabilis</i>	extrato dos galhos	<i>B. glabrata</i>	PINHEIRO et al. (2003)
<i>Lycopersicon esculentum</i>	extratos das folhas secas	<i>B. glabrata</i>	LEYTON et al. (2005)
<i>Senecio santelisis</i> Phil	Extrato da folha	<i>B. peregrina</i>	BARDÓN et al. (2007)
<i>Euphorbia conspicua</i>	Látex	<i>B. glabrata</i>	SANTOS et al. (2007)

Tabela 3. Atividade moluscicida de algumas espécies vegetais (Conclusão).

Planta	Material vegetal	Alvo biológico	Referencia
<i>Wedelia subvaginata</i>	Extrato de folha e flor	<i>B. peregrina</i>	BARDÓN et al. (2007)
<i>S. jabrense</i>	Extrato da folha	<i>B. glabrata</i>	SILVA et al. (2006)
<i>A. muricata</i> L.	Extrato da folha	<i>B. glabrata</i>	LUNA et al. (2005)
<i>Thevetia peruviana</i>	Látex	<i>L. acuminata</i>	SINGH; SINGH (2005)

As substâncias bioativas que podem estar associadas ao efeito moluscicida, são derivadas do metabolismo secundário das plantas (FIGURA 3). Através das substâncias sintetizadas no metabolismo primário, o metabolismo secundário sintetiza diversos compostos orgânicos que proporciona defesa e atração às plantas, isso se deve ao fato de que os vegetais são enraizados no solo não sendo capazes de se deslocar para responder ao meio pelas mesmas vias que os animais (HARNORNE, 1988).

Figura 3. Ciclo biossintético dos metabólitos secundários em plantas.



Fonte: Adaptado de Taiz e Zeiger, 2013.

Alguns estudos sugerem que o efeito moluscicida deve-se à presença de metabólitos secundários como taninos, alcaloides, terpenoides, saponinas, lactonas sesquiterpênicas, esteroides e flavonoides (CANTANHEDE et al., 2010). No entanto, para a utilização de compostos como moluscicidas sejam estes de origem sintética ou natural, deve ser avaliado seu mecanismo de ação. Os moluscicidas de origem vegetal, ainda necessitam de estudos do perfil

fitoquímico e caracterização química do material vegetal bem como a resposta fisiológica do molusco frente aos seus componentes químicos para definir qual/quais compostos conferem a ação moluscicida à planta.

Segundo McCullough et al. (1980) a ação destes compostos pode provocar no molusco intoxicação e desequilíbrio osmótico causando retração da massa cefalopodal para o interior da concha com a liberação de hemolinfa ou projeção do cefalópode de forma anormal para o exterior da concha.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A fasciolose é uma enfermidade de grande importância veterinária, de saúde pública e uma das principais formas de controlar é o controle dos seus hospedeiros intermediários moluscos aquáticos. O controle desses moluscos tem sido alvo de estudos, tendo em vista que o uso dos moluscidas tradicionais tem se tornado um problema.

O uso de óleos essenciais como moluscidas representam alternativas potencialmente promissoras, mas devem ser melhor estudadas tendo em vista que a atividade biológica de uma espécie vegetal pode variar com diversos fatores, dentre outros, como a parte da planta utilizada e as condições geográficas do momento de sua coleta, os solventes usados para sua extração e o procedimento extrativo.

6 AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelo auxílio financeiro.

7 REFERÊNCIAS

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Regularização de Produtos – Agrotóxicos**. Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/monografia-de-agrotoxicos/autorizadas>>. Acessado em: 28 set. 2018.

ALEIXO, M. A. et al. *Fasciola hepatica*: epidemiology, perspectives in the diagnostic and the use of geoprocessing systems for prevalence studies. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 1451-1466, 2015.

- ARAÚJO, S. M. et al. Alterações histológicas em *Lymnaea columella* provocadas pelo látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 39, n. 3, p. 157- 159, 2002.
- ARCHIBALD, R. G. The use of the fruit of the tree *Balanites aegyptiaca* in the control of schistosomiasis in the Sudan. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 27, p. 207-210, 1933.
- BARDÓN, A. S. et al. Bioactive plants from Argentina and Bolivia. **Fitoterapia**, v. 78, p. 227-231, 2007.
- BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de vigilância em saúde. Departamento de vigilância epidemiológica. **Vigilância e Controle de Moluscos de Importância Epidemiológica**. 2. ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde. 2008.
- CANTANHEDE, S. P. D. et al. Atividade moluscicida de plantas: uma alternativa profilática. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 282-288, 2010.
- CORAL, R. P. et al. Retirada de *Fasciola hepatica* da via biliar principal por coledocosopia. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 34, n. 1, p. 69-71, 2007.
- COSTA, A. V. et al. Molluscicidal effect of essential oil of *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) on *Lymnaea columella* (Say, 1817) and *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny, 1835). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 707-712, 2015.
- CWIKLINSKI, K. et al. A prospective view of animal and human Fasciolosis. **Parasite Immunology**, v. 38, n. 9, p. 558-568.
- FOREYT, W. J. **Parasitologia Veterinária: manual de referência**. 5.ed. São Paulo: Roca, 2005.
- HARNORNE, J. B. **Introduction to ecological biochemistry**. 3. ed. London: Academic, 1988.
- LEYTON, V. et al. Atividade moluscicida de princípios ativos de folhas de *Lycopersicon esculentum* (Solanales, Solanaceae) em *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Planorbidae). **Iheringia. Série Zoologia**, v. 95, n. 2, p. 213-216, 2005.
- LUNA, J. S. et al. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 97, p. 199-206, 2005.
- MAPA - MINISTÉRIO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Consulta de Produtos Formulados**. Disponível em <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 28 set. 2018
- MARTINS, I. V. F. et al. Application of a geographical information system approach for risk analysis of fascioliasis in southern Espírito Santo state, Brazil. **Geospatial Health**, v. 6, n. 3, p. 87-93, 2012.

- MARTINS, I.V.F. et al. Distribution of bovine fasciolosis and associated factors in south Espírito Santo, Brazil: an update. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 1, p. 23-29, 2014.
- MAS-COMA, S.; AGRAMUNT, V. H.; VALERO, M. A. Neurological and ocular fascioliasis in humans. **Advances in Parasitology**, v. 84, p. 27-149, 2014.
- MAS-COMA, S. et al. *Fasciola*, Lymnaeids and human fascioliasis with a global overview on disease transmission, epidemiology, evolutionary genetics, molecular epidemiology and control. **Advances in Parasitology**, v. 69, n. 1, p. 41-146, 2009.
- MAS-COMA, S.; VALERO, M. A.; BARGUES, M. D. *Fasciola*, Lymnaeids and Human Fascioliasis, with a global overview on disease transmission, epidemiology, evolutionary genetics, molecular epidemiology and control. **Advances in Parasitology**, v. 69, p. 44-68, 2009.
- MATTOS, M. J. T., et al. Seasonal occurrence and bioecology of *Lymnaea columella* Say, 1817 (Mollusca, Lymnaeidae) in its natural habitat in Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, n. 19, p. 248 – 252, 1997.
- MAZERI, S. et al. Evaluation of the performance of five diagnostic tests for *Fasciola hepatica* infection in naturally infected cattle using a bayesian no gold standard approach. **PLoS ONE**, v. 11, n. 8, p. 1-22, 2016.
- McCULLOUGH, F. S. et al. Molluscicides in schistosomiasis control. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 58, n.5, p. 681-689, 1980.
- MEDEIROS, C., et al. Spatial distribution of Lymnaeidae (Mollusca, Basommatophora), intermediate host of *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 (Trematoda, Digenea) in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, n. 56, p. 235-252, 2014.
- MOTA, M. A.; CAMPOS, A. K.; ARAÚJO, J. V. Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 23, p. 93-100, 2003.
- OLAECHEA, F. V. *Fasciola hepatica*. Buenos Aires: Redacción de Helminología de FAO para América Latina y el Caribe, 2004. 135 p.
- OLIVEIRA, S. M; SPÓSITO-FILHA, E. Fasciolose hepática. **Biológico**, v. 71, n. 1, p. 5-7, 2009.
- PEREZ, M. P. et al. Actividad molusquicida del Paraiso (*Melia azedarach* L.) (Meliaceae) sobre *Lymnaea cubensis*, molusco vector de Fasciolosis. **Saúde Pública**, v. 32, n. 3, p. 262-6, 1998.
- PINHEIRO, L.; CORTEZ, D. A. G.; VIDOTTI, G. J. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade moluscicida da *Kielmeyera variabilis* Mart (Clusiaceae). **Química Nova**, v. 26, n. 2, p. 157-160, 2003.

- ROCHA, T. J. et al. Estudo do efeito moluscicida de espécies vegetais em embriões e caramujos adultos de *Biomphalaria glabrata* Say, 1818 (Gastropoda, Planorbidae). **Revista de Patologia Tropical**, v. 42, p. 230-239, 2013.
- SANTOS, A. F. et al. The lethality of *Euphorbia conspicua* to adults of *Biomphalaria glabrata*, cercaria of *Schistosoma mansoni* and larvae of *Artemia salina*. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 135-139, 2007.
- SANTOS, S. B. et al. Mollusca. In: ROCHA, R. M.; BOEGER, W. A. **Estado da arte e perspectiva para a Zoologia no Brasil**. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2009. p. 66-90.
- SILVA, M. S. et al. Molluscicidal activity of *Solanum* species of the Northeast of Brazil on *Biomphalaria glabrata*. **Fitoterapia**, v. 77, p. 449-452, 2006.
- SINGH, A.; SINGH, S. K.. Molluscicidal evaluation of three common plants from India. **Fitoterapia**, v. 76, p. 747-751, 2005.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.
- TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Parasitologia Veterinária**. 3. ed., Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2010. 768p.
- TRIPATHY, B.; MUKHOPADHAYAY, A. Freshwater molluscs of India: an insight of into their diversity, distribution and conservation. aquatic ecosystem: biodiversity, ecology and conservation. **Springer**, p. 163-195, 2015.
- TUNHOLI, V. M, et al. Molluscicidal potential of *Heterorhabditis baujardi* (Rhabditida: Heterorhabditidae), strain LPP7, on *Lymnaea columella* (Gastropoda: Pulmonata): An alternative for biological control of fasciolosis. **Journal Acta Tropica**, v. 173, p. 23-29, 2017.
- VASCONCELLOS, M. C; AMORIM, A. Molluscicidal action of the latex of *Euphorbia splendens* var. *hislopii* N.E.B. ("Christ's Crown") (Euphorbiaceae) against *Lymnaea columella* (Say, 1817) (Pulmonata: Lymnaeidae), intermediate host of *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 (Trematode: Fasciolidae). 1- Test in laboratory. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 4, p. 557-563, 2003.
- WHO. World Health Organization. **Fascioliasis: infection with the "neglected" neglected worms**. 2009. Disponível em: <http://www.who.int/neglected_diseases/integrated_media/integrated_media_fascioliasis/en/>. Acesso em: 26 de setembro de 2018.



Capítulo
12

Atividade leishmanicida de 1,2,3-triazóis via “click chemistry”

Bianca de Oliveira Botelho¹
Poliana Aparecida Rodrigues Gazolla²
Roberta Tristão Pinto³
Róbson Ricardo Teixeira⁴
Adilson Vidal Costa⁵
Vagner Tebaldi de Queiroz⁶

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: biancabotelho93@hotmail.com

² Universidade Federal de Viçosa, e-mail: poliana.gazolla@ufv.br

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: roberta_tristao@hotmail.com

⁴ Universidade Federal de Viçosa, e-mail: robsonr.teixeira@ufv.br

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: avcosta@hotmail.com

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: vagnertq@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose, também conhecida como calazar indiano, botão do oriente, ferida brava e úlcera de Bauru, é uma doença infecciosa causada por protozoários do gênero *Leishmania*, transmitida através da picada de insetos flebotomíneos. Esta doença é considerada um dos maiores problemas de saúde pública de países em desenvolvimento já que afeta seres humanos e animais (DE SOUSA et al., 2015; GIL et al., 2008).

A quimioterapia é o principal método de tratar a doença. A maioria dos fármacos utilizadas para o tratamento da Leishmaniose, desde os mais antigos, como os antimoniais, ao mais recente, amiltefosina, apresentam desvantagens como custo elevado, efeitos colaterais graves e desenvolvimento de resistência dos parasitos aos fármacos. Desta forma, os problemas relacionados aos tratamentos disponíveis fazem com que seja crescente a busca por novas substâncias que possam ser utilizadas na terapia da doença (ANDRADE et al., 2016; MAHMOUDVAND et al., 2015).

Os 1,2,3-triazóis são substâncias heterocíclicas aromáticas nitrogenadas de cinco membros, de origem exclusivamente sintética, notavelmente estáveis e essencialmente inertes à oxidação, redução e hidrólise (STRUTHERS; MINDT; SCHIBLI, 2010). Essa classe de compostos tem atraído a atenção de pesquisadores devido à sua estabilidade, baixa toxicidade e um número variado de atividades, dentre elas atividade leishmanicida.

Considerando o desafio ao tratamento da leishmaniose, o objetivo deste capítulo foi realizar uma abordagem sobre a síntese e potencial da atividade de derivados 1,2,3-triazólicos no controle de espécies de *Leishmania*.

2 LEISHMANIOSE

A Leishmaniose é uma antropozoonose transmitida por animais silvestres e, mais raramente, por animais domésticos. Porém, o cão é considerado o principal reservatório nas áreas urbanas, de forma que assim como o ser humano, representa um hospedeiro acidental do protozoário (NEUBER, 2008).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), as leishmanioses integram o conjunto das seis doenças tropicais mais preocupantes no Velho Mundo e Américas, e constituem um crescente problema de saúde pública, não somente no Brasil, onde é considerada uma das endemias de interesse prioritário, como em grande parte dos continentes americano, asiático, europeu e africano (COSTA, 2005).

É uma das doenças dermatológicas mais importantes em humanos, tanto pela ampla ocorrência, como pelo risco de lesões deformantes e incapacitantes (MARCONDES, 2016). Em cães, a doença pode ser fatal se não tratada, pois o hospedeiro falha em montar uma resposta protetora eficiente contra o parasito (SILVA JR, 2008).

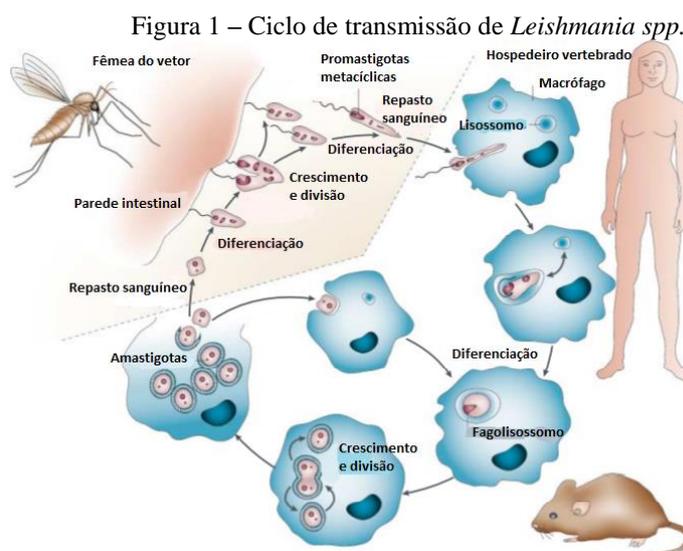
A Leishmaniose é uma doença de caráter crônico, e o período de incubação varia de 2 a 12 meses (OLIVEIRA; SANTORO; SADIGUSKY, 1993). A infecção em cães e humanos por espécies de *Leishmania* é clinicamente semelhante (KRAUSPENHAR et al., 2007).

O gênero *Leishmania* e suas diversas espécies podem se manifestar no organismo em duas formas principais, denominadas Leishmaniose Tegumentar ou Leishmaniose Tegumentar Americana e Leishmaniose Visceral. As manifestações clínicas da primeira forma incluem as formas cutânea localizada, cutânea disseminada e cutânea difusa, além da forma mucosa ou mucocutânea (BAÑULS et al., 2011).

A apresentação clínica da doença é variável, e depende em grande parte da capacidade de resposta imune do hospedeiro e da virulência da cepa do parasito infectante (MICHALICK et al., 2005).

2.1 ETIOLOGIA

A Leishmaniose apresenta distribuição mundial, sendo causada por distintas espécies de *Leishmania* no Velho e no Novo Mundo. É uma doença infecciosa causada por protozoários pertencentes ao Reino Protista, sub-reino Protozoa, filo Sarcomastigophora, sub-filo Mastigophora, ordem Kinetoplastidae, sub-ordem Trypanosomatina, família Trypanosomatidae, e gênero *Leishmania* (LAINSON, 2010). Estes protozoários possuem um ciclo de vida digenético (heteroxênico), vivendo alternadamente em hospedeiros vertebrados e invertebrados (CAROSELLI, 2012) (FIGURA 1).



Fonte: Sacks e Noben-Trauth (2002).

Os parasitos são transmitidos durante o repasto de flebotomíneos infectados, que inoculam um pequeno número de promastigotas metacíclicas na pele. Essas formas são fagocitadas por macrófagos, onde residem em fagolisossomos e se transformam em amastigotas replicantes. Macrófagos infectados são capturados por flebotomíneos durante um novo repasto sanguíneo; essas células são lisadas no intestino do inseto, liberando parasitos que se transformam em promastigotas pró-cíclicas proliferativas. Essas formas passam por um processo de fixação na parede do intestino médio do inseto, multiplicação e migração anterior,

seguindo de sua diferenciação em promastigotas metacíclicas, que podem ser transmitidas quando o vetor efetuar um novo repasto sanguíneo (SACKS; NOBEN-TRAUTH, 2002).

As formas do parasito são morfologicamente similares, sendo estas formas amastigotas (flagelo não exteriorizado) quando no interior das células dos hospedeiros definitivos e promastigotas (flagelo exteriorizado) quando no tubo digestivo do hospedeiro intermediário (SEHGAL et al., 2012).

São conhecidas mais de 30 espécies de *Leishmania*, sendo mais de vinte patogênicas ao homem (MORAIS, 2015). No Velho Mundo as espécies responsáveis pela Leishmaniose cutânea são as do complexo *Leishmania tropica*; (*Leishmania (Leishmania) tropica*, *Leishmania (Leishmania) major* e *Leishmania (Leishmania) aethiopica*). A maioria das espécies é zoonótica, exceto *L. (L.) tropica*, que é antroponótica (KOBETS; GREKOV; LIPOLDOVÁ, 2012). A espécie responsável pela Leishmaniose visceral é a *Leishmania (Leishmania) donovani*.

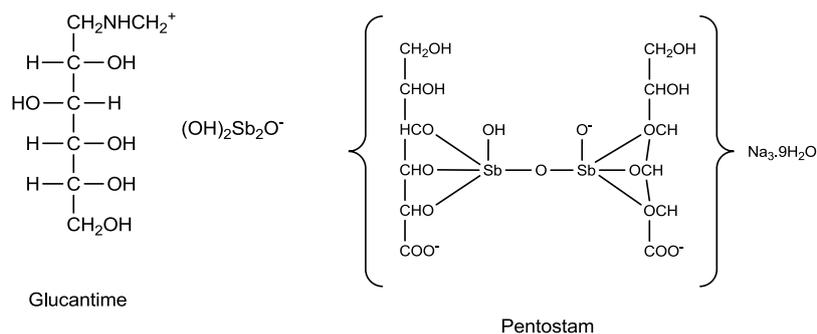
No Novo Mundo, são conhecidas oito espécies de *Leishmania*, responsáveis por causar leishmaniose cutânea ao homem, pertencentes ao subgênero *Vianna (V)* e *Leishmania (L)*: *Leishmania (V) braziliensis*, *Leishmania (V) guyanensis*, *Leishmania (V) panamensis*, *Leishmania (V) lainsoni*, *Leishmania (L) mexicana*, *Leishmania (L) amazonenses* e *Leishmania (L) venezuelensis*. A espécie responsável pela Leishmaniose visceral é a *Leishmania (L) chagasi*, sendo todas as espécies zoonóticas (GRIMALDI; TESH, 1993).

No Brasil tanto a Leishmaniose visceral (LV) como a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) ocorrem em todo o território nacional, apresentando-se de forma endêmica em estados como Rondônia, Pará, Amazonas, Bahia, Maranhão, Minas Gerais, São Paulo, Santa Catarina e Mato Grosso do Sul (MENDES et al., 2016).

2.2 TRATAMENTO

O tratamento da quimioterápico das leishmanioses em seres humanos é baseado na utilização de medicamentos antimoniais pentavalentes. Dentre eles, o antimoniato de meglumina (Glucantime[®]) e o estibogluconato de sódio (Pentostan[®]) (FIGURA 2), têm sido utilizados no tratamento das leishmanioses desde o início do século XX e continuam sendo os fármacos de escolha para a doença cutânea e visceral (CHAN-BACAB; PENA-RODRÍGUEZ, 2001).

Figura 2 – Estruturas dos quimioterápicos antimoniais pentavalentes.



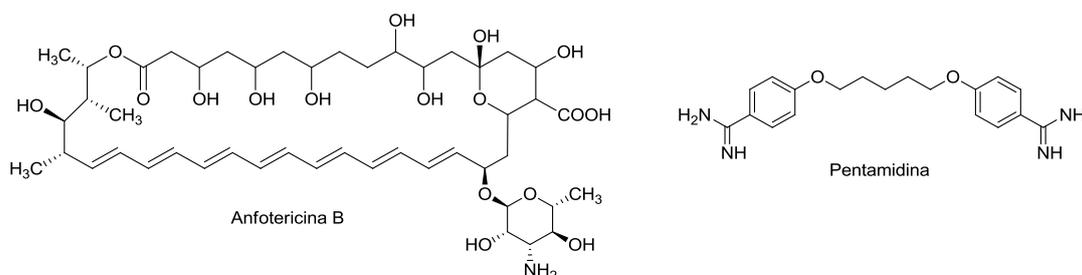
Fonte: O autor.

No Brasil, o medicamento de primeira escolha é o antimoniato de meglumina (Glucantime[®]) o qual, se administrado de forma contínua e com posologia adequada, é eficaz no tratamento das leishmanioses. Por sua vez, baixas dosagens e tratamentos descontínuos levam a falhas na terapia e ao aparecimento de formas resistentes do parasito (RATH et al., 2003).

Além da elevada toxicidade, dificuldades de administração e alto custo, os antimoniais pentavalentes apresentam graves efeitos colaterais que incluem mialgia, artralgia, aumento sérico das enzimas hepáticas, pancreatite, disfunção gastrointestinal, dores musculares difusas, enrijecimento das articulações, arritmias, pancitopenia, insuficiência renal reversível e cardiotoxicidade (SILVA-LÓPEZ, 2010).

A anfotericina B e a pentamidina (FIGURA 3) tem sido as drogas alternativas nos casos de resistência do parasito aos antimoniais pentavalentes. Estes medicamentos são de administração injetável e necessitam de supervisão clínica ou hospitalização, devido à severidade dos efeitos colaterais. Além disso, estes fármacos não possuem um índice terapêutico favorável (CHAN-BACAB; PENA-RODRÍGUEZ, 2001).

Figura 3 – Estruturas dos quimioterápicos anfotericina B e pentamidina.



Fonte: O autor.

Portanto, todos os fármacos disponíveis atualmente são de administração parenteral, o que exige colaboração dos pacientes, e infelizmente, muitos abandonam o tratamento, fator que favorece o aparecimento de cepas resistentes do parasito (SILVA-LÓPEZ, 2010).

Em 2008, no Brasil, o Ministério da Saúde através da Portaria Interministerial ANVISA-MAPA 1.426 de 11/07/2008, proibiu o tratamento de animais com medicamentos humanos ou medicamentos não registrados no Ministério da Pecuária e Abastecimento (MAPA), devido ao risco de seleção de cepas resistentes do parasito. Desde então, o serviço público brasileiro utilizava a eutanásia como único método de controle em cães sorologicamente positivos (AMARAL, 2009).

Em setembro de 2016, por meio da Nota Técnica Conjunta nº 001/2016-MAPA/MS, assinada pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento e pelo Ministério da Saúde, foi autorizado o registro do produto Milteforan® (miltefosina), indicado para o tratamento da leishmaniose visceral de cães (MAPA, 2016). A miltefosina provoca alguns efeitos colaterais e alto nível de resistência pelos animais ao tratamento, devido ao seu pequeno índice terapêutico e longo tempo de meia vida (7 dias) (GRIENSVEN et al., 2010). De acordo com Soto et. al., 2004, outro problema relacionado ao fármaco é que ele não apresenta atividade contra *L. braziliensis*, que no Brasil é a principal causadora da LTA. Portanto, o tratamento da Leishmaniose canina não é satisfatório em termos de custo, efetividade, toxicidade e resistência dos parasitos, evidenciando uma grande necessidade de busca por alternativas ao tratamento da doença.

Considerando as dificuldades do tratamento da doença, há urgência na busca de novos agentes terapêuticos mais efetivos, de baixo custo e com reações adversas menos agressivas, para substituir ou suplantar aqueles já em uso clínico.

Atualmente o desenvolvimento de medicamentos com atividade leishmanicida lança mão das seguintes abordagens: a investigação das vias metabólicas do parasito para encontrar e validar alvos terapêuticos; avaliação de compostos naturais (a maioria oriundo de plantas) e sintéticos com as diferentes formas do parasito; a avaliação da atividade leishmanicida de outros compostos de uso clínico (por exemplo, medicamentos contra o câncer) (DE MORAIS et al., 2014).

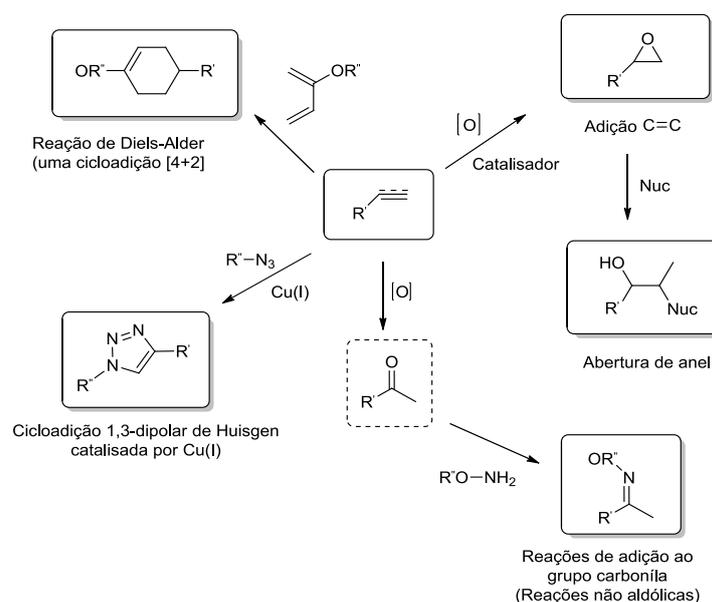
3 A QUÍMICA “CLICK” (*CLICK CHEMISTRY*) E A FORMAÇÃO DOS 1,2,3-TRIAZÓIS

O conceito de química “click” (*click chemistry*) foi introduzido em 2001 por Karl Barry Sharpless e colaboradores para descrever reações termodinamicamente favoráveis, de fácil execução e que forneçam produtos com elevados rendimentos sendo, portanto, de grande aplicabilidade (FREITAS et al., 2011; SHARPLESS; KOLB; FINN 2001).

Para que uma reação seja considerada um processo “click” ela deve apresentar as seguintes características: ser modular; ser rápida; ser capaz de unir duas moléculas de forma simples; gerar produtos com elevados rendimentos; ser estereoespecífica, mas não necessariamente enantiosseletiva; não necessitar de cuidados especiais (tais como emprego de atmosfera inerte e solventes anidros); utilizar reagentes simples e solventes ambientalmente benignos; levar à formação de produtos que sejam de fácil isolamento e produzir produtos secundários inofensivos que possam ser removidos, preferencialmente, sem uso de cromatografia (HOU et al., 2012; SHARPLESS; KOLB; FINN, 2001; WANG et al., 2016).

Os exemplos mais comuns de reações que pertencem a esta categoria são: substituições nucleofílicas (especialmente reações de abertura de anéis de epóxidos e de aziridinas), adições a ligações múltiplas carbono-carbono, reações de compostos carbonílicos que não envolvam reações aldólicas, e reações de cicloadição de Diels-Alder e 1,3-dipolares (ESQUEMA 1) (MOSES; MOORHOUSE, 2007; SHARPLESS; KOLB; FINN, 2001).

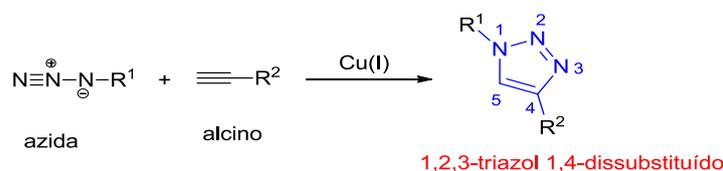
Esquema 1 – Exemplos de reações que se enquadram no conceito de química “click”.



Fonte: O autor.

Dentre as transformações que se encontram na definição de reação “click” a cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen, catalisada por Cu (I), gerando exclusivamente o isômero 1,2,3-triazol 1,4-dissubstituído, é considerada o exemplo perfeito (MOSES; MOORHOUSE, 2007). A transformação é conhecida como reação de cicloadição (C) entre um alcino (A) e uma azida (A) catalisada por cobre (reação CuAAC) ou reação “click” (ESQUEMA 2).

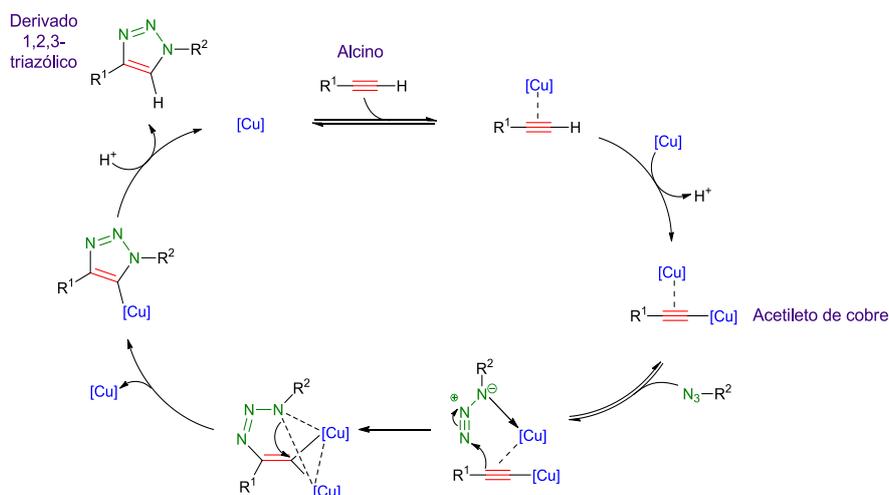
Esquema 2 – Reação “click” ou CuAAC. O anel 1,2,3-triazólico é destacado em azul.



Fonte: O autor.

Conforme mencionado anteriormente, a reação “click” (CuAAC) é catalisada por Cu(I). No entanto, a transformação é tipicamente conduzida empregando-se como fonte de cobre o sal sulfato de cobre(II) pentaidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), além de um agente redutor fraco como o ascorbato de sódio. Nessas condições, o Cu(II) é continuamente reduzido a Cu(I) pelo ascorbato de sódio, mantendo-se assim uma concentração relativamente elevada de Cu(I) na reação. A utilização da água como solvente é atrativa, pois além de ser um solvente benigno, universal, dissolve os sais inorgânicos de Cu(II) e o ascorbato de sódio, além de preservar o acetileno de cobre em seu estado reativo quando o mesmo é formado *in situ* (HEIN; FOKIN, 2010). O ciclo catalítico atualmente aceito para a reação “click” (FIGURA 4) foi proposto por Worrell, Malik e Fokin (2013) e é corroborado por estudos teóricos.

Figura 4 – Proposta de ciclo catalítico para a reação “click”.



A reação “click” (CuAAC) é um método amplamente utilizado para a preparação de compostos 1,2,3-triazólicos, os quais tem despertado grande interesse por possuírem uma ampla gama de aplicações, tais como explosivos, agroquímicos e principalmente fármacos (BORGATI et al., 2013; HEIN; FOKIN, 2010; MAO et al., 2015; ZHANG et al., 2014).

Além de atuarem como grupo farmacofórico de substâncias bioativas, um fato importante relacionado ao núcleo 1,2,3-triazólico é a sua utilização em estratégias de acoplamento de duas ou mais substâncias a fim de promover a potencialização de suas atividades farmacológicas (DHEER; SINGH; SHANKAR, 2017; MANETSCH et al., 2004; WHITING et al., 2006).

Dentre as várias atividades biológicas relatadas na literatura para os compostos 1,2,3-triazólicos e seus derivados, destacam-se: anti-HIV (DA SILVA et al., 2009), antimicrobiana (THOMAS; ADHIKARI; SHETTY, 2010), antibacteriana (BOECHAT et al., 2011), citotóxica (ANJOS et al., 2009), antitumoral (DA CRUZ et al., 2014), antiproliferativa (DEMCHUK et al., 2014), antiprotozoária (BAKUNOV et al., 2010), antifúngica (COSTA et al., 2017), antimalárica (GUANTAI et al., 2010), tripanocida (SILVA JR. et al., 2008;), anti-inflamatória (DHEER; SINGH; SHANKAR, 2017), citotóxica (GAZOLLA et al., 2018), fitotoxicidade (BORGATI et al., 2013; COSTA et al., 2017), além de leishmanicida.

Conforme será descrito a seguir, a reação “click” (CuAAC) vem sendo utilizada para a preparação de compostos 1,2,3-triazólicos com atividade leishmanicida e que podem ser úteis como novos agentes quimioterápicos para o tratamento da leishmaniose.

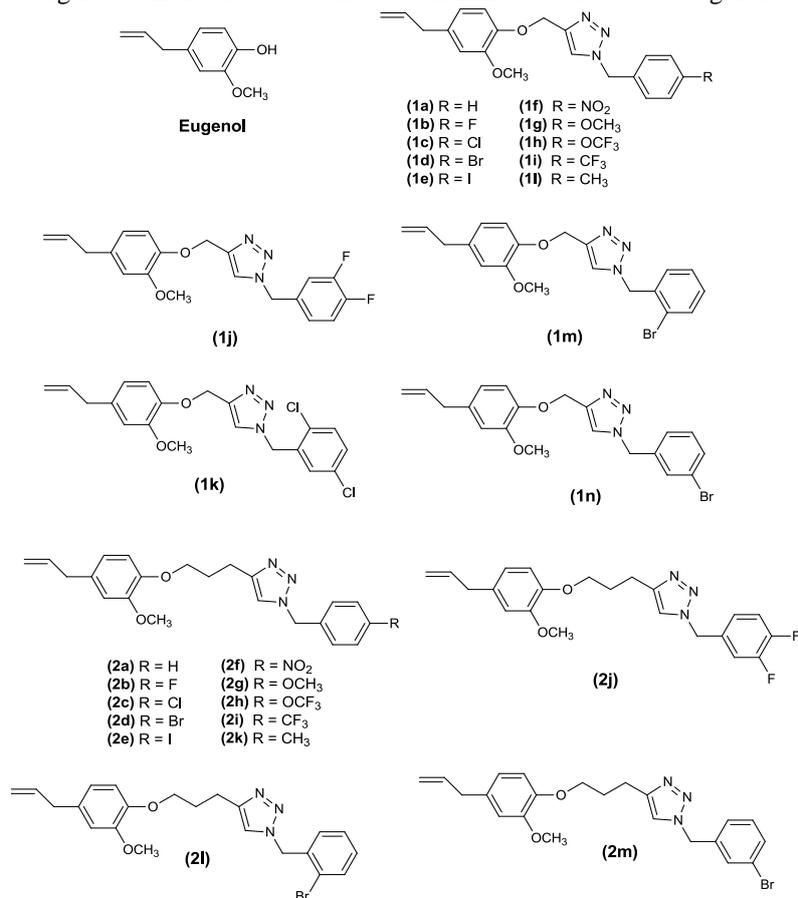
4 ATIVIDADE LEISHMANICIDA DE COMPOSTOS CONTENDO O NÚCLEO 1,2,3-TRIAZÓLICO

A necessidade de desenvolvimento de tratamentos mais efetivos contra a *Leishmania*, de administração por via oral, e com menos efeitos colaterais se impõe. A busca por uma nova opção terapêutica com o objetivo de aumentar a taxa de cura, diminuir a morbidade e o absenteísmo causados pela doença, além de diminuir o custo e facilitar a adesão do paciente ao tratamento, principalmente nas áreas da zona rural, é necessária. Desse modo, dentre as drogas alternativas em potencial destacam-se os antifúngicos azólicos, drogas com atividade *in vitro* e *in vivo* já evidenciadas contra o gênero *Leishmania* (AL-ABDELY et al., 1999; SOUSA et al., 2011). Com ação semelhante à Anfotericina B, os antifúngicos azólicos inibem a 14-alfa-demetilação do lanosterol, mediada pelo citocromo P450. Desta forma, estas medicações causam o acúmulo de 14-alfa-metil-esteróis, bloqueando a síntese de ergosterol, o principal

esterol da *Leishmania* (CROFT; SUNDAR; FAIRLAMB, 2006). Desta maneira, os compostos azólicos, como os 1,2,3-triazóis, são uma fonte de inspiração para a busca de novos compostos para o tratamento da Leishmaniose.

Teixeira e colaboradores (2018), em função da ação leishmanicida do eugenol previamente descrita na literatura, avaliaram a atividade leishmanicida de novos derivados 1,2,3-triazólicos do eugenol (FIGURA 5).

Figura 5 – Estruturas dos derivados triazólicos derivados do eugenol.



Fonte: O autor.

A avaliação dos derivados triazólicos do eugenol contra a forma promastigota de *L. amazonensis* revelou que os compostos **1a**, **1b**, **1k**, **2a**, **2b**, **2k** apresentaram valores de IC₅₀ inferiores a 100 µmol L⁻¹, sendo a substância **2k** aquela que apresentou maior eficácia (IC₅₀ de 7,4 µmol.L⁻¹).

Devido à sua melhor atividade contra a forma promastigota, o composto **2k** foi selecionado para a avaliação do seu efeito contra a forma amastigota intracelular. O Glucantime foi utilizado como controle positivo e mostrou eficácia inferior à substância **2k** (TABELA 1).

Tabela 1 - Atividade leishmanicida do composto **2k** e de quimioterápicos comerciais contra a forma amastigota de *L. amazonensis*.

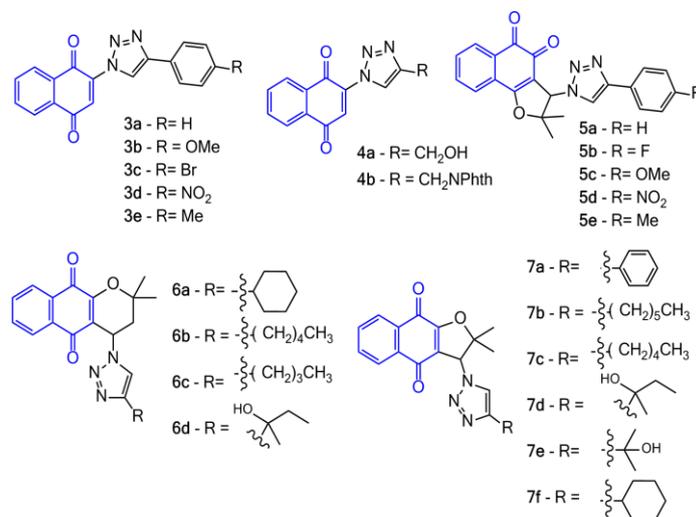
Amostra	IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)			
	Promastigotas	Amastigotas	Macrófagos	IS
Anfotericina B	0,2 ± 0,1	Nd	nd	nd
7k	7,4 ± 0,8	1,6 ± 0,2	211,9 ± 2,3	132,5
*Glucantime	nd	45,5 ± 1,6	75,5 ± 2,6	1,6

Média ± SD (n = 3). IS= Índice seletividade (IS= IC₅₀ contra macrófagos/IC₅₀contra amastigotas) *Glucantime [μg/ml] nd = não determinado.

As amastigotas são as formas parasitárias persistente no hospedeiro, e responsáveis pelos sintomas causados pela doença. Logo, este deve ser o principal alvo quimioterápico em estudos de novos agentes leishmanicidas (DE MORAIS et al., 2014). Assim, comparando-se os valores de IC₅₀ apresentados na Tabela 1, observa-se que embora o composto **2k** tenha apresentado menor atividade contra as formas promastigotas em relação ao medicamento Anfotericina B, o mesmo apresentou atividade leishmanicida superior ao quimioterápico comercial Glucantime para as formas amastigotas. Além disso, é possível observar que o composto apresenta baixa citotoxicidade frente a macrófagos (IC₅₀ 212 μmol L⁻¹), com índice de seletividade IS>132. Cumpre ressaltar que para ser considerado atrativo como um possível composto a ser utilizado no tratamento clínico da leishmaniose, o mesmo deve apresentar índice de seletividade superior a 10. Deste modo, considerando a baixa toxicidade de **2k** frente a células de macrófagos, bem como seu elevado índice de seletividade, sugere-se que este é uma substância que possa ser explorada como um possível agente no tratamento das leishmanioses.

Tomando-se como estrutura base o núcleo naftoquinona (destacado em azul na Figura 6), Guimarães e colaboradores (2013) sintetizaram cinco grupos de derivados 1,2,3-triazólicos.

Figura 6 – Estruturas das naftoquinonas com porções 1,2,3-triazólicas.



Fonte: O autor.

Os compostos sintetizados foram avaliados contra as formas promastigota em cepas sensíveis (WT) e resistentes (2700R) a antimônio de *L. infantum* (syn. *L. chagasi*), agente etiológico da leishmaniose visceral e *L. amazonensis* que está relacionado com a forma cutânea da doença. Essas espécies levam a diferentes manifestações clínicas de Leishmaniose, sugerindo metabolismo e conseqüentemente sensibilidade distinta aos fármacos. Sendo assim, nota-se a importância do uso de diferentes espécies de *Leishmania* na triagem de novas substâncias frente aos parasitos, bem como cepas com diferentes graus de suscetibilidades aos fármacos antimoniais.

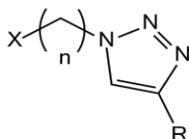
Considerando os compostos apresentados na Figura 6, os ensaios de avaliação da atividade leishmanicida revelaram que os compostos **3a**, **3b**, **3c**, **3e**, **4a** e **4b** apresentaram atividade contra as duas cepas de *Leishmania*, com valores IC_{50} variando de 5,80 a 57,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$. No entanto, estes compostos foram tóxicos para macrófagos peritoneais com valores de CC_{50} na faixa de 5,39 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, resultando em valores de IS (índice de seletividade) entre 0,37 e 1,72.

O grupo de compostos **5a-5e** contém diferentes substituintes doadores e retiradores de elétrons ligados ao grupo fenila do anel triazólico. Todos os compostos deste grupo mostraram atividade contra *L. infantum* (syn. *L. chagasi*) e *L. amazonensis*, com valores de IC_{50} entre 1,00 a 5,57 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e valores de CC_{50} para macrófagos peritoneais, aproximadamente iguais a 4 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Os compostos **6a-6d** e **7a-7f** foram os mais eficientes, indicando que a presença dos anéis pirano e furano é importante para a atividade leishmanicida no que tange à classe de compostos mostradas na Figura 6. Vale ressaltar que o grupo de compostos **7a-7f** apresentou a menor toxicidade frente aos macrófagos peritoneais, com valores CC_{50} de 8,01 a 19,81 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com exceção do composto **7b** (CC_{50} 2,77 μM). Os compostos **7c**, **7e** e **7f**, em particular, apresentaram alto índice de seletividade, com valores de 15,02, 12,78 e 10,23 respectivamente, e podem ser considerados os candidatos mais promissores para desenvolvimento de fármacos contra cepas de leishmaniose resistentes a antimônio.

Um total de dezesseis derivados triazólicos contendo diferentes porções alquílicas foi preparado por Gontijo e colaboradores (2015) via reação “click” (FIGURA 7).

Figura 7 – Estruturas dos triazóis com porções alquílicas.



8a - n= 12, X= OMs, R= -(CH ₂) ₃ OMs	8i - n= 12, X= F, R= -(CH ₂) ₃ OH
8b - n= 12, X= OMs, R= -(CH ₂) ₃ OCOCH ₃	8j - n= 12, X= OMs, R= -COOCH ₂ CH ₃
8c - n= 9, X= OMs, R= -(CH ₂) ₃ OH	8k - n= 12, X= OMs, R= -CH ₂ OH
8d - n= 12, X= OMs, R= -(CH ₂) ₃ OH	8l - n= 6, X= OMs, R= -(CH ₂) ₃ OH
8e - n= 9, X= OMs, R= -COOCH ₂ CH ₃	8m - n= 12, X= OMs, R= -(CH ₂) ₂ COOH
8f - n= 9, X= I, R= -(CH ₂) ₃ OH	8n - n= 6, X= OMs, R= -COOCH ₂ CH ₃
8g - n= 12, X= I, R= -(CH ₂) ₃ OH	8o - n= 9, X= I, R= -COOCH ₂ CH ₃
8h - n= 9, X= F, R= -(CH ₂) ₃ OH	8p - n= 12, X= I, R= -COOCH ₂ CH ₃

Fonte: O autor.

Avaliou-se a atividade desses compostos contra formas promastigota de *L. amazonensis*. Os compostos que obtiveram o melhor desempenho foram posteriormente avaliados contra a forma amastigota e sua citotoxicidade em macrófagos peritoneais murinos foi testada. Também verificou-se o potencial antiproteolítico desses compostos frente a protease de cisteína de *L. mexicana* (r-CPB2.8).

Diversas proteases de cisteína foram identificadas em diferentes espécies de *Leishmania* e são consideradas essenciais para sobrevivência e infectividade do parasita em seu hospedeiro humano. Essas proteases estão envolvidas no mecanismo de invasão dos macrófagos, subsequente transformação para a forma amastigota e evasão do sistema imune do hospedeiro. Diante da importância das proteases de cisteína na sobrevivência e ciclo de vida de espécies de *Leishmania*, elas são consideradas importantes alvos para o desenvolvimento de fármacos com ação leishmanicida.

Os valores de IC₅₀ da atividade antipromastigota dos dezesseis alquiltriazóis (FIGURA 7) variaram de 4,01 μmolL⁻¹ (**8b**) a 229,35 μmol L⁻¹ (**8l**). Apenas sete compostos (**8a**, **8b**, **8d**, **8e**, **8g**, **8i** e **8p**) exibiram atividades inibitórias igual ou inferior a dez vezes o IC₅₀ da anfotericina B (4,70 μmol L⁻¹) usada como controle positivo.

Os compostos mais ativos contra a forma promastigota foram testados contra a forma amastigota não móvel de *L. amazonensis* e os resultados encontrados divergem substancialmente daqueles observados para a forma promastigota, sendo o composto **8d** o mais ativo, com IC₅₀ de 14,25 μmol L⁻¹. Isso demonstra que não é adequado relacionar os resultados obtidos da atividade entre ambas as formas do parasita. A modulação da resposta mediada por células e as vias celulares e bioquímicas da forma amastigota diferem das da forma promastigota, sendo que o potencial quimioterápico dos fármacos leishmanicida está correlacionado aos seus efeitos contra amastigota. Os compostos mais ativos contra amastigota,

a saber, **8d**, **8i** e **8p**, apresentam como característica estrutural comum ao comprimento da cadeia alquílica (FIGURA 7, n=12).

Ao investigar um possível mecanismo de ação antiproteolítico, observou-se que o composto **8e** foi o inibidor mais potente, com valor de IC_{50} de $0,8571 \mu\text{mol L}^{-1}$; no entanto, foi sete vezes menos ativo que o composto E64 (IC_{50} $0,125 \mu\text{mol L}^{-1}$) usado como termo de comparação. Percebe-se que os compostos exibem uma correlação inversa entre atividade antiamastigota e antiproteolítica. Diante desse fato, especula-se que a ação antiproteolítica não é essencial para evitar que macrófagos sejam infectados.

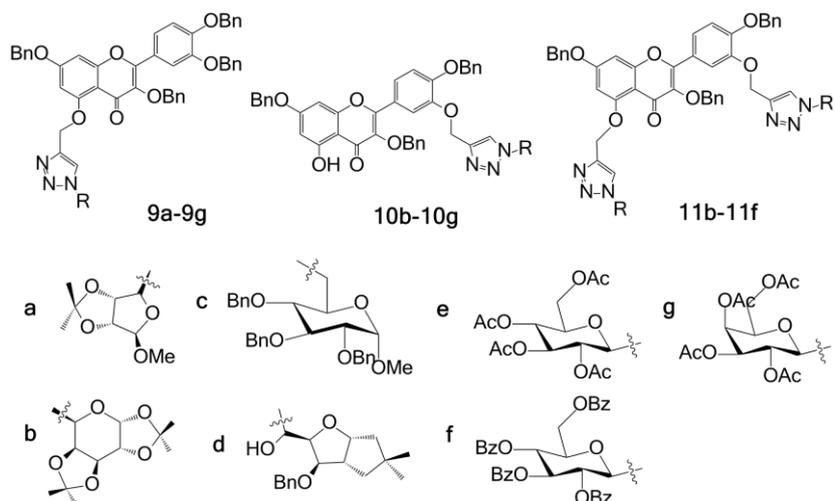
Apesar dos compostos **8i** e **8p** exercerem significativa atividade antiamastigota, os mesmos não podem ser considerados bons candidatos a fármacos, pois apresentam valores calculado de LogP (cLogP) superiores a 4, indicando elevada lipofilicidade. Compostos com essas características estão correlacionados com má absorção oral e dificuldade em ser excretado, com tendência a serem tóxicos. Para um programa de seleção de fármacos, é desejável que o valor de LogP esteja compreendido no intervalo entre 2 e 3, para que o composto seja satisfatoriamente absorvido e excretado. Sendo assim, o composto **8d** foi o único que se mostrou promissor, com baixa lipofilicidade (cLogp = 3,31), baixa toxicidade a macrófagos peritoneais ($163,4 \mu\text{mol L}^{-1}$) e significativa atividade antiamastigota com valor de Índice de seletividade de 11,47. Vale ressaltar que os derivados alquiltriazóis são atraentes por serem facilmente sintetizados e podem representar uma nova classe para o desenvolvimento de agentes leishmanicida.

Dwivedi e colaboradores (2015) sintetizaram compostos triazólicos glicoconjugados derivados da quercetina (FIGURA 8) e avaliaram sua atividade leishmanicida contra as formas promastigota (extracelular) e amastigota (intracelular) de *Leishmania donovani*.

A quercetina é um flavonóide conhecido por exercer efeito leishmanicida na forma amastigota de *L. donovani*, porém, apresenta pouca atividade contra forma promastigota. A presença de carboidratos ligados a flavonóides influencia na absorção, distribuição e metabolismo dessas moléculas, potencializando sua atividade biológica.

Em vista das propriedades medicinais da quercetina e da utilidade de carboidratos em compostos biologicamente ativos, realizou-se a síntese de dezoito derivados triazólicos, via reação de cicloadição 1,3-dipolar entre azido-açúcares e alcinos de *O*-benzilquercetina, catalisada por Cu(I).

Figura 8 – Derivados glicoconjugados triazólicos da quercetina.



Fonte: O autor.

Os valores de IC_{50} da atividade antipromastigota e anti-amastigota de todos os derivados triazólicos foram determinados e comparados com o fármaco miltefosina, que foi utilizado como controle positivo. Os compostos **9a-9g** e **11b-11d** demonstraram atividade com valores de IC_{50} variando entre 7,76 a 47,48 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra a forma promastigota e 6,08 a 36,17 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra a forma amastigota, enquanto os compostos **10b**, **10e**, **10f**, **11e** e **11f** foram inativos ($IC_{50} > 100 \mu\text{g mL}^{-1}$) contra ambas as formas. O composto **9d** apresentou maior atividade entre todos os compostos testados, com valores de IC_{50} iguais a 7,76 e 6,08 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra as formas extra e intracelular, respectivamente. O composto **9d** apresentou atividade leishmanicida um pouco inferior àquela do fármaco miltefosina, contra ambas as formas. Entretanto, ao comparar a citotoxicidade frente aos macrófagos, o composto **9d** se mostrou menos tóxico que o medicamento padrão, com CC_{50} de 53,95 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e índice de seletividade (IS) de 8,87, sendo superior ao fármaco miltefosina, com IS de 5,71.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente capítulo objetivou mostrar a potencialidade de compostos 1,2,3-triazólicos como agentes quimioterápicos para serem utilizados no tratamento da leishmaniose. Não se buscou fazer uma discussão exaustiva de compostos 1,2,3-triazólicos descritos na literatura apresentando atividade leishmanicida. Porém, os exemplos aqui abordados demonstram que os anéis 1,2,3-triazóis podem ser uma alternativa a ser explorada no que tange ao desenvolvimento de novos leishmanicidas. Os compostos descritos foram avaliados *in vitro* e é desejável que ensaios *in vivo* sejam conduzidos para corroborar os efeitos *in vitro* aqui descritos. Vislumbra-

se que novos compostos 1,2,3-triazólicos serão futuramente reportados na literatura demonstrando a utilidade desta funcionalidade na busca por novos fármacos contra a leishmaniose.

5 AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelo auxílio financeiro.

6 REFERÊNCIAS

AL-ABDELY, H. M. et al. Efficacy of triazole SCH56592 against *Leishmania amazonensis* and *Leishmaniadonovani* in experimental murine cutaneous and visceral leishmaniasis.

Antimicrob Agents Chemother, v. 43, p. 2910-2914, 1999.

AMARAL, T. Leishmaniose visceral canina: um alerta para saúde pública. **Revista Cães e Gatos**, v. 123, p.20-25, 2009.

ANDRADE, M. A. et al. Essential oils: *in vitro* activity against *Leishmania amazonensis*, cytotoxicity and chemical composition. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 8, n. 444, p. 1-8, 2016.

BAKUNOV, S. A. et al. Synthesis and antiprotozoal activity of cationic 1,4-diphenyl-1H-1,2,3-triazoles. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, p. 254-272, 2010.

BAÑULS, A. L. et al. Clinical pleiomorphism in human leishmaniasis, with special mention of asymptomatic infection. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 17, p. 1451–1461, 2011.

BOECHAT, N. et al. Novel 1,2,3-triazole derivatives for use against *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294) strain. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p. 5988-5999, 2011.

BORGATI, T. F. et al. Synthesis and phytotoxic activity of 1,2,3-triazole derivatives. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, p. 953-961, 2013.

CAROSELLI, E. E. **Caracterizacao da atividade peptidasica de lisado e celulas integras de amastigotas e promastigotas de Leishmania (L.) amazonensis**. 2012. 84f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas (Biologia Molecular)) Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2012.

CHAN-BACAB, M. J.; PENA-RODRÍGUEZ, L. M. Plant natural products with leishmanial activity. **Royal Society of Chemistry**, v. 18, p. 674-688, 2001.

COSTA, A. V. et al, Synthesis of novel glycerol-derived 1,2,3-triazole and evaluation of their fungicide, phytotoxic and cytotoxic activities. **Molecules**, v. 22, n. 10, p. 1666-1681, 2017.

- COSTA, J. M. L. Epidemiologia das Leishmanioses no Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 75, n. 1, p. 3–17, 2005.
- CROFT, S. L.; SUNDAR, S.; FAIRLAMB, A. H. Drug resistance in leishmaniasis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, p. 111–26, 2006.
- DA CRUZ, E. H. G. et al. 1,2,3-triazole-arylamino and thio-substituted 1,4-naphthoquinones: potent antitumor activity, electrochemical aspects, and bioisosteric replacement of C-ring-modified lapachones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, p. 1608-1619, 2014.
- DA SILVA, F. C. et al. Synthesis, HIV-RT inhibitory activity and SAR of 1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazole derivatives of carbohydrates. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 373-383, 2009.
- DEMCHUK, D. V. et al. Synthesis and antiproliferative activity of conformationally restricted 1,2,3-triazole analogues of combretastatins in the sea urchin embryo model and against human cancer cell lines. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, p. 738-755, 2014.
- DE MORAIS, S. M. et al. Thymol and eugenol derivatives as potential antileishmanial agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 22, p. 6250–6255, 2014.
- DE SOUSA, T. C., et al. Leishmaniose canina em Brasília, DF: uma Revisão da literatura. **Tempus Actas de Saúde Coletiva**, v. 9, p. 187-202, 2015.
- DHEER, D.; SINGH, V.; SHANKAR, R. Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: current developments. **Bioorganic Chemistry**, v. 71, p. 30-54, 2017.
- DWIVEDI, P. et al. Click inspired synthesis of antileishmanial triazolyl-*O*-benzyl quercetinglycoconjugates. **Glycoconjugate Journal**, 2015.
- FREITAS, R. P. et al. A reação “click” na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. **Química Nova**, v. 34, p. 1791-1804, 2011.
- GAZOLLA, P. A. R. et al. Síntese e avaliação da atividade citotóxica de derivados do eugenol contendo núcleos 1,2,3-triazólicos. **Química Nova**, v. 41, p. 497-506, 2018.
- GIL, E. S. et al. Produtos naturais com potencial leishmanicida. **Revista de Ciências Farmacêuticas. Básica e Aplicada**, v. 29, p. 223-230, 2008.
- GONTIJO, V. S. et al. Leishmanicidal, antiproteolytic, and mutagenicity evaluation of alkyl triazoles and alkyl phosphocholines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 101, p. 24-33, 2015.
- GRIENSVEN, S.V. et al. Combination therapy for visceral leishmaniasis. **Lancet infect dis**, v. 10, p. 184-194, 2010.
- GRIMALDI, G.; TESH, R. B. Leishmaniasis of the New World: current concepts and implications for future research. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 6, p. 230-250, 1993.

- GUANTAI, E. M. et al. Design, synthesis and *in vitro* antimalarial evaluation of triazole-linked chalcone and dienone hybrid compounds. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 18, p. 8243-8256, 2010.
- GUIMARÃES, T. T. et al. ; *Leishmania* parasites : synthesis of novel α -and nor- α -lapachone-based 1,2,3-triazoles by copper-catalyzed azide e alkyne cycloaddition. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 63, p. 523–530, 2013.
- HEIN, J. E.; FOKIN, V. V. Copper-catalyzed azide–alkyne cycloaddition (CuAAC) and beyond: new reactivity of copper (I) acetylides. **Chemistry Society Review**, v. 39, p. 1302–1315, 2010.
- HOU, J. et al. The impact of clickchemistry in medicinal chemistry. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 7, p. 489-501, 2012.
- KOBETS, T.; GREKOV, I.; LIPOLDOVÁ, M. Leishmaniasis: prevention, parasite detection and treatment. **Current Medicinal Chemistry**, v. 19, p. 1443-1474, 2012.
- KRAUSPENHAR, C. et al. Leishmaniose visceral em um canino de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 907-910, 2007.
- LAINSON, R. Espécies neotropicais de *Leishmania*: uma breve revisão histórica. **Revista Pan-Amaz Saude**, v. 1, p. 13-32, 2010.
- MAHMOUDVAND, H. et al. In *vitro* and *In vivo* antileishmanial activities of pistaciavera essential oil. New York: Planta Med, 2015.
- MANETSCH, R. et al. *In Situ* click chemistry: enzyme inhibitors made to their own specifications. **Journal of the America Chemical Society**, v. 126, p. 12809-12818, 2004.
- MAO, M. et al. Synthesis and biological evaluation of novel N-pyridylpyrazole derivatives containing 1,2,3-triazole moieties. **Journal of Pesticide Science**, v. 40, p. 138-142, 2015.
- MAPA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO). Nota Técnica nº 11/2016/cpv/dfip/sda/gm/mapa. **Coordenação De Fiscalização De Produtos Veterinários**. Bairro Zona Cívico-Administrativa - DF, 2016.
- MARCONDES, M. Leishmanioses. In: LARSSON, R.. L. **Tratado de Medicina Externa**. 1. ed. São Paulo. Interebook Editorial, 2016. p. 313-344.
- MENDES, C. S. et al. Impacto das mudanças climáticas sobre a leishmaniose no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 21, p. 263-272, 2016.
- MICHALICK, M. S. M. et al. Leishmaniose Visceral Americana. In: NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. São Paulo: Atheneu, v. 11, 2005. p. 56-72.
- MORAIS, R. C. S. et al. **Aplicabilidade da técnica de PCR em tempo real para caracterização de espécies de *Leishmania***. 2015. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2015.

MOSES, J. E.; MOORHOUSE, A. D. The growing applications of “click” chemistry. **Chemistry Society Review**, v. 36, p. 1249-1262, 2007.

NEUBER, H. Leishmaniasis. **Journal der Deutschen Dermatologis Chen Gesellschaft**, v. 9, p. 754-765, 2008.

OLIVEIRA, G. G. S.; SANTORO, F.; SADIGUSKY, M. The subclinical form of experimental visceral leishmaniasis in dogs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.88, p. 243-248, 1993.

RATH, S. et al. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. **Química Nova**, v. 26, p. 550-553, 2003.

SACKS, D.; NOBEN-TRAUTH, N. The immunology of susceptibility and resistance to *Leishmania major* in mice. **Nature Reviews Immunology**, v. 2, n. 11, p. 845, 2002.

SEHGAL, R. et al. Immunology of leishmaniasis and future prospective of vaccines. **Intech**, 2012.

SHARPLESS, K. B.; KOLB, H. C.; FINN, M. G. Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 40, p. 2004-2021, 2001.

SILVA JR., E. N. et al Naphthoquinoidal [1,2,3]-triazole, a new structural moiety active against *Trypanosoma cruzi*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 1774-1780, 2008.

SILVA-LÓPEZ, R. E. Proteases de *Leishmania*: novos alvos para o desenvolvimento racional de fármacos. **Química Nova**, v. 33, p. 1541-1548, 2010.

SOTO, J. B. et al.. Miltefosine for the new world cutâneos leishmaniasis. **Clinical Infections Diseases**, v. 38, n. 9, p. 1266-1272, 2004.

SOUSA, A. Q. et al. High-dose oral fluconazole therapy effective for cutaneous leishmaniasis is dueto *Leishmania (Vianna) braziliensis*. **Clinical Infectious Diseases**, v. 53, p. 693-5, 2011.

STRUTHERS, H.; MINDT, T. L.; SCHIBLI, R. Metal chelating systems synthesized using the copper (I) catalyzed azide-alkyne cycloaddition. **Dalton Transactions**, v. 39, p. 675-696 2010.

TEIXEIRA, R. R. et al. Synthesis and leishmanicidal activity of eugenol derivatives bearing 1,2,3-triazole functionalities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 146, p. 274-286, 2018.

THOMAS, K. D.; ADHIKARI, A. V.; SHETTY, N. S. Design, synthesis and antimicrobial activities of some new quinoline derivatives carrying 1,2,3-triazole moiety. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 3803-3810, 2010.

WANG, C. et al. Metal-catalyzed azide-alkyne “click” reactions: Mechanistic overview and recent trends. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 316, p. 1–20, 2016.

WHITING, M. et al. Click SAR profiling of new onhibitors of HIV 1 protease enabled by the Cu(I)-Cat Syn 1,2,3-Triazole. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, p. 7697-7710, 2006.

WORRELL, B. T.; MALIK, J. A.; FOKIN, V. V. Direct evidence of a dinuclear copper intermediate in Cu(I)-catalyzed azide–alkyne cycloadditions. **Science**, v. 340, p. 457-460, 2013.

ZHANG, W. et al. Synthesis and biological evaluation of 4-(1,2,3-triazol-1-yl)coumarin derivatives as potential antitumor agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 24, p. 799-807, 2014.



Capítulo
13

**Nematoides entomopatogênicos: agentes promissores no controle
biológico de parasitos**

Maria Larissa Bitencourt Vidal¹
Isabella Vilhena Freire Martins²
Melissa Carvalho Machado do Couto Chambarelli³
Victor Menezes Tunholi Alves⁴

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: larissabvidal@hotmail

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: ivfmartins@gmail.com

³ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e-mail: melcouth@ufrj.br

⁴ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e-mail: victortunholi@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

Sabe-se a partir de estudos sistemáticos e taxonômicos que o Filo Nematelminthes é constituído por aproximadamente 20.000 espécies, das quais estão estabelecidos nos mais diferentes tipos de habitats, incluindo organismos vegetais e animais, desempenhando nestas condições relação de parasitismo. Porém, existem espécies de nematoides de vida livre, considerados animais da mesofauna que vivem nos espaços intersticiais de bancos de algas, sedimentos aquáticos e solos terrestres em grandes quantidades (RUPPERT; FOX; BARNES, 2005).

Dentro dessa variabilidade de nichos ecológicos, encontram-se espécies de nematoides nocivas a artrópodes, cujo relatos tem sido descritos desde o século XVII, por Ulisses Aldrovando em 1602. Nesta ocasião, o naturalista descreveu associações estabelecidas entre espécies de nematoides de gafanhotos (POPIEL; HOMINICK, 1992). Avanços científicos a cerca da interface nematoides/insetos foram alcançados por volta de 1930, intensificando-se na década de 1980. Atualmente são reconhecidas cerca de 30 famílias de nematoides em diferentes associações com os insetos (KAYA; GAUGLE, 1993).

Há as famílias que abrangem os nematoides entomopatogênicos, que parasitam insetos levando-os a morte. Este efeito é justificado em decorrência da associação destes nematoides com bactérias endosimbiontes pertencentes aos gêneros *Xenorhabdus* e *Photorhabdus*, que são transportadas em seus intestinos (KAYA; STOCK, 1997).

O objetivo deste capítulo é relatar sobre os nematoides entomopatogênicos como potenciais agentes de controle biológico de parasitos, descrevendo sobre a biologia, funções e importância das associações com os hospedeiros.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 NEMATOIDES ENTOMOFÍLICOS E ENTOMOPATOGÊNICOS

Os nematoides podem encontrar-se associados aos animais de diferentes formas. Especialmente no que se referem aos insetos, os nematoides exibem interações que vão do comensalismo ao parasitismo obrigatório. Nas relações de comensalismo, os nematoides podem ser encontrados no exoesqueleto ou nos sistemas digestivo, reprodutivo e excretor, bem como na hemocele, causando pouco ou nenhum dano ao hospedeiro. A maioria dessas espécies de nematoides, tal como as espécies de vida livre, podem se alimentar da microflora ou microfauna associadas aos insetos mortos (KAYA; STOCK, 1997).

Nematoides pertencentes à ordem Rhabditida podem ser classificados em diferentes famílias e podem apresentar relações distintas com outros organismos vivos. Quatro famílias são descritas como sendo de grande importância para o controle biológico. Sendo duas destas de nematoides entomofílicos, Mermithidae e Sphaerulariidae, e duas de nematoides entomopatogênicos (NEPs), Steinernematidae e Heterorhabditidae (DOLINSKI, 2006). Esses nematoides são importantes agentes no controle biológico, sendo capazes de infectar, proliferar e matar insetos de diferentes ordens (DOLINSKI, 2006; HAZIR et al., 2003; POPIEL; HOMINICK, 1992;). Dentre os nematoides considerados como entomopatogênicos os gêneros *Steinernema* (Família: Steinernematidae) e *Heterorhabditis* (Família: Heterorhabditidae) vem sendo alvo de diversos estudos (ADAMS et al., 2006).

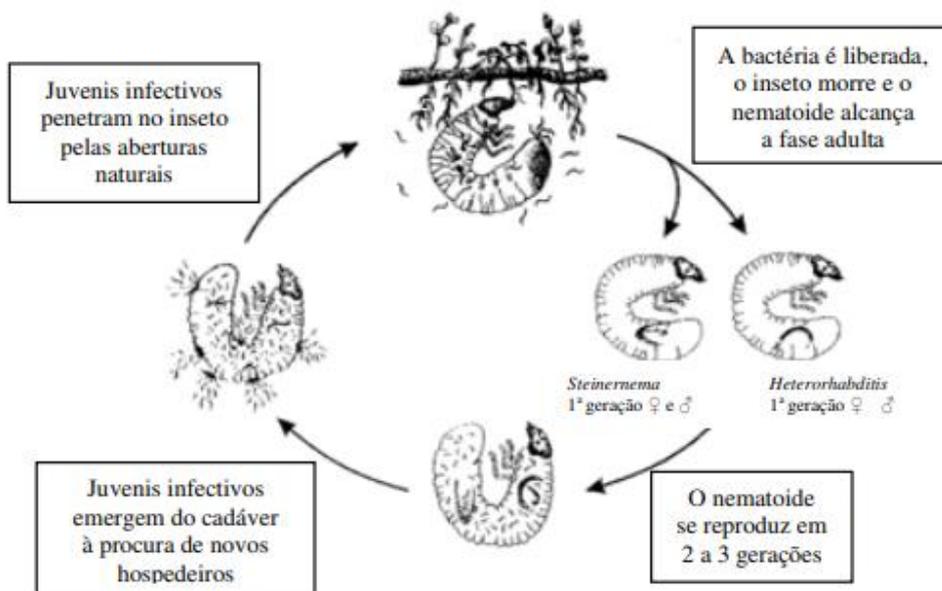
2.2 CICLO BIOLÓGICO DOS NEP'S

Os NEP's apresentam durante seu ciclo de vida uma forma larval de resistência, conhecida como Juvenil Infectante (JI), encontrada livre no solo. Os JIs possuem orifícios

naturais que ficam fechados nessa fase (boca e ânus) e duas cutículas sobrepostas, de forma a evitar dessecação e conferir maior tempo de sobrevivência. Os JIs apresentam no interior do seu tubo digestivo (intestino) uma monocultura de bactérias que permanece com crescimento e metabolismo controlados, até que este encontre um inseto para infectar. Os JIs infectam este inseto, adulto ou larva, ativamente, penetrando através de orifícios naturais como boca, ânus ou espiráculos respiratórios. Indivíduos do gênero *Heterorhabditis* possuem na sua extremidade anterior um dente quitinoso que permite que estes penetrem no hospedeiro através da cutícula (DOLINSKI, 2006). Sendo assim, a infecção poderá ainda ocorrer mediante a penetração em regiões menos resistentes do exoesqueleto do hospedeiro (ALMENARA et al., 2012).

Conseguindo avançar a principal cavidade do inseto, hemoceloma, os JIs liberam por regurgitamento as bactérias contidas no trato intestinal, as quais acabam por iniciar um quadro de infecção. Essas bactérias rapidamente lesam ou matam o inseto, que de acordo com Ciche e Ensign (2003) ocorre entre 24 e 48 horas, onde iniciam o processo de bioconversão do cadáver, que caracteriza-se pela proliferação intensa das bactérias que secretam metabólitos secundários, toxinas e exoenzimas (ALMENARA et al., 2012). A Figura 1 demonstra o esquema do ciclo de vida dos principais NEPs.

Figura 1. Esquema do ciclo de vida dos nematoides entomopatogênicos dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* dentro de um inseto. Desenvolvimento do estágio juvenil que passa por quatro fases (J1, J2, J3 e J4), onde o J3 é o juvenil infectante (JI). Há a formação da primeira geração de adultos, onde em *Heterorhabditis* apresenta exemplares hermafroditas e em *Steinernema* observa-se machos e fêmeas. A partir da segunda geração verifica a formação de machos e fêmeas em relação aos dois gêneros mencionados.



Fonte: Adaptado de Leite (2006).

O ciclo de vida de NEP's do gênero *Steinernema* (NGUYEN; SMART JR, 1992) é baseado no que já foi descrito a partir da entrada do JI no inseto, onde após liberação das bactérias (*Xenorhabdus* spp.), o nematoide se alimenta e retoma seu desenvolvimento. Os juvenis crescem e sofrem mudas sucessivas, dando origem aos adultos de primeira geração (machos ou fêmeas). Havendo machos e fêmeas no mesmo cadáver, ocorre a cópula. As fêmeas fecundadas ovipõem os ovos fertilizados. Estes poderão permanecer retidos na fêmea até a eclosão dos juvenis de estágio 1 (J1), que rompem a parede do corpo da mãe, atingindo a cavidade geral do inseto. Alguns J1 vão mudar para o estágio J2 e, mais tarde, vão se transformar em J3 infectantes ou JIs, retendo a cutícula do estágio anterior. Outros J1 vão completar o ciclo de desenvolvimento, passando por J2, J3 e J4. Os adultos copulam e novos ovos e/ou juvenis são liberados. Quando os recursos energéticos esgotarem, os ciclos reprodutivos cessam e os JIs migram para o meio ambiente, onde permanecem até encontrarem outro inseto, reiniciando um novo ciclo (ALMENARA et al., 2012).

Diferenças são notadas em relação ao ciclo de *Heterorhabditis* spp. onde os helmintos adultos de primeira geração mostram-se hermafroditas com características morfológicas de fêmeas (POINAR, 1990). Esta condição biológica favorece o sucesso de infecções em insetos por *Heterorhabditis*, pois mesmo havendo a infecção por um único JI, este apresentará a capacidade de realizar a autofecundação culminando na produção de ovos. Ao contrário do que ocorre em *Sterneinema*, os JIs de *Heterorhabditis* não precisam utilizar orifícios naturais do inseto para penetração. A presença de um dente córneo permite que estes perfurem a cutícula do inseto, especialmente em regiões mais finas e flexíveis, como entre os segmentos apendiculares (FORST; CLARKE, 2002).

Há também uma ação na eclosão dos juvenis no interior do corpo da mãe ou já liberados, matando a fêmea ou o hermafrodita, denominado endotoquia matricida. A partir da segunda geração de *Heterorhabditis* surgem machos e fêmeas, e a reprodução agora ocorrerá impreterivelmente por fertilização cruzada entre eles (ALMENARA et al., 2012).

2.3 NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS COMO CONTROLE BIOLÓGICO DE PARASITOS

Algumas características se mostram favoráveis para a utilização dos nematoides entomopatogênicos como controladores potenciais de pragas, são eles: baixo custo em produções, tanto artificial ou ambiental dos insetos hospedeiros; facilidade de armazenamento e manutenção; aplicação no campo; capacidade de busca ao hospedeiro; compatibilidade com

diversos pesticidas; e o fato de serem totalmente seguros para plantas e vertebrados se destacam (GREWAL, DE NARDO; AGUILLERA, 2001; DOLINSKI, 2006).

Além dessas características, Grewal, De Nardo e Aguilera (2001) e Koppenhöfer e Grewal (2005) descreveram que os juvenis infectantes (JIs) toleram exposições a herbicidas, fertilizantes, inseticidas, fungicidas e acaricidas, possibilitando estes permanecerem viáveis por mais tempo no ambiente, aumentando a probabilidade de infecção em hospedeiros susceptíveis; porém, isso está de acordo com a espécie de nematoide envolvida, o princípio ativo testado e o tempo de exposição. Além disso, há estudos feitos que comprovem que a associação dos NEPs com determinados inseticidas pode corroborar com o efeito e realizarem sinergismo ou adição de efeito no controle de pragas alvo (KOPPENHÖFER, et al., 2002; KOPPENHÖFER e GREWAL, 2005).

Agentes biológicos têm sido utilizados como alternativas potenciais para controle biológico, dentre os quais NEPs se destacam. Os gêneros que demonstram maior virulência são *Steinernema* e *Heterorhabditis*, os quais estão associados a bactérias simbióticas dos gêneros *Xenorhabdus* e *Photorhabdus*, respectivamente (BOEMARE; AKHURST; MOURANT, 1993).

Os NEPs são utilizados, testados e assegurados para vertebrados, plantas e outros organismos não alvos e são aplicados com facilidade, podendo ser disseminados por meio de equipamentos de irrigação (AKHURST; BOEMARE, 1990; GEORGIS, 1990), sem a necessidade de registro nos Estados Unidos (GORSUCH, 1982).

Na medicina veterinária, o estudo dos NEPs e sua potencial utilização como ferramenta no controle de artrópodes ainda é pouco relatada, mas estes vêm ganhando espaço. Alguns estudos já começaram a ser conduzidos visando à utilização de NEPs dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* no controle biológico de artrópodes de importância médico-veterinária (CARDOSO et al., 2013; MONTEIRO et al., 2010a; MONTEIRO et al., 2010b; MONTEIRO et al., 2012;).

Monteiro et al. (2010b) avaliaram a influência da infecção de *Heterorhabditis amazonensis* cepa RSC-5 em fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Segundo os autores o número de nematóides comprometeu proporcionalmente a taxa de oviposição, sobrevivência, bem como os pesos e massas de ovos. Em adição, Silva et al. (2012) durante a execução de ensaios experimentais, verificaram que *Heterorhabditis indica* (LPP1) reduziu significativamente o índice de produção de ovos (% EPI), a porcentagem de eclosão de

embriões (%) e a massa de ovos (mg) de *R. microplus*. A porcentagem de controle em todos os grupos foram superiores a 97%, chegando a 100% em algumas concentrações.

Cardoso et al. (2013) caracterizaram a relação de *Steinernema glaseri* em ninfas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* sobre os mais diversos tipos de parâmetros: período de pré-ecdise (PPE), período de ecdise (PE), período de muda (PM), porcentagem de ecdise (%Ec) e porcentagem de mortalidade (%Mt). Como principais resultados, os autores observaram alterações em todos os parâmetros analisados, com efeitos proporcionais ao número de NEP's.

Monteiro (2014) tem verificado a associação de diferentes carrapaticidas (Deltametrina, Amitraz, Clorfenvinfós, Clorpirifós + Amitraz, Clorpirifós + Cipermetrina + Butóxido de Piperolina + Citronelal e Clorfenvinfós + Diclorvós) em associação com *Heterorhabditis amazonensis*, isolado RSC-5, no controle de *R. microplus*. Os resultados obtidos das associações com Amitraz, Clorpirifós + Amitraz e Cipermetrina + Butóxido de Piperolina + Citronela, não alteraram a viabilidade desses nematoides, ou seja, que tais agentes antagonistas não são inativados na presença desses princípios ativos.

Estudos sobre o potencial desses agentes para o controle biológico de moscas demonstraram a infectividade dos nematoides *Steinernema feltiae*, *S. glaseri* e *Heterorhabditis heliothidis* em larvas, pupas e fases adultas de *Musca domestica* (GEDEN; AXTELL; ROOKS, 1986). Para tais autores, as larvas de segundo e terceiro instar e moscas adultas mostraram-se altamente suscetíveis a *S. feltiae* e *H. heliothidis*. Taylor et al. (1998), a partir de estudos experimentais, avaliaram o potencial entomopatogênico de oito espécies de *Heterorhabditis* e cinco de *Steinernema* em larvas de 3º estágio de *M. domestica*. As espécies de *Steinernema* revelaram maior virulência em relação as espécies de *Heterorhabditis*, onde dentre as quais a cepa que revelou maior efetividade foi a de *S. feltiae* SN, sobrevivendo no esterco por cerca de 10 dias.

Estudos de Mahmoud, Mandour e Pomazkov(2007), evidenciaram suscetibilidade das fases larval, pupal e adulta das moscas *Lucilia sericata*, *Calliphora vicina*, *Musca domestica* e *Stomoxys calcitrans* ao nematoide *Steinernema feltiae* (N-33). Como principais resultados, os autores verificaram que a mortalidade de larvas de segundo e terceiro estágio para todas as espécies analisadas foi proporcional ao aumento da concentração de *S. feltiae* e tempo de pós-aplicação. Em análise subsequente, Pierce (2012) testou sob condições laboratoriais e a campo a influência da infecção de NEPs (*Steinernema* spp. e *Heterorhabditis* spp.) frente ao primeiro, segundo e terceiro instar da mosca dos estábulos (*Stomoxys calcitrans*). Segundo o autor, quando combinados em uma mesma formulação, *Steinernema* spp. e *Heterorhabditis* spp. induziram maior taxa de mortalidade das moscas. Esses resultados ratificam a eficácia de NEPs

como potenciais agentes antagonistas destes dípteros, podendo ser incorporados como medida alternativa em programas de controle. Recentemente, Leal e colaboradores (2017) verificaram sob condições de laboratório a susceptibilidade de estágios imaturos de *Stomoxys calcitrans* a infecção por *H. bacteriophora* (isolado HP88) e *H. baujardi* (isolado LPP7). Após as análises, os pesquisadores demonstraram que todas as concentrações de NEPs avaliadas inerentes a linhagem HP88, causaram mortalidade larval média maior que 90% após quatro dias. Concentrações mais elevadas da linhagem LPP7 eliminaram mais de 70% após seis dias; já com concentrações mais baixas alcançaram níveis de 93,3%.

Tunholi et al. (2014) demonstraram a patogenicidade de *Heterorhabditis indica* LPP1 em *Bradybaena similaris*, sugerindo a utilização deste nematoide como potencial alternativa no controle biológico deste gastrópode. Segundo os autores, o estabelecimento de *H. indica* LPP1 em *B. similaris* induziu severas alterações histológicas e fisiológicas no organismo hospedeiro, caracterizadas principalmente pela ativação do catabolismo protéico, elevação nas atividades hemolinfáticas das aminotransferases (ALT e AST) e acúmulo dos compostos nitrogenados. Estes achados foram associados ao aumento da taxa de mortalidade (55%) em *B. similaris* após três semanas de exposição ao nematoide, provavelmente em resposta ao quadro de intoxicação metabólica e das lesões reportadas nos órgãos vitais do molusco.

Ademais, evidências laboratoriais têm caracterizado a susceptibilidade de *Lymnaea columella* a juvenis infectantes de *Heterorhabditis baujardi* LPP7. A exposição ao nematoide induziu taxa de mortalidade de 66,66% na população de *L. columella*, com os maiores valores alcançados após segunda semana de exposição. Em adição, todos os parâmetros reprodutivos analisados a saber (número total de ovos, número de massas ovíferas, número de ovos postos/molusco, taxa de eclodibilidade dos embriões, bem como, conteúdo de galactogênio estocado na glândula de albúmen) alteraram em decorrência da infecção, demonstrando a ocorrência do fenômeno de castração parasitária em *L. columella*. Tais resultados sugerem a utilização de *H. baujardi* LPP7 como potencial alternativa no controle biológico da população deste hospedeiro intermediário e, por conseguinte das doenças no qual participa na cadeia epidemiológica, especialmente a fasciolose, atendendo assim as recomendações preconizadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (TUNHOLI et al., 2017).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos realizados indicam que os nematoides entomopatogênicos são efetivos e apresentam características promissoras como agentes de controle biológico de parasitos. Embora haja estudos experimentais e a campo ratificando o comportamento antagônico de NEPs em relação a determinadas populações de parasitos de interesse médico e médico-veterinário, mais informações são necessárias, abrindo novos caminhos para o desenvolvimento de novas técnicas que visam incorporar estes agentes em formulações voltadas no controle efetivo, funcional e adequado destes parasitos no ambiente.

4 REFERÊNCIAS

ADAMS, B. J. et al. Biodiversity and systematics of nematode-bacterium entomopathogens. **Biological Control**, v. 37, p. 32-49, 2006.

AKHURST, R. J.; BOEMARE, N. E. **Biology and Taxonomy of *Xenorhabdus***. In: _____ Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. Boca Raton, Flórida, EUA: CRC Press; 1990. p. 75-87.

ALMENARA, D. P, et al. Nematoides Entomopatogênicos. **Tópicos Avançados em Entomologia Molecular, INCTEM**, v. 16, p. 1-40, 2012.

BOEMARE, N. E.; AKHURST, R. J.; MOURANT, R. G. DNA relatedness between *Xenorhabdus* spp. (Enterobacteriaceae), symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes, and a proposal to transfer *Xenorhabdus luminescens* to a new genus, *Photorhabdus* gen.nov. **International Journal Systematic Bacteriology**, v. 43, n. 2, p. 249-255, 1993.

CARDOSO, R. et al. Effect the entomopathogenic nematode *Steinernema glaseri* (Rhabditida: Steinernematidae) isolate Santa Rosa on the biological parameters of engorged nymphs of *Amblyomma cajennenses* (Acari: Ixodidae). **Arquivo Instituto Biológico**, v. 80, n. 2, p. 237-241, 2013.

CICHE, T. A.; ENSIGN, J. C. For the insect pathogen *Photorhabdus luminescens*, which end of a nematode is out? **Applied Environmental Microbiology**, v. 69, p. 1890-1897, 2003.

DOLINSKI, C. Nematoides como agentes do controle biológico de insetos. Fundamentos para regulação de semioquímicos, inimigos naturais e agentes microbiológicos de controle de pragas. **Brasília: EMBRAPA**, v. 1, p. 1-10, 2006.

FORST, S.; CLARKE, D. J. Nematode-bacterium symbiosis. In: _____ **Entomopathogenic nematology**, Wallingford: R. CABI Publishing, 2002. p. 57-77.

GEDEN, C. J.; AXTELL, R. C.; BROOKS, W. M. Susceptibility of the house fly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae), to the entomogenous nematodes *Steinernema feltiae*,

S. glaseri (Steinernematidae), and *Heterorhabditis heliothidis* (Heterorhabditidae). **Journal Medical Entomology**, v. 23, n. 3, p. 326-332, 1986.

GEORGIS, R. Formulation and application technology. In: _____ **Entomopathogenic nematodes in biological control**. . Boca Raton, Florida: Press Inc., 1990. p. 173-214.

GORSUCH, A. M. Regulations for the enforcement of the Federal Insecticide, fungicide and rodenticide act exemption from regulation of certain biological control agents. **Federal Register**, v. 47, 1982. p. 23928-23930.

GREWAL, P.; DE NARDO, E. A. B.; AGUILLERA, M. M. Entomopathogenic nematodes: potential for exploration and use in South America. **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 191-205, 2001.

HAZIR, S. et al. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. **Turkish Journal of Biology**, v. 27, p. 181-202, 2003.

KAYA, H. K.; GAUGLE, R. Entomopathogenic nematodes. Ann. **Revista Entomologia**, v. 38, p. 181-206, 1993.

KAYA, H. K.; STOCK, S. P. Techniques in insect nematology. In: LACEY, L. A. (Ed.) **Manual of techniques in insect pathology**. San Diego: Academic Press. Biological Techniques, 1997. p. 281-324.

KOPPENHÖFER, A. M., et al. Comparison of neonicotinoid insecticides as synergists for entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, v. 24, p. 90-97, 2002.

KOPPENHÖFER, A. M.; GREWAL, P. S. Compatibility and interaction with agrochemicals and biocontrol agents. In: GREWAL, P. S.; EHLERS, R. U.; SHAPIRO, D. I. **Nematodes as biocontrol agents**. CABI: Publishing Cambridge, 2005. p. 364-381.

LEAL, L. C. S. R. et al. Potential of entomopathogenic nematodes of the genus *Heterorhabditis* for the control of *Stromoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). **Brazilian Journal Veterinary Parasitology**, v. 26, n. 4, p. 451-456, 2017.

LEITE, L. G. Nematoides entomopatogênicos. controle biológico de insetos e ácaros. **São Paulo: Instituto Biológico**, v. 15, p. 42-51, 2006.

MAHMOUD, M. F.; MANDOUR, N. S.; POMAZKOV, Y. I. Efficacy of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* Cross N 33 against larvae and pupae of four fly species in the laboratory. **Nematology Mediterraneo**, v. 35, n. 2, p. 221-226, 2007.

MONTEIRO, C. M. et al. Evaluation of the action of *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) isolate HP88 on the biology of engorged females of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 170 n. 3-4, p. 355-358, 2010a.

MONTEIRO, C. M. O. et al. *Heterorhabditis amazonensis* (Rhabditidae: Heterorhabditidae), strain RSC-5, for biological control of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 106, n. 4, p. 821- 826, 2010b.

MONTEIRO, C. M. et al. *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida:Heterorhabditidae) HP88 for biological control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae): the effect of different exposure times of engorged females to the nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 185, n. 2-4, p. 364-367, 2012.

MONTEIRO, C. M. O. **Controle de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) com nematoides entomopatogênicos: aplicação em formulação inseto cadáver e compatibilidade com outros agentes de controle.** 2014. 199 p. [Dissertação]. Programa de pós-graduação em Ciências Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014.

NGUYEN, K. B.; SMART JR, G. C. Life cycle of *Steinernema scapterisci* (Nguyen & Smart, 1990). **Journal Nematology**, v. 24, p. 160-169, 1992.

PIERCE, L. R. **Efficacy of entomopathogenic nematodes utilized for control of stable flies (*Stomoxys calcitrans*) at round bale feeding sites.** 2012, 56f. [Dissertation]. Oklahoma State University, Stillwater, 2012.

POINAR, G. O. Taxonomy and biology of *Steiner nematidae* and *Heterorhabditidae*. In: GAUGLER, R.; KAYA, H. K. **Entomopathogenic nematodes in biological control.** Boca Raton, Florida: Press Inc., 1990. p. 23-60.

POPIEL, I; HOMINICK, W. M. Nematodes as biological control agents: part II. **Advances in Parasitology**, v. 31, p. 381-431, 1992.

RUPPERT, E. E.; FOX, R. S.; BARNES, R. D. **Zoologia dos invertebrados: uma abordagem funcional-evolutiva.** São Paulo: Roca, 2005. p. 884-899.

SILVA, E. R. et al. Action of *Heterorhabditis indica* (Rhabditida: Heterorhabditidae) strain LPP1 on the reproductive biology of engorged females of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Biologic Control**, v. 62, n. 3, p. 140-143, 2012.

TAYLOR, D. B., et al. Susceptibility of house fly (Diptera: Muscidae) larvae to entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae). **Environ Entomology**, v. 27, n. 6, p. 1514-1519, 1998.

TUNHOLI, V. M., et al. Physiological alterations in *Bradybaena similaris* (Stylommatophora: Bradybaenidae) induced by the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis indica* (Rhabditida: Heterorhabditidae) strain LPP1. **Experimental Parasitology**, v. 139, p. 8-12, 2014.

TUNHOLI, V. M., et al. Molluscicidal potential of *Heterorhabditis baujardi* (Rhabditida: Heterorhabditidae), strain LPP7, on *Lymnaea columella* (Gastropoda: Pulmonata): An alternative for biological control of fasciolosis. **Journal Acta Tropica**, v. 173, p. 23-29, 2017.

A graphic element consisting of a light green shield-like shape with a dark green border. Inside the shield, the word "Capítulo" is written in a bold, black, sans-serif font, and the number "14" is written below it in a larger, bold, black, sans-serif font.

Potencial terapêutico de plantas com mucilagens na cicatrização de feridas

Elisabeth Maria López de Prado¹
Winner Duque Rodrigues²
Taiana de Alencar³
Roselena Abreu Guedes⁴
Janaína Cecília Oliveira Villanova⁵
Juliana Aparecida Severi⁶

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: elisabeth.prado7@gmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: winner.duque@gmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: taiana_alencar@hotmail.com

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: rosinhafarma25@gmail.com

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: farmacotecnica@yahoo.com.br

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: juseveri@yahoo.com.br

1 INTRODUÇÃO

Uma ferida pode ser definida como a interrupção da integridade anatômica, fisiológica e funcional dos tecidos do corpo. As feridas cutâneas podem ser produzidas por fatores extrínsecos, como as incisões cirúrgicas e lesões acidentais (trauma por mordeduras, queimaduras), ou por fatores intrínsecos, como aquelas causadas por infecções, alterações vasculares (úlceras crônicas), doenças metabólicas (diabetes) e neoplasias. A pele é tida como a primeira barreira de proteção do organismo contra agentes externos e por isso está sujeita a constantes agressões, tornando sua capacidade de reparação muito importante para a sobrevivência. A possibilidade de acelerar a cicatrização das lesões cutâneas tem sido objeto de inúmeras pesquisas (AMALSADVALA; SWAIM, 2006; FAHIE, 2007; OLIVEIRA; DIAS, 2012).

A cicatrização é um processo que está presente na rotina clínica dos profissionais de saúde, dentre eles os médicos veterinários. Feridas em animais são uma razão comum e freqüente para procura de atendimento veterinário. Lesões que não cicatrizam estão associadas

a uma alta morbidade e podem afetar muito o bem-estar e a saúde, além de implicar em perda econômica. O manejo correto das feridas melhora a taxa de cura, o tempo para retornar à função normal, a aparência estética final e, portanto, a satisfação de clientes (HANANEH et al., 2015; LIPTAK, 1997; OLIVEIRA; DIAS, 2012).

Quando a cicatrização não progride normalmente, a ferida pode tornar-se crônica, sendo um fardo significativo para tanto o paciente quanto para o sistema médico. Segundo Han e Ceilley (2017), estima-se que o tratamento de feridas crônicas custa mais de 25 bilhões de dólares por ano ao sistema médico dos Estados Unidos, com número de pacientes afetados crescendo a cada ano. Os mesmos autores relatam que o mercado americano de produtos para cuidados de feridas excede 15 bilhões de dólares.

Pesquisas recentes tem priorizado o desenvolvimento e testes de vários materiais naturais e sintéticos que aumentem a taxa de cicatrização de feridas ou eliminem as possíveis complicações do processo de cicatrização (HANANEH et al., 2015). Neste sentido, destaca-se o uso dos produtos naturais desde a antiguidade para o tratamento de feridas. Atualmente, diversas plantas possuem comprovada ação cicatrizante, devido a diferentes classes de compostos bioativos, dentre eles os taninos, flavonoides, saponinas triterpênicas, óleos essenciais e mucilagens (FERRERO, 2006).

Em todo o mundo, mas especialmente nas zonas tropicais e subtropicais, existem plantas contendo mucilagem em seus tecidos, na superfície de suas sementes ou em suas cascas. Suas propriedades de retenção de água e gelificação propiciam várias aplicações nas áreas médica, farmacêutica e alimentícia. Quimicamente são polissacarídeos, mas podem estar associadas a uma variedade de outros componentes orgânicos e inorgânicos. As mucilagens ganharam atenção nas últimas décadas devido às suas propriedades medicinais. Têm efeito benéfico sobre queimaduras, feridas, úlceras, inflamações e irritações externas e internas, diarreia e desintéria. Várias publicações fizeram contribuições apreciáveis para a descoberta das propriedades bioativas de tais produtos que ocorrem naturalmente nas plantas (JYOTI et al., 2013; MORTON, 1990).

O presente capítulo tem como objetivo revisar os estudos sobre plantas medicinais mucilaginosas como alternativa terapêutica para cicatrização de feridas cutâneas.

2 O PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS

Feridas cutâneas decorrem da lesão dos tecidos por agentes mecânicos, térmicos, químicos e bacterianos, ocasionando uma interrupção na continuidade da pele, que afeta sua

integridade e funcionalidade. A cicatrização é o processo pelo qual um tecido lesado é substituído por tecido conjuntivo vascularizado. Trata-se de um processo biológico complexo, cuja função é reparar os tecidos, restaurando suas estruturas e funções normais (CAMPOS et al., 2007). De acordo com o tipo de ferimento, a cicatrização pode ser classificada como sendo por primeira, segunda ou terceira intenção. A cicatrização por primeira intenção (ou primária) ocorre em ferimentos com fenda estreita e pequena destruição tecidual nas bordas, como as feridas cirúrgicas. Há união imediata das bordas da ferida, evolução asséptica e cicatriz linear. A cicatrização por segunda intenção (ou secundária) ocorre em ferimentos extensos, com perda tecidual excessiva e as margens afastadas. Pode ou não haver infecção associada. O processo de reconstituição dos tecidos é mais demorado, em relação à cicatrização de primeira intenção (BRASILEIRO FILHO, 2013). A cicatrização por terceira intenção (ou terciária) envolve limpeza, debridamento e formação de tecido de granulação saudável para posterior aproximação das margens da ferida (pele e subcutâneo). Isto ocorre principalmente quando há presença de infecção na ferida, que deve ser tratada primeiramente, para então ser suturada posteriormente (TAZIMA et al., 2008).

O processo de cicatrização pode ser dividido em fases. No entanto, muitas vezes estas fases se sobrepõem e ocorrem simultaneamente. Segundo Kumar et al. (2010), a primeira fase é inflamatória, na qual ocorre inicialmente a formação do coágulo, desencadeando uma reação inflamatória no local. Na fase proliferativa, caracterizada pela formação do tecido de granulação, ocorre proliferação de células endoteliais e fibroblásticas, com deposição de colágeno e reepitelização da superfície da ferida. A última fase, chamada de maturação, envolve o remodelamento do tecido e a contração da ferida. O tempo de duração de cada fase pode variar de acordo com o tipo e extensão da ferida, bem como com as condições do organismo. Cada fase envolve diferentes eventos celulares, moleculares e bioquímicos que serão descritos sucintamente, a seguir.

Fase inflamatória: imediatamente após a ocorrência da lesão, são ativadas as vias de coagulação, resultando na formação de um coágulo sanguíneo na superfície da ferida, composto por hemácias, fibrina, fibronectina, componentes do complemento e macrófagos aprisionados no local. O coágulo evita a perda de sangue e fluidos, protege contra a entrada de agentes externos e funciona como um arcabouço para as células em migração, que são atraídas por fatores de crescimento, citocinas e quimiocinas liberadas no local. As citocinas ativam as células endoteliais, que expõe moléculas de adesão (ICAM, VCAM, selectinas), favorecendo a adesão de leucócitos. Os neutrófilos são as primeiras células a chegarem à ferida, com maior concentração 24 horas após a lesão; produzem radicais livres que auxiliam na destruição

bacteriana e são gradativamente substituídos por macrófagos. Estes últimos migram para a ferida após 48 - 96 horas da lesão e são as principais células antes dos fibroblastos migrarem e iniciarem a replicação. Têm papel fundamental no término do desbridamento iniciado pelos neutrófilos e sua maior contribuição é a secreção de citocinas e fatores de crescimento, necessários para a continuidade do processo. Usualmente essa fase dura cerca de 4 a 6 dias (BRASILEIRO FILHO, 2013; HOSGOOD, 2006; KUMAR et al., 2010).

Fase proliferativa: os fibroblastos migram para o local através de quimiotaxia, proliferam e depositam componentes da matriz extracelular no local, principalmente ácido hialurônico e colágeno tipo III. Simultaneamente, ocorre a formação de novos capilares a partir do endotélio de capilares das margens da ferida. A proliferação das células endoteliais é induzida por fatores de crescimento (VEGF, EGF e PDGF) e citocina TNF- α . O tecido conjuntivo neoformado recebe o nome de tecido de granulação, sendo rico em capilares e contendo matriz extra celular (MEC), formada por fibras colágenas finas (tipo III), ácido hialurônico e quantidade moderada de proteoglicanos. Em lesões com cicatrização de primeira intenção, cerca de cinco dias após a lesão, o tecido granular preenche todo o espaço da ferida e o epitélio da epiderme adquire sua espessura normal, inclusive com início de queratinização. Essa fase caracteriza-se pela reconstituição dos tecidos e fechamento da ferida. Tem início ao redor do 4º dia após a lesão e se estende aproximadamente até o término da segunda semana (BRASILEIRO FILHO, 2013; CAMPOS et al., 2007; KUMAR et al., 2010).

Fase de maturação (ou remodelamento): nessa fase ocorre gradualmente a substituição do tecido de granulação por uma cicatriz, envolvendo alterações na composição da matriz extracelular. Os fibroblastos e leucócitos secretam colagenases, que digerem as fibras de colágeno tipo III (mais finas), bem como as fibras dispostas de forma aleatória. O depósito de fibras de colágeno tipo I (mais resistentes) é intensificado e ocorre a reorganização das fibras de forma paralela às linhas de tensão, com aumento das ligações transversais, conferindo ao tecido maior resistência e força tênsil. Além das colagenases, outras metaloproteinases da matriz degradam os demais componentes da MEC, incluindo proteoglicanos, laminina, fibronectina e colágenos amorfos. O remodelamento do tecido conjuntivo que ocorre nessa fase resulta do equilíbrio entre a síntese e a degradação de componentes da MEC e proporciona o aumento da resistência do tecido. As fibras colágenas tornam-se mais grossas e compactas, comprimindo os capilares e reduzindo seu número. As células fagocitárias vão desaparecendo, por apoptose. Citocinas, quimiocinas e produtos de degradação da MEC atuam nos receptores dos fibroblastos induzindo a expressão de genes que estimulam a síntese de proteínas contráteis. Com isso, essas células adquirem o fenótipo de miofibroblastos, com função contrátil, de

fundamental importância para a contração das margens da lesão, promovendo a retração da cicatriz. A fase de remodelamento tem início após cerca de 2 a 4 semanas da ocorrência da lesão, estendendo-se por até 3 meses e, em alguns casos, até por anos. Na segunda semana, a resistência da cicatriz corresponde a cerca de 10 a 20% da resistência da pele não lesada, aumentando progressivamente até atingir cerca de 80% da resistência original (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005; BRASILEIRO FILHO, 2013; KUMAR et al., 2010).

O processo cicatricial está relacionado às condições gerais do doente e à resposta do organismo. Alguns fatores locais que podem influenciar negativamente a cicatrização são hipóxia tecidual, infecção, técnica cirúrgica inadequada, presença de corpos estranhos e tecido necrosado, edema e pressão tecidual elevada. Estes fatores podem atuar como barreira física para o desenvolvimento ordenado do tecido de granulação e deposição de colágeno, ou podem aumentar excessivamente a resposta inflamatória. Além disso, feridas em áreas com mobilidade alta são propensas à inflamação crônica, devido à perturbação repetitiva do tecido neoformado. Dentre os fatores locais, a infecção é a causa mais importante do retardo da cicatrização. O fluxo de sangue é outro fator relevante, pois quando é insuficiente aumenta o risco de infecção, retardando a taxa de cura. Além disso, a baixa perfusão tecidual aumenta a hipóxia, interferindo no metabolismo e no crescimento celular e prejudicando a cicatrização (CAMPOS et al., 2007; OLIVEIRA; DIAS, 2012).

Dentre os fatores sistêmicos que dificultam a cicatrização, pode-se citar diabetes, hipotireoidismo, síndrome de Ehler-Danlos, hipovolemia, hipotensão, hipotermia, alterações da coagulação, idade, insuficiência hepática, renal e respiratória, infecção, trauma, deficiências nutricionais, radioterapia e o uso de alguns fármacos. Várias deficiências dietéticas têm sido implicadas na cicatrização de feridas. Estudos têm demonstrado que a falta de proteínas compromete o processo cicatricial. A vitamina C (ácido ascórbico) é essencial para a síntese de colágeno e também é necessária para a produção de N-acetil galactosamina, um componente da matriz e do tecido de granulação. Deficiências de vitamina C diminuem a resistência da ferida à tensão e atrasam a cicatrização da lesão. O magnésio é necessário para a síntese de proteínas e a deficiência de zinco dificulta a função das metaloproteinases da matriz, que são essenciais na fase de maturação. Alguns medicamentos podem interferir negativamente na cicatrização de feridas, como os corticosteróides, penicilamina, ciclosporina e colchicina. Os anti-inflamatórios esteroidais (corticosteróides) restringem a fase inflamatória da cicatrização causando efeito inibitório na taxa e qualidade da cicatrização. Entretanto, uma única dose de esteróides não é suficiente para causar esse efeito. A nicotina, proveniente do tabagismo, retarda o processo de cicatrização. O uso de antioxidantes (vitamina C, vitamina E e *Gingko biloba*) tem sido

relacionado à menor formação de radicais livres e menor dano tecidual em situações de hipóxia (HAN; CEILLEY, 2017; OLIVEIRA; DIAS, 2012).

3 MUCILAGENS

3.1 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Quimicamente, as mucilagens enquadram-se no grupo dos polissacarídeos heterogêneos (heteroglicanos), que são polímeros de alto peso molecular, resultantes da condensação de unidades glicídicas diferentes entre si. Cada unidade glicídica é ligada à outra por meio da hidroxila hemiacetálica C-1, com outra hidroxila glicídica vizinha, ocorrendo a eliminação de uma molécula água. O grau de polimerização é bastante variável, podendo chegar até 3.000 unidades. As características físico-químicas são influenciadas pela estrutura primária, natureza e sequência dos monossacarídeos presentes; pelo grau de polimerização e pela conformação espacial de suas cadeias. As mucilagens podem ainda se apresentar com aspecto translúcido, de caráter neutro ou ácido, quando estão presentes ácidos urônicos em sua composição (JANI et al., 2009).

Possuem a propriedade de formar soluções viscosas ou géis ao entrarem em contato com a água, formando uma matriz hidrofílica e atuando como um reservatório de água *in vivo* (CÁRDENAS; ARGUELLES; GOYCOOLEA, 1998). Os grupos hidrofílicos interagem com a água para formar soluções viscosas ou géis. Polissacarídeos lineares ocupam mais espaço e formam soluções mais viscosas do que os análogos altamente ramificados com mesma massa molar. Por não ser possível a interação extensiva ao longo da cadeia, os compostos ramificados formam géis mais facilmente e são mais estáveis (JANI et al., 2009). Os géis resultantes de polímeros diferentes irão apresentar formas estruturais e texturas também diferentes, podendo ser aplicados em uma grande variedade de alimentos (TONELI; MURR; PARK, 2005). São geralmente sólidos em pó, dispersíveis em água morna sob forte agitação e insolúveis em álcool (CÁRDENAS; HIGUERA-CIAPARA; GOYCOOLEA, 1997).

3.2 APLICAÇÕES GERAIS

É suposto que as funções biológicas das mucilagens para os vegetais estejam relacionadas à manutenção da reserva de água para a planta, à proteção dos tecidos, evitando sua desidratação; ao auxílio na germinação e dispersão das sementes e à captura de insetos

(FERRERO, 2006). Podem ser encontradas em diferentes partes das plantas, como por exemplo, nas células da epiderme das folhas, em cascas de sementes e também em raízes (JANI et al., 2009).

Devido às suas propriedades de retenção de água e formação de gel, as mucilagens têm ampla aplicação nas indústrias alimentícia e farmacêutica. São utilizadas como estabilizantes, gelificantes e espessantes de alimentos. Na fabricação de medicamentos podem ser usadas com as funções de espessantes, aglutinantes e desagregantes das formulações. Os usos terapêuticos incluem propriedades laxantes e também protetoras das mucosas, sendo utilizadas para tratar inflamações e irritações locais, tosse, úlceras, queimaduras e feridas (JYOTI et al., 2013; MORTON, 1990).

De acordo com Jani et al. (2009), pode-se relatar algumas vantagens dos materiais naturais obtidos de plantas, especialmente das mucilagens. São polímeros biodegradáveis produzidos em todos os organismos vivos e não causam impactos adversos aos humanos e ao meio ambiente. Apresentam baixo custo, por serem provenientes de fontes naturais, as quais proporcionam custo da produção bem mais baixo quando comparados aos materiais sintéticos. A maioria das mucilagens é proveniente de fontes comestíveis, principalmente de plantas e algas, o que indica baixa toxicidade e fácil sua obtenção. São facilmente coletadas em quantidades apreciáveis, em diferentes estações do ano e por processos simples de produção.

3.3 APLICAÇÕES NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS

Dentre as diversas aplicações das mucilagens, o presente capítulo trata de seu potencial para utilização na cicatrização de feridas cutâneas. Ao aplicar mucilagem ou uma preparação contendo mucilagem sobre uma ferida, devido às propriedades já mencionadas, a mucilagem absorve água e forma um gel, depositando-se na forma de um filme viscoso sobre a lesão. Esse filme confere uma proteção física, lubrificando a região, mantendo-a hidratada e minimizando a ação de agentes irritantes como ácidos e bactérias (FERRERO, 2006; JYOTI et al., 2013). A manutenção da umidade no leito da ferida é considerada um dos fatores mais importantes para o processo de cicatrização (BOATENG et al., 2008).

Estudos recentes têm verificado ações específicas das mucilagens no processo de cicatrização, tais como: estimulação do crescimento das células epiteliais; aumento dos níveis de fatores de crescimento; aceleração da síntese do tecido conjuntivo, com estimulação da produção de fibroblastos e da síntese de colágeno; melhora da microcirculação cutânea, dentre

outros (AMMAR et al., 2015; BAHRAMSOLTANI et al., 2017; DI LORENZO et al., 2017; GHAFOURIAN et al., 2015; KOGA et al., 2018; VALIZADEH et al., 2015).

4 PLANTAS MUCILAGINOSAS UTILIZADAS NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS

4.1 *Althaea officinalis* (ALTEIA)

Althaea officinalis, família Malvaceae, é nativa da região Centro-Sul da Europa. Seus nomes populares são alteia, bismalva, malva-branca, malva-do-pântano, malvaíscio, malvarisco, malvavisco, raiz-de-mortificação, *marshmallow* (inglês), dentre outros. As folhas são constituídas por 10% de mucilagem, que por hidrólise origina glicose, arabinose, ramnose e ácido galacturônico. Possui ainda aminoácidos (asparagina, betaína), flavonoides (kaempferol, quercetina), taninos e vestígios de óleo essencial. As raízes apresentam composição mucilaginosa semelhante às folhas, além de arabinana, arabinogalactona, lectina e pectina, dentre outros (AL-SNAFI, 2013). O extrato da planta é utilizado para o tratamento de inflamações na pele, tais como dermatites de contato e eczemas. A aplicação do cataplasma ou compressas da folha e da raiz da alteia são feitas em feridas (inclusive com gangrena), queimaduras de sol e varizes. Pode ser útil em casos de abscessos, furúnculos e pele seca (ALISHAH et al., 2011). Segundo Valizadeh et al. (2015) a pectina detectada nas flores de *Althaea officinalis* proporciona um ambiente úmido e oxigenado no local da ferida, que é um fator vital para a angiogênese e epitelização, eliminando também as bactérias no local da lesão. Estudos tem relatado que os compostos fenólicos presentes também contribuem com o efeito anti-inflamatório, o que reduz o tempo de cura. O estudo de Valizadeh et al. (2015) observou que a pomada com 15% do extrato de alteia apresentou significativa melhora na cicatrização de feridas em coelhos e reduziu o tempo de cicatrização em comparação com o Eucerin® (ácido hialurônico) ou grupos não tratados.

4.2 *Malva sylvestris* (MALVA)

Malva sylvestris L., da família Malvaceae, é conhecida popularmente como malva, malva-cheirosa, malva de dente, malva de banho, entre outros. Os benefícios terapêuticos são atribuídos principalmente às flores e folhas. As folhas são constituídas por cerca de 10% de mucilagem, que por hidrólise origina L-arabinose, D-galactose, D-glicose, D-xilose e ácido D-galacturônico. Nas flores o teor de mucilagem pode chegar a 15%. Possui também flavonoides

(antocianinas e derivados sulfatados), taninos e ácidos fenólicos (BRASIL, 2011; GASPARETTO et al., 2012; NASIRI et al., 2015). Popularmente é amplamente utilizada para tratamento de processos inflamatórios, bem como para cicatrização de feridas (BRASIL, 2011; PRUDENTE et al., 2013). Pirbalouti et al. (2010) avaliaram a atividade cicatrizante de pomada contendo extrato de éter dietílico das flores de *M. sylvestris* em feridas em ratos Wistar induzidos à diabetes. Ao final do tratamento, foi possível observar melhora na reconstrução tecidual das feridas, com aumento da organização das fibras de colágeno, do número de fibroblastos e poucas células inflamatórias, comprovando que a malva acelerou o processo de cicatrização das feridas. Afshar et al. (2015) avaliaram a atividade do extrato aquoso de malva, utilizando ratos BALB/c induzidos à feridas cutâneas, os quais foram separados em grupos tratados topicamente com: extrato seco de malva incorporado a base de creme, creme tópico de sulfadiazina de prata e creme base sem princípio ativo (controles positivo e negativo). Após dez dias de tratamento, o número de células inflamatórias nos grupos tratados com a sulfadiazina de prata e com a *M. sylvestris* foi significativamente menor que no grupo tratado apenas com creme base. Além disso, o processo de cicatrização e cura da ferida foi melhor nos ratos tratados com malva do que nos ratos tratados apenas com creme base. Resultados semelhantes foram encontrados por Nasiri et al. (2015), que investigaram o efeito do creme de malva (a 10 e 15%) em queimaduras de segundo grau induzidas em ratos, reafirmando a ação cicatrizante de *M. sylvestris*. Resultados diferentes foram obtidos por Kovalik et al. (2014), cujo estudo verificou que a *M. sylvestris* incorporada em orabase não apresentou efeito sobre a cicatrização de feridas induzidas na mucosa palatina de ratos, quando comparado com o tratamento padrão de clorexidina 2%.

4.3 *Opuntia ficus-indica* (FIGO DA ÍNDIA)

Opuntia ficus-indica, pertencente à família Cactaceae, é conhecido como figo da Índia, figueira-da-Índia, nopal, nopalera, tuna, figueira ou piteira. Os cladódios e flores são mucilaginosos e utilizados na medicina popular para o tratamento de úlceras gástricas e cicatrização de feridas. É composta de mucilagem com unidades de arabinose, galactose, ramnose, xylose e ácido galacturônico; juntamente com minerais (Na, K) e fibras dietéticas (SAENZ; MONTOYA, 1999; TRACHTENBERG; MAYER, 1981). Estudos animais em modelo de lesões cutâneas com aplicação tópica de extratos de cladódios de *Opuntia*, demonstraram aceleração das fases de reepitelização e remodelação, com modulação das interações célula-matriz e da deposição de laminina (TROMBETTA et al., 2006). Resultados

semelhantes foram encontrados por Di Lorenzo et al. (2017), que testaram amostras dos cladódios de *Opuntia* em modelo celular *in vitro* de queratinócitos submetida a incisão (*scratch assay*), mostrando efetividade no processo de cicatrização. Ammar et al. (2015) avaliaram a atividade cicatrizante dos extratos mucilaginosos e metanólicos de flores de *O. ficus-indica*, utilizando modelo de ferida de excisão em ratos. Após treze dias de tratamento com ambos os extratos, observou-se um efeito benéfico no reparo cutâneo, avaliado pela aceleração das fases de contração e remodelação da ferida, bem como atividades antimicrobiana e antioxidante.

4.4 *Cydonia oblonga* (MARMELO)

Cydonia oblonga, da família Rosaceae, é conhecida por suas propriedades adstringente, antisséptica, antidiarreica, cicatrizante, nutriente e antiespasmódica. Também tem sido utilizada para o tratamento de tosse, bronquite, náuseas, febre, cistite, hemorróidas e diabetes. Tais propriedades podem ser atribuídas à presença de mucilagens, pectina e taninos produzidos pela planta (PROENÇA DA CUNHA; SILVA; ROQUE, 2003). Estudos experimentais e clínicos demonstraram sua atividade cicatrizante. Pesquisadores demonstraram o efeito proliferativo *in vitro* sobre fibroblastos de pele humana tratados com solução de mucilagem de 50 a 400 µg/mL, sendo esta última a dose mais efetiva após 72 horas de tratamento. Os autores propuseram que a mucilagem das sementes de marmelo pode conter fatores de crescimento, o que justificaria o aumento da proliferação de fibroblastos. Além disso, a semente de marmelo apresenta constituição fenólica, dentre eles o ácido cafeoilquínico, que é um potente antioxidante. Portanto, o extrato também exerce capacidade sequestradora de radicais livres (GHAFOURIAN et al., 2015). O aumento dos fatores de crescimento após utilização da mucilagem das sementes de marmelo também foi observado no estudo de Tamri et al. (2014), a partir do tratamento de feridas induzidas em coelhos. Os tratamentos com 10% e 20% de mucilagem proporcionaram cicatrização significativamente superior à do grupo controle. O creme com 20% de mucilagem apresentou completa cicatrização em 13 dias, maior resistência tecidual e níveis mais altos de fatores de crescimento.

4.5 *Curcubita moschata* (ABÓBORA)

Curcubita moschata Duchesne, comumente conhecida como “abóbora” e pertencente à família Cucurbitaceae, é uma espécie de ampla utilização alimentícia e medicinal. O fruto da abóbora é constituído por carotenóides, proteínas, carboidratos, minerais essenciais e

oligoelementos. As cascas do fruto contém aminoácidos, sendo especialmente ricas em polifenóis e mucilagens (em torno de 13,8%). As sementes possuem ácidos graxos mono e poli-insaturados; ácidos graxos saturados (ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oléico e ácido linoléico). O uso popular sugere que a casca do fruto seja útil para a cicatrização de feridas por queimaduras. Bahramsoltani et al. (2017) avaliaram o efeito de preparações tópicas com 10% e 20% de extrato das cascas do fruto em queimaduras de segundo grau em ratos durante um período de 14 dias. Foram realizados estudos histológicos e quantificou-se o poder antioxidante total, peroxidação lipídica e teor total de tiol na pele em amostras de tecido. Os resultados mostraram efeito benéfico do extrato da casca de *C. moschata*, especialmente na concentração de 20%, com aumento da cicatrização e redução de biomarcadores de estresse oxidativo tecidual. Os efeitos foram atribuídos ao alto conteúdo de mucilagem no extrato, bem como ao poder antioxidante tecidual dos compostos fenólicos presentes no extrato.

4.6 *Aloe vera* (BABOSA)

Aloe vera (L) Burm, da família Aloaceae, é popularmente chamada de babosa, aloe, aloe-de-barbados e aloe-decuração (LORENZI; MATOS, 2008; WHO, 1999). As folhas contem em seu interior um gel (ou mucilagem) constituído principalmente por água e polissacarídeos (pectinas, hemiceluloses, glucomanana, acemanna e derivados da manose). Também possui aminoácidos, lipídeos, fitosteróis, taninos, enzimas, vitaminas e sais minerais. Na parte externa das folhas há uma resina composta por derivados antracênicos, como as aloínas barbaloina e isobarbaloina, com ação fortemente laxante. O uso medicinal da babosa remonta ao século 4 A.C, com relatos no papiro de Ebers, no antigo Egito (ATHERTON, 1997; SAAD et al., 2016; WHO, 1999). Atualmente, vários estudos em modelos humanos, animais e em cultura de tecidos comprovam as propriedades cicatrizantes, demonstradas para feridas em geral, cirúrgicas, queimaduras e úlceras diabéticas. A Tabela 1 ilustra alguns dos estudos mais recentes. A literatura científica é vasta em trabalhos que destacam a atividade anti-inflamatória e cicatrizante da babosa. Porém, os mecanismos biológicos dessas atividades não estão completamente esclarecidos (CARVALHO, 2005). Filmes poliméricos incorporados com babosa demonstraram ser bons cicatrizantes (KOMATSU et al., 2017). Estudos mais aprofundados propõem que o mecanismo de ação da babosa nos processos inflamatórios baseia-se na produção de prostaglandinas, no aumento da migração de neutrófilos e leucócitos e na diminuição da concentração de TNF- α , entre outros (TABANDEH; ORYAN; MOHAMMADALIPOUR, 2014). A ação antiinflamatória e antiartrítica da babosa pode estar

relacionada às antraquinonas. Além disso, a mucilagem da babosa contém veracilglucanos A, B e C, compostos de reconhecida atividade antiinflamatória (ATHERTON, 1997; BOTTENBERG et al., 2007). Recentemente, foi averiguada ação antitumoral por inibir o crescimento da células cancerígenas e reduzir a frequência de metástases, sendo essa atividade possivelmente atribuída à presença de polissacarídeos, como a acemanana, e glicoproteínas, como as lectinas (ATHERTON, 1997; CHANDAN et al., 2007; CHO, 2009).

Tabela 1 – Estudos sobre a ação cicatrizante de *Aloe vera* (Continua)

AUTORES	MODELO	TRATAMENTO	RESULTADOS
SARI et al., 2018	Cicatrização de feridas de úlceras diabéticas induzidas em ratos Wistar.	Gel <i>in natura</i> (mucilagem) de <i>Aloe vera</i>	Após seis dias, área da ferida significativamente menor e reepitelização maior, em relação ao controle.
PRAKOSO; KURNIASI, 2018	Cicatrização de feridas induzidas em ratos Sprague-Dawley.	Cremes com 1% e 2% de extrato de <i>Aloe vera</i>	Os cremes promoveram redução significativa da área da ferida, na infiltração de leucócitos e na expressão de linfócitos CD8, além de aumento da espessura da epiderme e da expressão de linfócitos CD4. Não houve diferença significativa no número de fibroblastos.
KOGA et al., 2018	Cicatrização de feridas induzidas em ratos Wistar.	Biofilme de alginato com 25% de gel de <i>Aloe vera</i>	Houve modulação da fase inflamatória e diminuição do número de macrófagos. Diminuição das fibras colágenas do tipo III e aumento do tipo I, característica de remodelamento tecidual.
RANJBAR; YOUSEFI, 2018	Cicatrização de feridas induzidas em ratos Wistar, infectadas com bactérias Gram-positivas resistentes a antibióticos.	Biofilme de nanopartículas de quitosana com extrato de <i>Aloe vera</i>	Diminuição na contagem bacteriana, redução na área da ferida e aumento do conteúdo de hidroxiprolina, das taxas de reepitelização e neovascularização de forma estatisticamente significativa.
ORYAN et al., 2016	Cicatrização de feridas induzidas em dorso de ratos.	Gel de <i>Aloe vera</i> 25 mg/mL e 50 mg/mL, por dez dias	A inflamação foi modulada, houve aumento da contração e a epitelização da ferida, diminuição do tamanho do tecido cicatricial e melhora do alinhamento e da organização do tecido cicatrizado.

Tabela 1 – Estudos sobre a ação cicatrizante de *Aloe vera* (Continuação)

AUTORES	MODELO	TRATAMENTO	RESULTADOS
GOMES et al., 2016	Cicatrização de lesões cutâneas por segunda intenção em <i>Rattus norvegicus</i> Wistar.	Pomada de babosa a 1 mg/g	Observou-se contração da ferida, proliferação fibroblástica, intensa neovascularização e epitelização, mais evidentes nas lesões a partir do terceiro dia.
MERCÊS, 2015	Avaliação das atividades angiogênica e cicatricial em <i>Rattus norvegicus albinus</i> com lesões dorsais propositais.	Extrato glicólico de <i>Aloe vera</i> a 10%	Com relação a atividade cicatricial os resultados na avaliação macroscópica demonstraram que 100% dos ratos apresentaram um fechamento completo das lesões no 21º dia, enquanto que apenas 40% do grupo controle apresentaram fechamento completo.
TABANDEH; ORYAN; MOHAMMAD ALIPOUR, 2014	Avaliação da indução da expressão gênica durante o reparo de lesões cutâneas induzidas em ratos.	Polissacarídeos de <i>Aloe vera</i> ricos em manose	Fechamento mais rápido da ferida foi observado no 15º dia após o tratamento. Houve supra regulação na expressão do gene MMP-3 e aumento da expressão do gene TIMP-2, síntese de colágeno, NAGLA e NAGA em relação às feridas não tratadas.
DORNELES et al., 2003	Cicatrização de feridas cutâneas em coelhos.	Mucilagem a 50% em solução hidroglicólica; Mucilagem <i>in natura</i> ; Solução glicólica de mucilagem seca a 0,25%	Nenhum dos tratamentos acelerou o processo de cicatrização, entretanto não inibiram os processos de contração e epitelização. A mucilagem a 50% pareceu favorecer a contração das feridas, enquanto que a solução da mucilagem seca a 0,25% pareceu favorecer a epitelização das mesmas.
DRUDI et al., 2018	Cicatrização de feridas cutâneas em cães e gatos.	(I) Suco; (II) gel <i>in natura</i> de <i>Aloe vera</i> , comparado com (III) sulfadiazina de prata 1%	Tanto o suco como o gel foram mais eficazes que a sulfadiazina de prata, acelerando a retração da ferida, reduzindo o tempo de cicatrização e diminuindo a gravidade das lesões associadas.

Tabela 1 – Estudos sobre a ação cicatrizante de *Aloe vera* (Continuação)

AUTORES	MODELO	TRATAMENTO	RESULTADOS
BURUSAPAT et al., 2018	Ensaio clínico duplo cego. Cicatrização de feridas em 24 doadores de enxerto de pele, extraídos na área da coxa.	Gel contendo 87,4% de <i>Aloe vera</i>	O tempo para a reepitelização completa foi significativamente menor, mas não houve diferença em relação a avaliação da dor, em relação ao grupo controle.
SIMÃO et al., 2016	Estudo prospectivo com 12 pacientes entre 70 e 85 anos, 69% com úlceras por pressão estágio III.	Utilização do gel de <i>Aloe vera</i> 3%	Em todas as feridas houve o amolecimento do tecido necrótico, não houve diminuição significativa das variáveis da lesão. Concluiu-se que, embora observado em amostra reduzida, o gel de <i>Aloe vera</i> facilitou o tratamento das úlceras por pressão.
MOLAZEM et al., 2015	Ensaio clínico prospectivo, randomizado e duplo-cego, efetividade na cicatrização de feridas cesáreas em mulheres.	Gel de <i>Aloe vera</i>	O gel de <i>Aloe vera</i> foi eficaz na cicatrização de feridas cesáreas. A aplicação dérmica do gel não teve efeitos colaterais.
BOONYAGUL et al., 2014	Avaliação da ação de acemanano em modelo de extração dentária	Acemanano (polissacarídeo extraído de <i>Aloe vera</i>)	O acemanano aumentou a proliferação de células estromais da medula óssea, o VEGF, a BMP-2, a atividade da fosfatase alcalina, a expressão da sialoproteína e da osteopontina óssea e a mineralização. O teste <i>in vivo</i> apresentou maior densidade mineral óssea e cicatrização óssea mais rápida.
SHAHZAD; AHMED, 2013	Comparação com creme de sulfadiazina de prata 1% em queimaduras de 1° e 2° graus	Gel de <i>Aloe vera</i>	Cicatrização e alívio da dor ocorreu notavelmente mais cedo do que nos pacientes tratados com sulfadiazina de prata 1%.

Tabela 1 – Estudos sobre a ação cicatrizante de *Aloe vera* (Conclusão)

AUTORES	MODELO	TRATAMENTO	RESULTADOS
KOMATSU et al., 2017	Desenvolvimento de uma membrana de poli (L-co-D, L ácido láctico-co-trimetileno carbonato), projetada para melhorar a cicatrização da pele.	Membranas impregnadas com <i>Aloe vera</i> nas concentrações de 5%; 10%; 15% e 50%	Os testes de biocompatibilidade entre a membrana polimérica e o extrato de <i>Aloe vera</i> , mostraram-se satisfatórios. A proporção de 50% de <i>Aloe vera</i> teve o maior perfil de liberação do extrato, aumentando a ação do mesmo.

Fonte: O autor

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O valor terapêutico de plantas com mucilagens para o tratamento de feridas, por meio de sua ação cicatrizante, é explorado desde a antiguidade. O uso popular vem sendo confirmado por estudos científicos e vários trabalhos recentes tem observado ações biológicas das mucilagens relacionadas à regeneração dos tecidos. Porém, em alguns casos ainda não se sabe a composição exata das mucilagens, quais são as frações moleculares responsáveis por suas ações e seus mecanismos de ação, sendo necessárias mais pesquisas para elucidar essas questões. As mucilagens apresentam diversas vantagens em relação aos fármacos sintéticos, como baixo custo, alta disponibilidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixíssima toxicidade, sendo uma opção promissora para o tratamento de feridas.

6 REFERÊNCIAS

- AFSHAR, M. et al. Evaluation of cutaneous wound healing activity of *Malva sylvestris* aqueous extract in BALB/c mice. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 18, n. 6, p. 616-622, 2015.
- AL-SNAFI, A. E. The pharmaceutical importance of *Althaea officinalis* and *Althaea rosea*: A review. **International Journal of Pharm Tech Research**, v. 5, p. 1378-1385, 2013.
- ALI SHAH, S. M. et al. Pharmacological activity of *Althaea officinalis* L. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 24, p. 5662-5666, 2011.
- AMALSADVALA, T.; SWAIM, S. T. Management of hard-to-heal wounds. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 36, p. 693–711, 2006.

- AMMAR, I. et al. Antioxidant, antibacterial and *in vivo* dermal wound healing effects of *Opuntia* flower extracts. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 81, p. 483-490, 2015.
- ATHERTON, P. *Aloe vera* revisited. **The British Journal of Phytotherapy**, v. 4, n. 4, p. 176-183, 1997.
- BAHRAMSOLTANI, R. et al. Evaluation of phytochemicals, antioxidant and burn wound healing activities of *Cucurbita moschata* Duchesne fruit peel. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 20, n. 7, p. 798-805, 2017.
- BOATENG, J. S. et al. Wound healing dressings and drug delivery systems: A review. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, n. 8, p. 2892-2923, 2008.
- BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, p. 27-51, 2005.
- BOONYAGUL, S. et al. Effect of acemannan, an extracted polysaccharide from *Aloe vera*, on BMSCs proliferation, differentiation, extracellular matrix synthesis, mineralization, and bone formation in a tooth extraction model. **Odontology**, v. 102, n. 2, p. 310-317, 2014.
- BOTTENBERG, M. M. et al. Oral *Aloe vera* induced hepatitis. **The Annals of Pharmacotherapy**, v. 41, n. 10, p. 1740-1743, 2007.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília: Anvisa, 2011. 126 p.
- BRASILEIRO FILHO, G. (Ed.). **Bogliolo Patologia Geral**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2013. 463 p.
- BURUSAPAT, C. et al. Topical *Aloe vera* gel for accelerated wound healing of split-thickness skin graft donor sites: a double-blind, randomized, controlled trial and systematic review. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 142, n. 1, p. 217-226. 2018.
- CAMPOS, A. C. L. et al. Cicatrização de feridas. **ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 20, n. 1, p. 51-58, 2007.
- CÁRDENAS, A.; ARGUELLES, W. M.; GOYCOOLEA, F. On the possible role of *Opuntia ficus-indica* Mucilage in lime mortar performance in the protection of historical buildings. **Journal of the Professional Association for Cactus Development**, v. 3, p. 64-71, 1998.
- CÁRDENAS, A.; HIGUERA-CIAPARA, I.; GOYCOOLEA, F. Rheology and aggregation of cactus (*Opuntia ficus-indica*) mucilage in solution. **Journal of the Professional Association for Cactus Development**, v. 2, p. 152-159, 1997.
- CARVALHO, J. C. T. **Formulário médico-farmacêutico de fitoterapia**. São Paulo: Pharmabooks, 2005. 404 p.

CHANDAN, B. K. et al. Hepatoprotective potential of *Aloe barbadensis* Mill. against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 3, p. 560-566, 2007.

CHO, S. Dietary *Aloe vera* supplementation improves facial wrinkles and elasticity and it increases the type 1 procollagen gene expression in human skin in vivo. **Annals of Dermatology**, v. 21, n. 1, p. 6-11, 2009.

DI LORENZO, F. et al. The polysaccharide and low molecular weight components of *Opuntia ficus indica* cladodes: Structure and skin repairing properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 128–136, 2017.

DORNELES, D. et al. Efeito de *Aloe vera* Linné sobre a cicatrização de feridas de pele em coelhos. **Visão Acadêmica**, v. 4, n. 1, 2003.

DRUDI, D. et al. *Aloe barbadensis* Miller versus silver sulfadiazine creams for wound healing by secondary intention in dogs and cats: A randomized controlled study. **Research in Veterinary Science**, v. 117, p. 1-9, 2018.

FAHIE, M. A. Evidence-based wound management: A systematic review of therapeutic agents to enhance granulation and epithelialization. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 37, p. 559–577, 2007.

FERRERO, D. **Fitoterapia: Conceitos Clínicos**. São Paulo: Atheneu, 2006. 502 p.

GASPARETTO, J. C. et al. Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L.: a millennial herbal medicine. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 64, n. 2, p. 172-189, 2012.

GHAFOURIAN, M. et al. Enhancement of human skin fibroblasts proliferation as a result of treating with quince seed mucilage. **Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products**, v. 10, n. 1, e18820, 2015.

GOMES, J. C. et al. O efeito cicatrizante do *Aloe vera* em lesões cutâneas por segunda intenção. **Revista Brasileira de Iniciação Científica**, v. 3, n. 5, p. 143-157, 2016.

HAN, G.; CEILLEY, R. Chronic wound healing: A review of current management and treatments. **Advances in Therapy**, v. 34, p. 599–610, 2017.

HANANEH, W. M. et al. Review of animal models used to study effects of bee products on wound healing: findings and applications. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v. 59, p. 425-431, 2015.

HOSGOOD, G. Stages of wound healing and their clinical relevance. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 36, p. 667-685, 2006.

JANI, G. K. et al. Gums and mucilages: versatile excipients for pharmaceutical formulations. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 5, p. 308-322, 2009.

- JYOTI, W. et al. Potential of plants mucilages in pharmaceuticals and therapy. **Current Drug Delivery**, v. 10, n. 2, p. 198-207, 2013.
- KOGA, A. Y. et al. Evaluation of wound healing effect of alginate films containing *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) gel. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 32, n. 9, p. 1212-1221, 2018.
- KOMATSU, D. et al. Development of a membrane of poly (L-co-D, L lactic acid-co-trimethylene carbonate) with *Aloe vera*: An alternative biomaterial designed to improve skin healing. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 32, n. 3, p. 311-320, 2017.
- KOVALIK, A. C. et al. Effects of an orabase formulation with ethanolic extract of *Malva sylvestris* L. in oral wound healing in rats. **Journal of Medicinal Food**, v. 17, n. 5, p. 618-624, 2014.
- KUMAR, V. et al. **Robbins & Cotran Patologia: Bases Patológicas das Doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 1458 p.
- LIPTAK, J. M. An overview of the topical management of wounds. **Australian Veterinary Journal**, v. 75, n. 6, p. 408-413, 1997.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil – Nativas e exóticas**. 2. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2008. 244 p.
- MERCÊS, P. L. **Avaliação das atividades angiogênica e cicatricial do extrato de *Aloe vera* (*Aloe barbadensis*)**. 2015. 54 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2015.
- MOLAZEM, Z. et al. *Aloe vera* gel and cesarean wound healing; a randomized controlled clinical trial. **Global Journal of Health Science**, v. 7, n. 1, p. 203-209, 2015.
- MORTON, J. F. Mucilaginous plants and their uses in medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 29, n. 3, p. 245-266, 1990.
- NASIRI, E. et al. Effect of *Malva sylvestris* cream on burn injury and wounds in rats. **Avicenna Journal of Phytomedicine**, v. 5, n. 4, p. 341-354, 2015.
- OLIVEIRA, I. V. P. M.; DIAS, R. V. C. Cicatrização de feridas: fases e fatores de influência. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, n. 4, p. 267-271, 2012.
- ORYAN, A. et al. Aplicação tópica de *Aloe vera* acelerou a cicatrização, modelagem e remodelação: um estudo experimental. **Anais de Cirurgia Plástica**, v. 77, n. 1, p. 37-46, 2016.
- PIRBALOUTI, A. G. et al. Wound healing activity of *Malva sylvestris* and *Punica granatum* in alloxan-induced diabetic rats. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, v. 67, n. 5, p. 511-516, 2010.
- PRAKOSO, Y. A.; KURNIASIH. The Effects of *Aloe vera* Cream on the expression of CD4+ and CD8+ lymphocytes in skin wound healing. **Journal of Tropical Medicine**, v. 15; ID.

6218303, 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5832127/>>. Acesso em 15 de agosto de 2018.

PROENÇA DA CUNHA, A.; SILVA, A.; ROQUE, O. Marmeleiro. In: PROENÇA DA CUNHA, A. **Plantas e produtos vegetais em fitoterapia**. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, Portugal, 2003. 303 p.

PRUDENTE, A. S. et al. Pre-clinical anti-inflammatory aspects of a cuisine and medicinal millennial herb: *Malva sylvestris* L. **Food and Chemical Toxicology**, v. 58, p. 324-331, 2013.

RANJBAR, R.; YOUSEFI, A. Effects of *Aloe vera* and chitosan nanoparticle thin-film membranes on wound healing in full thickness infected wounds with methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. **Bulletin of Emergency and Trauma**, v. 6, n. 1, p. 8-15, 2018.
SAAD, G. A. et al. **Fitoterapia Contemporânea**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2016, 441 p.

SAENZ, C.; MONTOYA, L. C. Nopalitos: nueva hortaliza para Chile. **El Campesino**, v. 130 n. 6, p. 4-7, 1999.

SARI, Y. et al. A comparative study of the effects of Nigella sativa oil gel and Aloe vera gel on wound healing in diabetic rats. **Journal of Evidenci Based Integrative Medicine**, v. 23, p. 1-6, 2018.

SHAHZAD, M. N.; AHMED, N. Effectiveness of *Aloe vera* gel compared with 1% silver sulphadiazine cream as burn wound dressing in second degree burns. **The Journal of the Pakistan Medical Association**, v. 63, n. 2, p. 225-230, 2013.

SIMÃO, C. M. F. et al. O uso do *Aloe vera* em úlceras por pressão. **Revista Estima**, v. 3, n. 4, 2016. Disponível em:
<<https://www.revistaestima.com.br/index.php/estima/article/view/14>> Acesso em 15 de ago. 2018.

TABANDEH, M. R.; ORYAN, A.; MOHAMMADALIPOUR, A. Polysaccharides of *Aloe vera* induce MMP-3 and TIMP-2 gene expression during the skin wound repair of rat. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 65, p. 424-430, 2014.

TAMRI, P. et al. Wound healing properties of quince seed mucilage: *in vivo* evaluation in rabbit full-thickness wound model. **International Journal of Surgery**, v. 12, p. 843-847, 2014.

TAZIMA, M. F. G. S. et al. Biologia da ferida e cicatrização. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 41, n. 3, p. 259-264, 2008.

TONELI, J. T. C. L.; MURR, F. E. X.; PARK, K. J. Estudo da reologia de polissacarídeos utilizados na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 7, n. 2, p. 181-204, 2005.

TRACHTENBERG, S.H.; MAYER, A. Calcium oxalate crystals in *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.: development and relation to mucilage cells - a stereological analysis. **Protoplasma**, v. 109, p. 271–283, 1981.

TROMBETTA, D. et al. Effect of polysaccharides from *Opuntia ficus-indica* (L.) cladodes on the healing of dermal wounds in the rat. **Phytomedicine**, v. 13, p. 352–358, 2006.

VALIZADEH, R. et al. Wound healing potential of *Althaea officinalis* flower mucilage in rabbit full thickness wounds. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n. 11, p. 937-943, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO monographs on selected medicinal plants**. v. 2. Geneva: Organização Mundial de Saúde, 1999.

A graphic element consisting of a light green shield-like shape with a dark green border. Inside the shield, the word "Capítulo" is written in a bold, black, sans-serif font, and the number "15" is written below it in a larger, bold, black, sans-serif font.

Modalidades terapêuticas em oncologia de pequenos animais: aspectos gerais

Leandro André Milholli¹
Driéle Lutzke²
Marieta Cristina Kuster³
Karina Preising Aptekmann⁴
Leonardo Oliveira Trivilin⁵

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: andremilholli@gmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: drielelutzke@gmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: marieta.kuster@hotmail.com

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: kapreising@gmail.com

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: leotrivilin@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença importante na medicina humana e veterinária, visto que o aumento na expectativa de vida tanto de humanos como dos animais de companhia tem aumentado sua incidência, e as características multifatoriais da doença têm dificultado o tratamento antineoplásico (DALECK; DE NARDI, 2016).

Melhorias na compreensão das características moleculares e imunológicas das células cancerígenas levaram ao desenvolvimento de novas terapias contra o câncer, e a compreensão do papel destas, bem como as complexidades que fundamentam suas respostas terapêuticas, é primordial para a incorporação continuada e bem-sucedida da terapêutica oncológica, proporcionando avanços à oncologia veterinária nas últimas décadas (RODASKI; DE NARDI, 2008).

Esta revisão tem como objetivo descrever os aspectos gerais das modalidades terapêuticas em oncologia de pequenos animais, como cães e gatos, bem como os avanços decorrentes de seu estudo.

2 BIOLOGIA DO CÂNCER

O desenvolvimento de neoplasias está diretamente ligado ao ciclo de vida de uma célula, e o conhecimento do ciclo celular é fundamental para a compreensão do mecanismo de ação dos diferentes quimioterápicos e planejamento de suas administrações, assim como associação de outras terapias (RODASKI; DE NARDI, 2008).

O ciclo celular é constituído por dois períodos diferentes, sendo uma a fase quiescente (G0), na qual as células se encontram em repouso e a outra a fase de divisão celular que é constituída de quatro fases (G1, S, G2 e M) (BRASILEIRO FILHO, 2011).

A fase G1, também chamada de fase de crescimento 1, é caracterizada pela síntese de proteínas (códon) e reparos no DNA e ocorre após a mitose. A fase S, também conhecida como segunda fase é caracterizada pela síntese de DNA. A fase de crescimento 2 ou G2 é caracterizada pela síntese de proteínas (códon) e reparos no DNA, e antecede a fase de mitose. Por último tem-se a fase de mitose ou fase M, que consiste na divisão celular gerando duas células geneticamente idênticas (MASSAGUÉ, 2004).

Nas células tumorais, o ciclo celular não necessariamente é mais curto que em células normais, porém a célula tumoral apresenta mutações que a mantém em estado proliferativo, que atrasam sua morte (RODASKI; DE NARDI, 2008). Além disso, a velocidade de crescimento da neoplasia também está ligada ao ciclo celular, pois tanto a duração do ciclo celular, como o número de células em repouso e o número de células ativas influenciarão no crescimento da neoplasia (DALECK; DE NARDI, 2016).

3 QUIMIOTERAPIA

Os quimioterápicos são fármacos citotóxicos que possuem a capacidade de induzir danos em células que se apresentam na fase de divisão celular. O seu uso pode proporcionar a cura em determinados tipos de cânceres ou ser capaz de promover a redução da massa neoplásica. Além disso, pode prolongar a sobrevivência de animais que apresentam doença metastática (DALECK; DE NARDI, 2016). Atualmente, a gama de fármacos disponíveis, permite que cada paciente seja tratado de forma individual, visto que uma mesma neoplasia

pode ter comportamento e metabolismo diferentes em cada animal (BILLER et al., 2016; MOORE; FRIMBERGER, 2010).

A quimioterapia clássica também conhecida como quimioterapia de dose máxima tolerada, refere-se à administração de agentes quimioterápicos em altas doses com o intuito de maximizar a morte de células tumorais, seguida por um período de descanso para a recuperação de outras células que sejam sensibilizadas por estas drogas, como as da medula óssea e do trato gastrointestinal (BILLER et al., 2016).

Os fármacos antineoplásicos possuem maior efeito em células que apresentam intensa divisão mitótica, ou seja, células que estão multiplicando-se rapidamente. No entanto, o ciclo celular de células tumorais, não é necessariamente mais curto que no tecido saudável (RODASKI; DE NARDI, 2008). Além disso, a ação citotóxica dos quimioterápicos não diferencia células saudáveis de células neoplásicas, sendo este o principal mecanismo causador de seus efeitos colaterais (DALECK; DE NARDI, 2016; MOORE; FRIMBERGER, 2010).

Embora as células neoplásicas possam exibir maior suscetibilidade a toxicidade produzida pelos quimioterápicos, os períodos de intervalo entre os tratamentos podem permitir o crescimento tumoral (BILLER et al., 2016). Além disso, o desenvolvimento de mutações que gerem resistência aos quimioterápicos, e o suprimento sanguíneo deficiente em tumores de grandes proporções colaboram na falha terapêutica (MOORE; FRIMBERGER, 2010). No entanto, algumas células tumorais podem exibir quimioresistência mesmo que ainda não tenham sido expostas a referida droga, devido a um fenômeno denominado mecanismo de resistência a múltiplas drogas (MRMD) (DALECK; DE NARDI, 2016).

Os quimioterápicos são classificados conforme sua especificidade e efeitos sobre o ciclo celular, e com base na sua estrutura química. Em geral, estes fármacos agem principalmente durante a mitose, impedindo a formação do fuso mitótico, e na síntese de DNA, por meio do bloqueio da disponibilidade de precursores, pelo impedimento da transcrição do DNA ou sua lesão (RODASKI; DE NARDI, 2008).

Com o intuito de diminuir as reações secundárias a toxicidade e o desenvolvimento de populações neoplásicas resistentes, criou-se o conceito de poliquimioterapia, que consiste na utilização de fármacos antineoplásicos de forma associada com o intuito de alcançar um efeito aditivo ou sinérgico, e assim aplicar tratamento antitumoral a todas as células neoplásicas, principalmente as resistentes, sem aumentar a toxicidade aos tecidos saudáveis (RODASKI; DE NARDI, 2008). Entretanto, deve-se escolher criteriosamente os fármacos a serem associados, de forma que não apresentem toxicidade acumulativa (MOORE; FRIMBERGER, 2010), e que

atuem em diferentes fases do ciclo celular, para que o maior número de células neoplásicas possa receber tratamento (DALECK; DE NARDI, 2016).

A quimioterapia pode ser classificada em modalidades baseadas na sua finalidade terapêutica. Quando esta é realizada previamente a uma outra modalidade de tratamento, por exemplo, a cirurgia, e tem como objetivo reduzir a massa tumoral e prevenir a ocorrência de metástases, recebe a denominação de quimioterapia neoadjuvante. Por outro lado, a quimioterapia adjuvante consiste na associação da quimioterapia após outra modalidade terapêutica que já tenha permitido o controle da doença localmente, como forma de evitar ou minimizar os riscos de recorrência e metástases, assim como oferecer uma maior sobrevida. Já a quimioterapia paliativa não tem como finalidade a cura, mas oferecer para pacientes com neoplasias avançadas e doença metastática a minimização dos sinais clínicos causados pelo câncer (RODASKI; DE NARDI, 2008).

3.1 QUIMIOTERAPIA METRONÔMICA

Diferentemente da quimioterapia tradicional, a quimioterapia metronômica consiste na administração contínua de fármacos citotóxicos convencionais em doses relativamente baixas e em intervalos frequentes. Com isso, os efeitos colaterais secundários à toxicidade do fármaco são mais brandos ou inexistentes, assim como seu custo se torna mais baixo (GASPAR et al., 2018).

O objetivo principal da quimioterapia metronômica é promover efeitos anti-angiogênicos, impedindo o desenvolvimento de vasos sanguíneos para a nutrição tumoral. Neste contexto, as células endoteliais recrutadas para apoiar o crescimento do tumor são as principais afetadas, já que são extremamente sensíveis a doses baixas e ininterruptas dos quimioterápicos, por sua estabilidade genética (BILLER et al., 2016). Isto auxilia na indução da dormência tumoral e controle da doença. Além disso, apresenta efeitos no sistema imune, por meio da ativação da imunidade antitumoral, e sobre as células que dão origem ao tumor (*Cancer stem cells* – CSCs) pela inibição da angiogênese (GASPAR et al., 2018).

A ciclofosfamida é a droga mais estudada e utilizada para esta modalidade quimioterápica. Porém, a lomustina e o clorambucil também podem ser empregados com esta finalidade (BILLER et al., 2016).

Os efeitos colaterais secundários a administração de baixas doses de quimioterápicos são mínimos, e quando presentes, serão dependentes do fármaco empregado (DALECK; DE NARDI, 2016).

3.2 ELETROQUIMIOTERAPIA

O alcance de doses satisfatórias dos quimioterápicos no microambiente tumoral ainda é um desafio, uma vez que apenas uma pequena fração da dose terapêutica destes fármacos chega ao seu alvo (SPUGNINI et al., 2012), devido a influência de mecanismos como, a distribuição pela circulação sanguínea, sua evasão através da microvasculatura e difusão no espaço intersticial do tecido tumoral (AU; JANG; WIENTJES, 2002).

Quando uma célula é exposta a pulsação elétrica, sua membrana plasmática sofre um processo de remodelação, com formação de poros transitórios e consequente aumento da permeabilidade (CHANG et al., 1991; TEISSIE; TSONG, 1981). Este fenômeno é denominado de eletroporação (CHANG et al., 1991).

Os agentes quimioterápicos em sua maioria são hidrofílicos e fortemente lipofóbicos, apresentando certa dificuldade para entrar na célula, e desta forma, apenas uma parte da dose terapêutica chega ao destino (SPUGNINI et al., 2012). Apenas quimioterápicos que apresentam moléculas com baixa permeabilidade pela membrana plasmática devido sua hidrossolubilidade ou deficiência no transporte transmembrana, seriam eficientes para a eletroquimioterapia, e apesar dos diversos estudos com diferentes quimioterápicos, as drogas mais utilizadas para a eletroquimioterapia são a bleomicina - um agente altamente citotóxico, mas que apresenta baixa habilidade para se difundir através de membranas -, e a cisplatina, que apresenta dificuldade em se acumular no meio intracelular (DALECK; DE NARDI, 2016). Ou seja, a eletroporação otimiza o transporte de quimioterápicos para dentro das células, promovendo o aumento da absorção destes fármacos, e resultando na morte seletiva das células neoplásicas por potencializar o efeito citotóxico local (SPUGNINI; BALDI, 2014).

Para que se tenha a eliminação efetiva do tumor com o tratamento, é necessária a distribuição do campo elétrico em toda a extensão do tumor e a presença do quimioterápico no tecido tumoral (DALECK; DE NARDI, 2016). A via de administração do quimioterápico pode ser intratumoral, principalmente nos casos onde há um ou poucos nódulos, ou por via intravenosa (TOZON et al., 2016).

Diversos fatores vão influenciar no resultado da eletroporação, tais como a duração do pulso, a intensidade do campo elétrico, as dimensões das células, o número de pulsos, a frequência de repetição do pulso e a condutividade externa (DALECK; DE NARDI, 2016).

Dentre as vantagens da eletroquimioterapia estão a ausência de efeitos colaterais severos, o bom efeito cosmético, e a possibilidade de poupar o paciente de grandes procedimentos (BIANCHI et al., 2016), a estimulação do sistema imune e o seu efeito anti-

hemorrágico. Além disso, a seletividade proporcionada para a destruição de células tumorais, preservando células normais, permite o tratamento de regiões anatômicas onde a margem cirúrgica adequada não seria possível (DALECK; DE NARDI, 2016). Um dos principais efeitos colaterais é a dor que ocorre durante o tratamento, o que demanda sedação ou até mesmo anestesia do paciente para sua realização, porém, esta parece auxiliar no controle da dor a longo prazo (BERTINO et al., 2016).

A técnica de eletroquimioterapia vem se mostrando eficaz como terapia adjuvante, neoadjuvante, e até mesmo como terapia única para diversos tipos tumorais como por exemplo, tumores perianais em cães (SILVEIRA et al., 2011) e carcinomas de células escamosas em gatos (SILVEIRA et al., 2016), em mastocitomas cutâneos como modalidade terapêutica única ou em associação a cirurgia (LOWE et al., 2016; TOZON et al., 2016). Porém, resultados clínicos mais satisfatórios são observados em nodulações com dimensões menores que 3 cm (BERTINO et al., 2016), já que tumores com dimensões maiores, demandam tempos maiores de eletroporação (MALI et al., 2013).

Apesar de suas aplicações clínicas bem estabelecidas, principalmente para neoplasias cutâneas e subcutâneas (MARTY et al., 2006), estuda-se a aplicação dessa técnica em órgãos internos como fígado (EDHEMOVIC et al., 2011), cérebro (BOSE; CHATTERJEE, 2016), metástases ósseas (BIANCHI et al., 2016; FINI et al., 2013) e em neoplasias de cabeça e pescoço (BERTINO et al., 2016), bem como em tumores orais, como o melanoma (SUZUKI et al., 2017).

Outra aplicação clínica da eletroporação consiste na eletrotransferência do gene que codifica a interleucina-12 (IL-12). Esta técnica tem como objetivo potencializar os efeitos da eletroquimioterapia, visto que a IL-12 apresenta atividade antitumoral. No entanto, este incremento de eficácia será dependente do sistema imunológico do hospedeiro e sua capacidade de produção desta citocina (SEDLAR et al., 2012; TOZON et al., 2016).

4 IMUNOTERAPIA

O sistema imunológico pode auxiliar na prevenção e impedir o desenvolvimento de neoplasias. Esta característica é conhecida como teoria da vigilância imunológica (DALECK; DE NARDI, 2016), a qual vem sendo utilizada como proposta terapêutica em tumores altamente malignos e agressivos, principalmente com o intuito de prevenir e controlar a doença metastática (BILLER et al., 2016).

A imunoterapia tem como objetivo atuar na modulação e otimização da resposta imunológica, para que as células neoplásicas sejam reconhecidas e destruídas (KENNEDY, 2010). Esta modulação pode ser induzida de forma ativa por meio da estimulação do sistema imune do paciente para que este produza uma resposta contra o tumor, ou de forma passiva, pela utilização de uma substância efetora, que agirá sobre a neoplasia (DALECK; DE NARDI, 2016).

O sistema imunológico detecta tumores por meio de antígenos específicos associados aos tumores (BEATTY; FINN, 2013), e a imunoterapia pode estimular efeitos específicos dirigidos contra determinados alvos tumorais, ou inespecíficos em que o sistema imune é estimulado a ter um maior nível de atividade para destruir células neoplásicas (DALECK; DE NARDI, 2016).

As vacinas contra o câncer têm como objetivo a indução de uma resposta imune antitumoral que resultará na regressão clínica do tumor e de metástases caso presente, sendo a forma mais ativa de imunoterapia. Devido seu efeito ser dependente da resposta imune do paciente, os resultados decorrentes de seu uso podem demorar alguns meses para aparecer (BEATTY; FINN, 2013). Estas vacinas podem ser feitas utilizando antígenos provenientes de células tumorais alogênicas ou autólogas, lisados de tumor completos, peptídeos tumorais purificados ou pelo uso de antígenos tumorais definidos, como a tirosinase (GROSENBAUGH et al., 2011).

O uso destas vacinas tem sido estudado como tratamento adjuvante de melanomas malignos orais em cães (GROSENBAUGH et al., 2011), adenocarcinomas epiteliais (BEATTY; FINN, 2013), meningiomas e outros tipos de cânceres (ANDERSEN et al., 2013).

Em ensaios clínicos com cães portadores de linfoma de células B a utilização de uma vacina genética direcionada à transcriptase reversa da telomerase, associada a quimioterapia resultou em um aumento significativo na sobrevivência dos cães vacinados, se comparado aos animais não vacinados (GAVAZZA et al., 2013).

Além das vacinas antitumorais, o uso de anticorpos monoclonais, interleucinas, e outras moléculas para o tratamento celular, têm permitido melhores resultados no tratamento do câncer, com menores efeitos colaterais e maior aceitação do tutor ao tratamento (DALECK; DE NARDI, 2016).

Embora os resultados da imunoterapia aparentemente sejam promissores, a associação da radioterapia ou da quimioterapia aos protocolos tem o potencial de melhorar seus efeitos (BILLER et al., 2016).

5 INIBIDORES DE TIROSINA QUINASE

As células possuem vias de sinalização que coordenam a sua proliferação, diferenciação, sobrevivência e apoptose. Nas células neoplásicas essas vias se encontram desreguladas, principalmente quanto ao crescimento descontrolado, a não programação da morte celular, e aquisição de uma maior mobilidade que favorece o surgimento de metástases (DALECK; DE NARDI, 2016).

As proteínas quinases são enzimas responsáveis pela ativação de diferentes proteínas que estarão envolvidas nas vias de regulação do ciclo celular, e o seu conhecimento tem permitido o desenvolvimento de terapias alvo na oncologia, assim como em outras áreas da medicina, uma vez que diferentes doenças podem causar desregulação destas proteínas (SILVA et al., 2009).

Os inibidores da tirosina quinase representam uma nova classe de fármacos anticancerígenos que vão bloquear a transdução de sinal para os receptores de tirosina quinase, e desta forma irão impedir o crescimento tumoral (BILLER et al., 2016).

O masitinib foi o primeiro inibidor de tirosina quinase aprovado para uso veterinário, sendo também utilizado em humanos. Sua ação principal consiste na inibição altamente seletiva do *Kit* (DALECK; DE NARDI, 2016), principal receptor de tirosina quinase envolvido na sinalização intracelular, e sua mutação está relacionada ao desenvolvimento de alguns tipos tumorais (BABAEI et al., 2016).

O toceranib apresenta atividade contra receptores do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR), receptores do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFR) e *Kit*, lhe conferindo não só atividade antitumoral direta, como atividade antiangiogênica (DALECK; DE NARDI, 2016).

Essa classe de fármacos tem sido empregada principalmente, no tratamento de mastocitomas cutâneos em cães (HAHN et al., 2008; SMRKOVSKI et al., 2013), visto que uma parcela destes tumores apresenta mutação do *Kit*, no entanto, outras vias parecem ser afetadas (HAHN et al., 2008).

A atividade biológica do toceranib também tem sido avaliada em outros tumores sólidos como feocromocitomas (MUSSER et al., 2018), carcinomas de tireoide, e em região de cabeça e pescoço (LONDON et al., 2011), e o masitinib foi empregado no tratamento do linfoma epiteliotrópico canino (HOLTERMANN et al., 2015), entretanto, informações sobre sua eficácia em outras neoplasias de animais de companhia são escassas, provavelmente pelo fato de também ser empregado no tratamento de humanos (DALECK; DE NARDI, 2016).

De forma geral, os inibidores de tirosina quinase atuam na estabilização da doença retardando sua progressão (HAHN et al., 2008; LONDON et al., 2011), sendo utilizados como terapia de resgate em tumores já tratados por outras modalidades terapêuticas, ou em tumores com estágios clínicos mais avançados que sejam irrecutíveis (HAHN et al., 2008), como forma de aumentar a sobrevida dos pacientes tratados (SMRKOVSKI et al., 2013).

Os principais efeitos colaterais observados com o uso dos inibidores de tirosina quinase como o masitinib e o toceranib envolvem o trato gastrointestinal e incluem diarreia, vômito, anorexia e perda de peso (HOLTERMANN et al., 2015; LONDON et al., 2011). Alterações hematológicas como o desenvolvimento de anemia, neutropenia e trombocitopenia (HOLTERMANN et al., 2015), além de dor e fraqueza musculoesquelética também já foram observados (LONDON et al., 2011).

No Brasil, ainda não há disponível para comercialização nenhum fármaco desta classe, porém, estes podem ser importados por meio da autorização de um fiscal agropecuário federal, junto a prescrição médica veterinária (DALECK; DE NARDI, 2016).

6 RADIOTERAPIA

A radioterapia é uma modalidade terapêutica muito utilizada em seres humanos, assim como nos animais domésticos. A radioterapia baseia-se na utilização do efeito da radiação ionizante, que causará a morte das células neoplásicas ou evitará sua multiplicação, sem que atinja o tecido sadio próximo. Existem duas modalidades na radioterapia, sendo elas: a teleterapia e a braquiterapia. A teleterapia consiste na administração da radiação por meio de um feixe externo, ao passo que na braquiterapia a fonte radioativa é inserida no interior do tumor ou próxima a ele (CUNHA et al., 2014).

A radioterapia tem por objetivo erradicar as células neoplásicas e reduzir o índice mitótico destas. Esta modalidade terapêutica geralmente é utilizada para neoplasias que não tiveram metástases, possibilitando desta forma um alto potencial de cura para neoplasias localizadas. Em casos mais graves pode-se utilizar a radioterapia como tratamento paliativo, pois mesmo que o tumor não seja destruído, este pode diminuir, melhorando assim, a qualidade de vida do animal, uma vez que com a redução do tumor ocorre a diminuição da dor e sangramento, e a diminuição da compressão de órgãos e tecidos próximos. Quando objetiva-se a cura do câncer, a radioterapia é administrada em pequenas frações por duas a cinco semanas, e isto dependerá da localização, do tipo e do tamanho da neoplasia, além do estado geral de saúde do paciente. E quando se tem por objetivo efeitos paliativos, a terapia requer grande

frações de radiação, que são feitas uma vez por semana durante três semanas (BILLER et al., 2016).

Diversas podem ser as aplicações da radioterapia curativa, devido a responsividade de muitas neoplasias a essa terapia, como: os tumores cerebrais, os tumores nasais, os tumores orais e os tumores de membros apendiculares. No tratamento de tumores cerebrais, nasais e faciais a radioterapia é utilizada como tratamento principal. Além disso, pode-se utilizar a radioterapia no pós-operatório para aumentar a margem de segurança nas cirurgias de retirada de sarcoma ou carcinoma, assim como pode ser utilizada como pré-operatório visando a diminuição da massa tumoral para posterior cirurgia. Outra aplicação seria na fase de protocolos de indução no tratamento de linfomas (WITHROW; VAIL; PAGE, 2013).

Dos cânceres tratáveis com radioterapia, os tumores orais caninos, em especial o epúlíde acantomatoso, o carcinoma de células escamosas e o melanoma, possuem uma boa resposta a radiação, assim como o linfoma canino e felino, os sarcomas e carcinomas de cavidade nasal e alguns tumores de pele como o mastocitoma, também possuem boa resposta com esta terapia. Em casos de tumores ósseos, como o osteossarcoma, a radioterapia é utilizada como medida paliativa no protocolo de tratamento (LARUE; CUSTIS, 2014).

Novas tecnologias têm surgido a fim de aumentar a eficácia da radioterapia, como a radioterapia conformacional tridimensional que possibilita que o feixe de radiação seja moldado por toda a extensão do tumor, preservando assim os tecidos saudáveis. A radioterapia com intensidade modulada que possibilita que o feixe de radiação se movimente durante o tratamento, permitindo emissão de feixes de diferentes ângulos e distância numa única sessão. Outra modalidade é a radioterapia estereotáxica que, igual as demais técnicas citadas, possibilita administrar uma alta dose de radiação numa margem estreita de localização, permitindo desta forma, melhores opções de tratamento para diversas neoplasias em diversas localizações (LARUE; CUSTIS, 2014).

7 FOTOTERAPIA

Fototerapia ou terapia fotodinâmica é uma modalidade terapêutica utilizada no tratamento local de tumores por meio da administração de um fármaco fotossensibilizador. Este interagirá com luz e oxigênio molecular (MOORE; FRIMBERGER, 2010), e produzirá espécies reativas de oxigênio capazes de destruir o tecido onde a reação esteja ocorrendo. A luz capaz de ativar cada fármaco apresenta um comprimento de onda específico (DALECK; DE NARDI, 2016), que devem ser inertes até sua ativação (MOORE; FRIMBERGER, 2010).

Idealmente, apenas as células tumorais devem ser afetadas e o tecido saudável preservado (MOORE; FRIMBERGER, 2010). No entanto, a fotossensibilização cutânea prolongada pode requerer que o paciente evite sua exposição à luz (DALECK; DE NARDI, 2016).

Seus efeitos ocorrem principalmente de forma direta sobre as células-alvo secundariamente a citotoxicidade. Porém, os vasos tumorais do tecido também sofrem danos, produzindo hipóxia local, e o sistema imune é ativado contra as células tumorais remanescentes (DALECK; DE NARDI, 2016).

Por se tratar de uma terapia pouco invasiva, é recomendada principalmente para tumores superficiais e pouco metastáticos (MOORE; FRIMBERGER, 2010), como os carcinomas de células escamosas (BEXFIELD et al., 2008; BUCHHOLZ et al., 2007; MCCAWE et al., 2000). No entanto, sua eficácia também tem sido estudada em outros tipos tumorais: em carcinomas com localização intranasal (ISHIGAKI et al., 2018) e em bexiga (LUCROY et al., 2003). Sua associação à imunoterapia parece fornecer resultados positivos quando empregados em neoplasias avançadas e metastáticas, porém, mais estudos são necessários (KLEINOVINK et al., 2016).

Seu uso ainda é relativamente limitado na Medicina Veterinária, uma vez que o valor do equipamento de luz e do fármaco fotoativo são consideravelmente altos, e a padronização dos protocolos de uso ainda está sendo estudada quanto ao fotossensibilizador mais adequado, tempo de exposição e intervalos de aplicação (ISHIGAKI et al., 2018).

8 CIRURGIA

A cirurgia ainda é a modalidade terapêutica com maior chance de oferecer cura a animais portadores de tumores sólidos, principalmente aqueles com doença localizada, onde é possível uma margem cirúrgica ampla, e que não apresentam evidências de metástase (BILLER et al., 2016).

Isto é possível, devido o tratamento cirúrgico não produzir resistência biológica, nem efeitos carcinogênicos. No entanto, seu efeito é apenas no local da intervenção, podendo causar algumas desvantagens ao paciente, já que em algumas situações podem ser necessárias intervenções extensas e até amputações para não favorecer a recorrência neoplásica (DALECK; DE NARDI, 2016).

Tumores anteriormente resseccionados que apresentam recidiva local, geralmente apresentarão maior grau de complicação caso seja necessária sua remoção em um segundo

procedimento cirúrgico, devido ao envolvimento mais extenso dos tecidos saudáveis adjacentes, há distorção anatômica produzida pela primeira intervenção e pelo tecido cicatricial (BILLER et al., 2016; DALECK; DE NARDI, 2016), além de aumentar a possibilidade de disseminações locais e metastáticas (DALECK; DE NARDI, 2016).

Desta forma, o planejamento pré-cirúrgico é fundamental para conferir a melhor abordagem ao paciente, o qual pode ser influenciado pela disponibilidade e possibilidade do uso de tratamentos adjuvantes (DALECK; DE NARDI, 2016).

No entanto, não é apenas com intenção curativa que a cirurgia é aplicada a animais de estimação com câncer. Em algumas situações, a cirurgia pode ter finalidade diagnóstica ou citorrredutora (MOORE; FRIMBERGER, 2010).

A ressecção de metástases tem se tornado uma opção terapêutica para aqueles pacientes submetidos a outras modalidades terapêuticas que não foram eficientes, e que apresentam poucas lesões metastáticas (DALECK; DE NARDI, 2016). Este procedimento pode auxiliar no aumento do tempo de sobrevivência de pacientes caninos com metástases pulmonares (TURNER et al., 2017), e na atenuação de síndromes paraneoplásicas, como a osteopatia hipertrófica (LIPTAK et al., 2004).

9 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A evolução das ciências biomédicas tem facilitado a aplicação de terapias efetivas, menos onerosas e com menores efeitos colaterais aos animais. Muitos avanços tecnológicos serão presenciados no campo da terapêutica oncológica, principalmente em medicina veterinária. Espera-se que as terapias convencionais e as novas metodologias de terapêutica absorvam esses avanços para a aplicabilidade em medicina veterinária, favorecendo a saúde dos animais e sua convivência com seus tutores.

10 REFERÊNCIAS

ANDERSEN, B. M. et al. Vaccination for invasive canine meningioma induces *in situ* production of antibodies capable of antibody-dependent cell mediated cytotoxicity. **Cancer Research**, v. 73, p. 2987-2997, 2013.

AU, J. L. S.; JANG, S. H.; WIENTJES, M. G. Clinical aspects of drug delivery to tumors. **Journal of Controlled Release**, v. 78, p. 81-95, 2002.

BABAEI, M. A. et al. Receptor tyrosine kinase (c-Kit) inhibitors: a potential therapeutic target in cancer cells. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 10, p. 2443–2459, 2016.

BEATTY, P. L.; FINN, O. J. Preventing cancer by targeting abnormally expressed self-antigens: MUC1 vaccines for prevention of epithelial adenocarcinomas. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1284, p. 52-56, 2013.

BERTINO, G. et al. European research on electrochemotherapy in head and neck cancer (EURECA) project: Results of the treatment of skin cancer. **European Journal of Cancer**, v. 63, p. 41-52, 2016.

BEXFIELD, N. H. et al. Photodynamic therapy of superficial nasal planum squamous cell carcinomas in cats: 55 cases. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, p. 1385-1389, 2008.

BILLER, B. et al. 2016 AAHA Oncology Guidelines for Dogs and Cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 52, p. 181-204, 2016.

BIANCHI, G. et al. Electrochemotherapy in the treatment of bone metastases: A phase II trial. **World Journal of Surgery**, v. 40, p. 3088-3094, 2016.

BOSE, R.; CHATTERJEE, S. Comparative study of electrode configurations in different brain tumor geometry for effective electrochemotherapy. In: 3rd **International Conference on Recent Advances in Information Technology (RAIT)**. Dhanbad, 2016.

BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo - Patologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 1524 p.

BUCHHOLZ, J. et al. Photodynamic therapy of feline cutaneous squamous cell carcinoma using a newly developed liposomal photosensitizer: preliminary results concerning drug safety and efficacy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, p. 770-775, 2007.

CHANG, D. C. et al. Overview of electroporation and electrofusion. In: CHANG, D. C.; CHASSY, B. M.; SAUNDERS, J. A.; SOWERS, A. E. **Guide to Electroporation and Electrofusion**. San Diego: Academic Press, 1991. p. 1-6.

CUNHA, S. C. S. et al. A utilização da radioterapia no tratamento do carcinoma de células escamosas cutâneo felino avançado. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 1, p. 7-14, 2014.

DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B. **Oncologia em cães e gatos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016. 766p.

EDHEMOVIC, I. et al. Electrochemotherapy: a new technological approach in treatment of metastases in the liver. **Technology in Cancer Research & Treatment**, v. 10, p. 475-485, 2011.

FINI, M. et al. Electrochemotherapy is effective in the treatment of rat bone metastases. **Clinical & Experimental Metastasis**, v. 30, p. 1033-1045, 2013.

GASPAR, T. B. et al. The use of low-dose metronomic chemotherapy in dogs - insight into a modern cancer field. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 16, p. 2-11, 2018.

GAVAZZA, A. et al. Safety and efficacy of a genetic vaccine targeting telomerase plus chemotherapy for the therapy of canine B-cell lymphoma. **Human Gene Therapy**, v. 24, p. 728-738, 2013.

GROSENBAUGH, D. A. et al. Safety and efficacy of a xenogeneic DNA vaccine encoding for human tyrosinase as adjunctive treatment for oral malignant melanoma in dogs following surgical excision of the primary tumor. **American Journal of Veterinary Research**, v. 72, p. 1631-1638, 2011.

HAHN, K. A. et al. Masitinib is safe and effective for the treatment of canine mast cell tumors. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, p. 1301-1309, 2008.

HOLTERMANN, N. et al. Masitinib monotherapy in canine epitheliotropic lymphoma. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 14, p. 127-135, 2015.

ISHIGAKI, K. et al. Endoscopic photodynamic therapy using talaporfin sodium for recurrent intranasal carcinomas after radiotherapy in three dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 59, p. 128-132, 2018.

KENNEDY, M. A. Brief review of the basics of immunology: the innate and adaptive response. **Veterinary Clinics of North America**, v. 40, p. 369-379, 2010.

KLEINOVINK, J. W. et al. Combination of photodynamic therapy and specific immunotherapy efficiently eradicates established tumors. **Clinical Cancer Research**, v. 22, p. 1459-1468, 2016.

LARUE, S. M.; CUSTIS, J. T. Advances in veterinary radiation therapy: targeting tumors and improving patient comfort. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**, v. 44, n. 5, p. 909-923, 2014.

LIPTAK, J. M. et al. Pulmonary metastatectomy in the management of four dogs with hypertrophic osteopathy. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 2, p. 1-12, 2004.

LONDON, C. et al. Preliminary evidence for biologic activity of toceranib phosphate (Palladia®) in solid tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 10, p. 194-205, 2011.

LOWE, R. et al. The treatment of canine mast cell tumours with electrochemotherapy with or without surgical excision. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 15, p. 775-784, 2016.

LUCROY, M. D. et al. Preclinical evaluation of 5- aminolevulinic acid- based photodynamic therapy for canine transitional cell carcinoma. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 1, p. 76-85, 2003.

MCCAWE, D. L. et al. Treatment of canine oral squamous cell carcinomas with photodynamic therapy. **British Journal of Cancer**, v. 82, p. 1297-1299, 2000.

- MALI, B. et al. Tumor size and effectiveness of electrochemotherapy. **Radiology and Oncology**, v. 47, p. 32-41, 2013.
- MARTY, M. et al. Electrochemotherapy – an easy, highly effective and safe treatment of cutaneous and subcutaneous metastases: results of ESOPE (European Standard Operating procedures of electrochemotherapy) study. **European Journal of Cancer Supplements**, v. 4, p. 3-13, 2006.
- MASSAGUÉ, J. G1 cell-cycle control and cancer. **Nature**, v. 432, p. 298-306, 2004.
- MOORE, A. S.; FRIMBERGER, A. E. **Oncology for veterinary technicians and nurses**. Ames: Wiley-Blackwell, 2010. 328 p.
- MUSSER, M. L. et al. Retrospective evaluation of toceranib phosphate (Palladia®) use in the treatment of inoperable, metastatic, or recurrent canine pheochromocytomas: 5 dogs (2014–2017). **BMC Veterinary Research**, v. 14, p. 1-7, 2018.
- RODASKI, S.; DE NARDI, A. B. **Quimioterapia antineoplásica em cães e gatos**. 3. ed. São Paulo: MedVet Livros, 2008. 305 p.
- SEDLAR, A. et al. Potentiation of electrochemotherapy by intramuscular IL-12 gene electrotransfer in murine sarcoma and carcinoma with different immunogenicity. **Radiology and Oncology**, v. 46, p. 302-311, 2012.
- SILVA, B. V. et al. Proteínas quinases: características estruturais e inibidores químicos. **Química nova**, v. 32, p. 453-462, 2009.
- SILVEIRA, L. M. G. et al. Eletroquimioterapia em adenocarcinoma perianal canino. **Journal of the Health Sciences Institute**, v. 29, p. 136-138, 2011.
- SILVEIRA, L. M. G. et al. Utilização de eletroquimioterapia para carcinoma de células escamosas tegumentar em felino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, p. 297-302, 2016.
- SMRKOVSKI, O. A. et al. Masitinib mesylate for metastatic and non-resectable canine cutaneous mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 13, p. 314-321, 2013.
- SPUGNINI, E. P.; BALDI, A. Eletrochemotherapy in veterinary oncology: From rescue to first line therapy. **Methods in Molecular Biology**, v. 1121, p. 247-256, 2014.
- SPUGNINI, E. P. et al. Preclinical models in electrochemotherapy: the role of veterinary patients. **Future Oncology**, v. 8, p. 829-837, 2012.
- SUZUKI, D. O. H. et al. Oral mucosa model for electrochemotherapy treatment of dog mouth cancer: *ex Vivo*, *in silico*, and *in vivo* experiments. **Artificial Organs**, v. 42, p. 297-304, 2017.
- TEISSIE, J.; TSONG, T. Y. Electric field induced transient pores in phospholipid bilayer vesicles. **Biochemistry**, v. 20, p. 1548-1554, 1981.

TOZON, N. et al. Operating procedures of the electrochemotherapy for treatment of tumor in dogs and cats. **Journal of Visualized Experiments**, v. 116, p. 1-7, 2016.

TURNER, H. et al. Prognosis for dogs with stage III osteosarcoma following treatment with amputation and chemotherapy with and without metastasectomy. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 251, p. 1293-1305, 2017.

WITHROW, S. J.; VAIL, D. M.; PAGE, R. **Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology**. 5. ed. Saunders: Elsevier, 2013. 763 p.

A graphic element consisting of a light green shield-like shape with a dark green border. Inside the shield, the word "Capítulo" is written in a bold, black, sans-serif font, and the number "16" is written below it in a larger, bold, black, sans-serif font.

Abordagem nutricional terapêutica em cães e gatos com doença cardíaca

Hévila Dutra Barbosa de Cerqueira¹
Caroline Sant'Anna Feitosa²
Franciely Motta Oliveira³
Marieta Cristina Couto Kuster⁴
Márcia de Souza Xavier⁵
Leonardo Oliveira Trivilin⁶
Karina Preising Aptekmann⁷

¹ Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: hevila.veterinaria@hotmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: caroline.mvet@gmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: francielymota94@gmail.com

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: marieta.kuster@hotmail.com

⁵ Universidade Federal Fluminense, e-mail: marciasouzaxavier@gmail.com

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: leotrivilin@gmail.com

⁷ Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: kapreising@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

As cardiopatias formam um conjunto heterogêneo de alterações significativas, são definidas pelo acometimento funcional e estrutural do coração (FRENCH, 2008). Dentre as doenças cardíacas mais comumente descritas e diagnosticadas estão a doença valvular crônica, cardiomiopatia dilatada e cardiomiopatia hipertrófica felina. Além dessas, há uma série de outras afecções acometendo diversas estruturas cardíacas (TORIN; FREEMAN; RUSH, 2007).

A nutrição pode desempenhar um papel importante nos pacientes cardiopatas. Os cães que apresentam doença cardíaca comumente apresentam alterações nutricionais, sendo algumas vezes pré-existentes, ou podem ser secundárias a doença cardíaca ou ao próprio tratamento (FREEMAN et al., 2002).

A suplementação de determinados nutrientes para corrigir deficiências ou proporcionar efeitos farmacológicos pode trazer amplos benefícios nos pacientes com cardiopatia. Os nutracêuticos se tornam importantes pelo fato de serem capazes de modular a doença cardíaca

por meio da diminuição da progressão e minimizar a quantidade de fármacos empregados, propiciando melhor qualidade de vida, e em alguns casos raros a cura da doença (FREEMAN, 2009).

Deste modo, é necessário que o médico veterinário conheça opções nutricionais que contribuem para uma melhor condição clínica dos animais cardiopatas. Esta revisão de literatura descreve a suplementação nutricional terapêutica em cães e gatos visando auxiliar na busca pela redução da morbidade e mortalidade nesses pacientes.

2 SUPLEMENTAÇÃO TERAPÊUTICA: CONCEITOS E FINALIDADES

Os nutracêuticos, também conhecidos como suplementos dietéticos, fornecem de forma concentrada um agente bioativo (presente na matriz alimentar) nas doses que ultrapassam as obtidas nos alimentos, sendo utilizados para favorecer a saúde (NETO; D'ANGELIS; DI STASI, 2012). O manejo nutricional está relacionado aos efeitos benéficos e à prevenção de diversas doenças. Os nutracêuticos são utilizados especialmente no cuidado com a saúde (FRANÇA et al., 2011), pois são úteis para manter a boa condição corporal ou para corrigir deficiências nutricionais. Podem ser utilizados para efeito “farmacológico” em pacientes cardiopatas com potenciais benefícios (FREEMAN, 2013).

A classificação dos nutracêuticos se divide em: ácidos graxos polinsaturados, fibras dietéticas, aminoácidos ou cetoácidos, peptídeos, proteínas, antioxidantes, vitaminas e minerais (ANDLAUER; FÜRST, 2002). Estes nutracêuticos estão disponíveis em diferentes apresentações para o consumo, em forma de tabletes, gel, cápsula de gel, pó e líquido (NOONAN; NOONAN, 2004).

2.1 DOENÇAS CARDÍACAS EM CÃES E GATOS

A insuficiência cardíaca congestiva (ICC) é uma síndrome clínica a qual pode ser provocada por qualquer doença cardíaca, congênita ou adquirida, sendo definida como a incapacidade cardiovascular de manter circulação normal de sangue, onde o volume bombeado se torna insuficiente, alterando o débito cardíaco (ATKINS et al., 2009; WARE, 2015). Dentre as principais doenças cardíacas adquiridas se destacam nos cães a doença valvular crônica e cardiomiopatia dilatada e nos felinos, a cardiopatia hipertrófica (RUSH, 2002; PAIGE et al., 2009).

A doença valvular crônica (DVC) é uma degeneração que ocorre em válvulas cardíacas, com consequente espessamento nodular, enfraquecimento e deformação da valva e das cordas tendíneas. Pode comprometer o funcionamento individual ou de várias estruturas valvulares, como as valvas mitral e tricúspide ou válvulas aórtica e pulmonar. A mais comum entre os cães é a degeneração na válvula mitral, correspondendo a cerca de 60% dos casos. Afeta comumente os animais de pequeno e médio porte, sendo as raças mais predispostas Cavalier King Charles Spaniel e Dachshund. Nos cães de raças grandes, como Pastor Alemão e Doberman Pinscher, pode incidir a doença, porém, a cardiomiopatia dilatada (CMD) tem ocorrência mais frequente nessas raças (RUSH, 2002).

A prevalência da DVC aumenta com a idade em cães de raças pequenas em até 85% segundo evidências achadas como lesão na necropsia em animais com idade acima de 13 anos. Porém, a presença de lesão patológica não está associada obrigatoriamente com o desenvolvimento de sinais clínicos de ICC. Assim sendo, como as causas subjacentes da doença, os fatores determinantes da progressão da doença ainda são desconhecidos, apesar da idade, dimensão do átrio esquerdo e a frequência cardíaca já demonstrarem antecipar os resultados da IC (BORGARELLI et al., 2008).

A CMD é uma disfunção do miocárdio, que evidencia aumento cardíaco e enfraquecimento das paredes ventriculares. A origem da doença é desconhecida, mas a deficiência nutricional de taurina é um fator de risco conhecido em cães (FASCETTI et al., 2003). As raças de maior ocorrência entre os cães de grande porte e gigantes incluem Dogue Alemão, Doberman Pinscher, São Bernardo, Boxer, Terranova e Dálmata, e as raças de médio porte, Cocker Spaniel e o Buldogue são as mais frequentemente acometidas. Os cães da raça Boxer tem maior prevalência da cardiomiopatia arritmogênica do ventrículo direito (WARE, 2015). Qualquer idade pode ser acometida, porém a faixa etária de maior acometimento é em média de quatro a oito anos (SISSON et al., 2004).

A cardiomiopatia hipertrófica (CH) é caracterizada por um espessamento (hipertrofia) de uma ou mais paredes cardíacas, comumente o ventrículo esquerdo. É causada por anormalidades genéticas ligadas as proteínas do músculo cardíaco (MADRON, 2014). É a apresentação mais comum de cardiopatia vista em gatos e representa 57,5% das miocardiopatias idiopáticas de felinos, seguidas pela cardiomiopatia restritiva com 20,7%, cardiomiopatia dilatada 10,4% e cardiomiopatia não classificada 10,4% (FERASIN et al., 2003). Na população felina a doença tem papel importante na morbidade e mortalidade. É associada ao desenvolvimento de ICC, tromboembolismo e morte súbita (SAMPEDRANO et al., 2009).

O *American College of Veterinary Internal Medicine* (ACVIM) recomenda a avaliação individual na prescrição de fármacos e estratégias terapêuticas (ATKINS et al., 2009). Saber empregar a classificação da ICC para estabelecer o manejo nutricional é importante, porque as indicações nutricionais podem variar de acordo com o estágio clínico da doença, necessitando ser considerada no momento do plano nutricional (QUADRO 1) (KROLL et al., 2010).

Quadro 1- Classificação da ICC em cães e gatos.

✓ Estágio A - pacientes com alto risco de desenvolver cardiopatia, mas que atualmente não têm desordem estrutural identificável no coração (por exemplo, todos os Cavalier King Charles Spaniel, que não apresentam sopro cardíaco).
✓ Estágio B - pacientes com doença cardíaca estrutural (por exemplo, murmúrio típico da regurgitação mitral), mas que nunca desenvolveram sinais clínicos provocados por insuficiência cardíaca.
✓ Estágio B1 - pacientes assintomáticos que não possuem nenhuma evidência radiográfica ou ecocardiográfica de remodelação cardíaca em resposta a DVC.
✓ Estágio B2 - pacientes assintomáticos que possuem regurgitação significativa possuem evidência radiográfica ou ecocardiográfica, como aumento cardíaco esquerdo.
✓ Estágio C - pacientes com históricos anteriores ou atuais de sinais clínicos de insuficiência cardíaca, associada à insuficiência estrutural da doença.
✓ Estágio D - pacientes com doença em fase terminal com sinais clínicos de insuficiência cardíaca, causadas por DVC que são refratárias à “terapia padrão”.

Fonte: Adaptado de Atkins et al. (2009).

2.2 SUPLEMENTAÇÃO TERAPÊUTICA EM PACIENTES CARDIOPATAS

Para retardar a progressão da doença cardíaca e melhorar a qualidade de vida desses pacientes tem sido proposto um grande número de modificações nutricionais, como restrição ao sódio, suplementação calórica e outros elementos nutricionais como taurina, L-carnitina, coenzima Q10 e ácidos graxos ômega 3 (FREEMAN et al., 2003). Deve-se corrigir os déficits na dieta que levam à doença, e estabelecer propriedades cardioprotetoras ativas que reduzem a gravidade da doença nos pacientes já acometidos (DOVE, 2001).

A abordagem deve ser individualizada, no entanto, existem cinco metas a serem seguidas: (1) manter a condição corporal ideal, (2) evitar deficiências nutricionais, (3) evitar excessos nutricionais, (4) evitar interações de nutrientes e fármacos, (5) considerar os benefícios da farmacologia nutricional (FREEMAN, 2013).

Esses nutracêuticos podem ser distribuídos sem comprovação de segurança, eficácia ou mesmo qualidade e esses critérios necessitam ser entendidos tanto pelos clínicos quanto pelos tutores. Dessa forma, analisar cuidadosamente qual o tipo de suplemento, a dose e a marca, são

vitais para evitar a toxicidade ou ineficácia do produto. Deve haver cautela na prescrição uma vez que, os pacientes já recebem uma variedade de fármacos, com isso o tutor deve estar ciente que os medicamentos são prioridade em relação aos suplementos, e/ou nas situações em que administração é dificultada pelo animal ou pelo próprio tutor. Sempre considerar as interações medicamentosas, principalmente nos animais com sinais de ICC. O médico veterinário precisa auxiliar o tutor a determinar qual suplemento possui mais benefícios em relação aos riscos ou efeitos adversos e quando descontinuar a administração (FREEMAN, 2013).

Dentre os principais nutracêuticos utilizados no tratamento das doenças cardíacas, estão a coenzima Q10, vitaminas, ácido graxo ômega-3, taurina e L-carnitina. Em estudo realizado com cães cardiopatas, 31% estavam recebendo algum tipo de suplementação nutricional. Porém, há pouca informação disponível sobre o uso desses suplementos (FREEMAN et al., 2003).

2.2.1 Ômega-3

Os ácidos graxos compõem as membranas auxiliando nas atividades, ocorre interação entre a membrana celular e as proteínas de membrana contribuindo para a função de receptores, transdução de sinal, atividades enzimáticas e excitabilidade de membrana (CHAGAN et al., 2002).

Compreendido na família do ômega-3 (ω -3), o primeiro ácido graxo da cadeia é o alfa-linolênico. A molécula apresenta 18 átomos de carbono e três duplas ligações, a primeira dupla ligação é no terceiro carbono (C 18:3 v3). Os animais aumentam a estrutura química da molécula pela ação das enzimas desaturase e elongase, sintetizando ácido eicosapentaenoico (EPA) (C 20:5 v3) e ácido docosaexaenoico (DHA) (C 22:6 v3). No cão e no gato a conversão é limitada, havendo necessidade de suplementar EPA e DHA na dieta (BAUER, 2011). As principais fontes de ω -3 são óleos de linhaça, canola e peixe (CALDER, 2003).

Semente ou óleo de linhaça contém apenas ácido alfa-linolênico. Apesar de apresentarem funções orgânicas, estas não estão relacionadas com imunomodulação e produção de eicosanoides, esses aspectos são restritos somente ao EPA e DHA (ZAINE; MONTI; VASCONCELOS, 2014).

Quando chega ao organismo, o ácido linoleico (AL) é transformado em ácido araquidônico (AA), ao mesmo tempo que o ácido α -linolênico (ALA) se transforma em EPA e DHA. No fígado são sintetizados os AA e o DHA a partir da desnaturação dos ácidos graxos insaturados ômega 3 da alimentação (NETO; D'ANGELIS; DI STASI, 2012).

O ácido graxo ômega-3 EPA e DHA geralmente se encontram em baixas concentrações na membrana celular, porém podem-se aumentar essas concentrações por meio do alimento ou suplemento. Comparando cães hígidos e os com ICC foi demonstrado que, os pacientes com ICC têm menores concentrações de EPA e DHA, logo, a suplementação pode normalizar estas concentrações no plasma. Os eicosanoides derivados do ômega-3 são mediadores inflamatórios menos potentes do que o ômega-6, além disso, o ômega-3 pode diminuir a produção de Fator de Necrose Tumoral (TNF) e Interleucina 1 (IL-1) (FREEMAN, 2013).

O DHA é um importante inibidor competitivo da cicloxigenase (enzima responsável pela transformação do AA em prostaglandina, principalmente da série 2) acarretando efeitos protetores nas doenças cardiovasculares. Pelo mesmo mecanismo de inibição reduz a produção de tromboxanos, auxiliando na obtenção dos efeitos antitrombóticos (NETO; D'ANGELIS; DI STASI, 2012).

Os efeitos antiarrítmicos dos ácidos graxos ômega-3 DHA e EPA são conferidos a sua propensão em alterar a eletrofisiologia dos cardiomiócitos. As atividades elétricas das células cardíacas podem ser estabilizadas por meio das ligações na membrana celular, através das proteínas dos canais de sódio, as quais precisam de carga elétrica maior para iniciar um potencial de ação. Mantendo os canais inativos em um período de tempo maior (DOVE, 2001). A melhora na condução elétrica tem como uma das hipóteses, diminuição do tecido fibrótico, reduzindo as taquiarritmias (BENOVA et al., 2016).

Nos cardiopatas auxilia elevando a energia do metabolismo no miocárdio, pode auxiliar na terapia das diferentes arritmias, como as fibrilações atriais e ventriculares (FREEMAN, 2010; SMITH et al., 2007). Leaf e colaboradores (2005) observaram em cães que a administração de óleo de peixe previne a fibrilação ventricular após a ocorrência de oclusão de uma artéria coronária. Sarrazin e seus colaboradores (2007) suplementaram cães com óleo de peixe por quatorze dias e observaram redução de 70 a 80% no risco de fibrilação atrial, quando comparado com outros animais que não receberam a mesma suplementação (DA CUNHA et al., 2007). Smith et al. (2007) sugeriram que a suplementação com óleo de peixe reduz significativamente o número de VPCs em cães da raça Boxer com cardiomiopatia arritmogênica do ventrículo direito .

A dose ideal ainda não foi determinada, porém, os autores recomendam uma dose de 40 mg/kg/dia de EPA e 25 mg/kg/dia de DHA para qualquer grau de caquexia em cães e gatos (FREEMAN; RUSH, 2006; FREEMAN, 2010). A dose para felinos é empírica, pode ser baseada nas doses utilizadas na medicina, sendo EPA 17-25 mg/kg/dia e DHA 8-18mg/kg/dia (TREPANIER, 2009).

No consenso realizado pelo ACVIM não houve definição sobre suplementação com ácidos graxos ômega 3 para o estágio C da doença (Quadro 1). Porém, consideram a suplementação especialmente importante em cães com perda de massa muscular, hiporexia ou arritmias (ATKINS et al., 2009).

Os efeitos adversos podem incluir alterações em diversos sistemas incluindo gastrointestinais (vômito, diarreia, anorexia, entre outras), alterações plaquetárias (redução da agregação plaquetária em gatos, em pacientes com doenças a trombocitopenia pode agravar o quadro), alteração no tempo de cicatrização de feridas, ganho de peso, peroxidação dos lipídios, alteração imunológica e pode ocorrer interação nutriente-droga (LENOX; BAUER, 2013). Em gatos os sinais de intoxicação são mais comuns que nos cães devido à dieta baseada em peixes, alguns animais apresentam anorexia, cegueira, ataxia e convulsão (PETERSON; TALCOTT 2006).

2.2.2 Taurina

Este suplemento é formado por um aminoácido sulfurado (ácido beta-amino sulfonado) o qual não se associa a outros aminoácidos, ficando na sua forma livre, para formação de proteínas. Grande parte dos onívoros e herbívoros sintetizam toda a taurina dos aminoácidos sulfurados provindos da dieta (metionina e cisteína). Nos carnívoros, a ingestão de taurina é vital para a manutenção das concentrações desse aminoácido, essencial no organismo. Os músculos, vísceras e cérebro contêm concentrações altas de taurina, já as plantas não possuem taurina mensurável (BOUCKENOOGHE; REMACLE; REUSENS, 2006).

Como no tecido muscular há concentrações elevadas de taurina, a dieta dos carnívoros necessita possuir grande quantidade desse aminoácido. Porém, com a evolução e domesticação dos felinos, a dieta foi modificada, e isso aumenta as chances desses animais se tornarem deficientes (SPITZE et al., 2003).

No final dos anos de 1980, ocorreu uma redução nos casos de CMD em felinos, após relatos de deficiência de taurina e a doença serem associados, aumentando a suplementação dietética desse aminoácido. Hoje a maioria dos casos de CMD em felinos não ocorre devido à deficiência de taurina, porém, a deficiência de taurina deve ser sempre suspeitada em casos dessa doença. Felinos que estão em risco de ter deficiência de taurina são aqueles com má alimentação, alimentos caseiros não balanceados, vegetarianos ou qualquer outra maneira desequilibrada da dieta. Em pacientes com a deficiência comprovada em que a CMD foi

induzida pela falta do suplemento, pode haver reversão da doença, se a condição for inicial, corrigindo-se o déficit (FREEMAN, 2013).

Como a taurina restitui o aporte nutricional às células cardíacas, presume que esse suplemento é essencial para qualquer estratégia terapêutica, favorecendo os animais com ICC. Em cães com CMD ainda não está elucidado a função da taurina, no entanto, alguns benefícios potenciais podem ser devido aos seus efeitos inotrópicos positivos e o seu papel na regulação do cálcio no miocárdio (XU et al., 2008).

A suplementação com taurina, juntamente com a L-carnitina tem sido recomendada para corrigir déficits ou prover efeitos farmacológicos, exercendo importante papel na função cardíaca. A combinação desses dois suplementos mostrou maior efeito na expectativa de vida e melhora nas taxas de mortalidade em animais com ICC (BRAGG et al., 2009; DOVE, 2001). Os cães e gatos com insuficiência miocárdica podem ser favorecidos com a suplementação de taurina adicionada a dieta. Pacientes com deficiência de taurina comprovada têm maiores chances de recuperação quando recebem esse aminoácido (HAND; THATCHER; REMILLARD, 2000).

No organismo há uma variação nas taxas de depleção da taurina, a concentração no sangue e as manifestações clínicas são importantes para concluir o diagnóstico de déficit. Como as concentrações são inconstantes para uma avaliação segura, é necessário realizar exames seriados no plasma e sangue total, para obtenção de resultados fidedignos. Sugere-se que a interpretação das concentrações de taurina no plasma e no sangue total seja o melhor método clínico para avaliá-lá nos gatos. Até as concentrações normalizarem, os gatos devem ser considerados em risco de doenças relacionadas (como degeneração de retina, falhas reprodutivas, cardiomiopatia dilatada, etc.) com deficiência de taurina (PACIORETTY et al., 2001).

Amostras de sangue para análise clínica de taurina em cães são realizadas normalmente no período pós-prandial em quatro a seis horas. Alguns levantamentos indicam que a taurina no plasma pode modificar durante o jejum alimentar (TORRES et al., 2003). Para mensurar a taurina em sangue de cães, com o intuito de avaliação. Foi demonstrado que em pacientes hígidos amostras de sangue total podem ser analisadas a qualquer momento em até 48 horas pós-prandial (GRAY et al., 2016).

Os cães conseguem sintetizar adequadas quantidades de taurina, por esse motivo não há a mesma exigência que os felinos. Na maioria dos pacientes caninos com CMD não é observado à deficiência de taurina, mas baixas concentrações foram encontradas em algumas raças, especificamente o Cocker Spaniel Americano, Golden Retriever, Labrador Retriever, São

Bernardo, Terra Nova, Cão D'água Português e Bulldog Inglês. Relaciona-se esse déficit de taurina em cães a fatores dietéticos, pois os cães que ingerem muitas fibras ou determinadas dietas à base de farinha de cordeiro e arroz pode ocasionar diminuição de proteínas e redução de taurina na dieta em longo prazo. Essa deficiência também pode resultar da perda fecal ou outras insuficiências metabólicas presentes em algumas raças (FREEMAN, 2013).

A dose ainda não está totalmente definida, contudo, a recomendação para corrigir a deficiência pode ser administrada em frequência e quantidade diferente dependendo do autor consultado. A dose recomendada para cães é 500 a 1000 mg/animal a cada 8 ou 12 horas (FREEMAN; RUSH, 2006) ou a cada 24 horas (HAND; THATCHER; REMILLARD, 2000). Para gatos pode-se administrar 250 a 500 mg/animal a cada 24 horas (HAND; THATCHER; REMILLARD, 2000).

2.2.3 L-carnitina

A L-carnitina exerce uma função importante no equilíbrio energético por meio das membranas celulares e no metabolismo de energia dos tecidos, os quais tem a oxidação dos ácidos graxos como fonte de energia, como os músculos esquelético e cardíaco (FLANAGAN et al., 2010). A L-carnitina é responsável pelo transporte de ácidos graxos para dentro da mitocôndria na célula muscular e quando ocorre o déficit há uma deficiência energética, consequentemente disfunção do músculo cardíaco e acúmulo de lipídeos intracelulares (SISSON et al., 2004), incluindo os cães da raça Boxer.

Os déficits de L-carnitina têm-se relacionado com o desenvolvimento da CMD nas diversas raças caninas (FLANAGAN et al., 2010). A cardiomiopatia dilatada idiopática é caracterizada por dilatação ventricular esquerda e disfunção sistólica, em muitas raças essa afecção pode ter correlação direta com as deficiências de L-carnitina (ALROY et al., 2000). A ICC também parece estar associada secundariamente a esta deficiência, a suplementação pode ser benéfica, favorecendo o metabolismo de energia no miocárdio nos casos de ICC (FREEMAN, 2013).

Determinadas populações de cães com CMD ou gatos com CMH parecem ser mais predispostos à deficiência de taurina e carnitina e é possível que a constância de administração da taurina e carnitina sejam maiores nesses animais (TORIN; FREEMAN; RUSH, 2007).

Em cães, gatos e pessoas hígdas, a síntese de L-carnitina ocorre em quantidade suficiente. Porém, em algumas condições a suplementação é benéfica como na doença renal,

hepática, cardíaca, gastroenterite crônica, obesidade e atividade física extenuante, porque essas condições afetam a síntese do nutriente (DOVE, 2001).

Ainda não há dose exata para deficiência de L-carnitina nos cães e gatos, porém, recomenda-se dose de 50 a 100 mg/kg a cada oito horas por via oral (FREEMAN; RUSH, 2006).

Propõe-se que os benefícios são devidos a restauração das reservas de energia do miocárdio e da regularização no metabolismo oxidativo celular (FLANAGAN et al.; 2010). A possível suplementação de taurina e L-carnitina em pacientes com doença cardíaca ou até mesmo outras situações médicas ainda não são totalmente conhecidas. Portanto, quando estes são administrados, é necessário que se utilize produtos de qualidade para que os benefícios sejam alcançados e os riscos de efeitos tóxicos reduzidos (BRAGG et al., 2009).

2.2.4 Coenzima Q-10

A coenzima Q10 é uma benzoquinina lipossolúvel essencial para diversas atividades relacionada ao metabolismo energético. Está presente na membrana mitocondrial interna, e participa da síntese de adenosina trifosfato (ATP), dos processos celulares, transporte de elétrons, fosforilação e respiração oxidativa e ainda tem papel antioxidante (BONAKDAR; GUARNERI, 2005; TIANO et al., 2007). A coenzima Q10 é uma vitamina do tipo quinona solúvel em gordura. Também conhecida como ubiquinona. Algumas fontes são os óleos de soja, peixe, amendoim, sardinhas e cavala (KUMAR et al., 2009).

A coenzima Q10 é utilizada na terapia de doenças cardíacas ou ICC, como na doença cardíaca isquêmica, CMH, hipertensão, arritmias (KUMAR et al., 2009), e também em doenças imunológicas, oncológicas e neurológicas, por causarem um aumento na demanda energética do organismo (BONAKDAR; GUARNERI, 2005; TIANO et al., 2007).

A Coenzima Q10 desempenha ação a nível celular e corrige algumas deficiências que levam o agravamento das doenças cardíacas, tais como a correção no consumo de energia e o estresse oxidante que são fundamentais nestas condições. É importante em todos os processos dependentes de energia no coração, como a contração do miocárdio e o funcionamento dos canais de membrana que são regulados pelo ATP. O coração é metabolicamente ativo e possui inúmeras mitocôndrias e a coenzima Q10 é encontrada nas membranas de várias organelas como retículo endoplasmático, lisossomos, peroxissomos e vesículas. A sua função primária é a produção de energia, estando a maior concentração na mitocôndria. Atua na estabilização da

membrana, preserva a atividade da bomba sódio potássio ATPase e também estabiliza os canais iônicos dependente de cálcio no miocárdio (KUMAR et al., 2009).

O relaxamento do miocárdio depende da captação ativa do Ca^{2+} pelo retículo sarcoplasmático e não é um processo passivo, requerendo mais energia. Na ICC, alterações no transporte e metabolismo de Ca^{2+} são encontradas (MARIN-GARCIA; GOLDENTHAL; MOE, 2001). Os efeitos benéficos cardiovasculares da Coenzima Q10 podem ser conferidos à sua capacidade de antagonizar oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) no plasma, melhorando a função endotelial (BELARDINELLI et al., 2006).

Na medicina, há evidência experimental do efeito benéfico da coenzima Q10 em arritmias cardíacas. Este efeito pode se dá com a melhora da função da membrana celular, produção energética e redução isquêmica miocárdica que podem levar a arritmias. Na ICC ocorre sobrecarga de Ca^{2+} devido à redução da captação pelo retículo sarcoplasmático associado a um consumo energético na diástole. Com isso resulta em um aumento na atividade de troca $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. O efluxo de cálcio está associado com o influxo de sódio que pode prolongar a despolarização (SCHILLINGER et al., 2003).

Este suplemento afeta de forma favorável o funcionamento cardíaco na ICC, melhorando a atuação bioenergética na mitocôndria, mostrando ação hipotensora nos miócitos combatendo o estresse oxidativo. Nos pacientes com ICC a concentração da coenzima Q10 está menor e quanto maior o déficit, maior a gravidade da insuficiência cardiocirculatória (BELARDINELLI et al., 2006; TIANO et al., 2007).

No tratamento da cardiopatia a utilidade da Coenzima Q10 pode se relacionar com a sua capacidade de aumentar a síntese de ATP com maior contratilidade miocárdica. É importante para preservar a fosforilação oxidativa e redução dos prejuízos no miocárdio durante as condições de estresse metabólico (CRANE, 2001). Este efeito protetor contra a isquemia do miocárdio torna-se importante na prevenção dos infartos do miocárdio, protegendo especialmente os cães da necrose provocada pelo infarto, pois previne a depleção de ATP nos cardiomiócitos (NETO; D'ANGELIS; DI STASI, 2012).

As doses recomendadas são muito variáveis na literatura, para cães de pequeno porte 30 mg/kg a cada 12 horas e cães de grande porte 90 mg/kg a cada 12 horas por via oral (FREEMAN; RUSH, 2006).

2.2.5 Vitamina E

O uso terapêutico da vitamina E, cuja a forma biologicamente ativa é o alfa- tocoferol, tem evidências clínicas suficientes para sua administração em pacientes com diagnóstico ou os que pertencem a um grupo de risco para manifestar a doença cardíaca. Mesmo que seu mecanismo cardioprotetor não esteja totalmente esclarecido, essa suplementação demonstra benefícios nos pacientes com comprometimento cardiovascular (DOVE, 2001). É um importante constituinte da membrana do músculo cardíaco, mostrando benefícios na lesão oxidativa cardíaca induzida experimentalmente (NETO; D'ANGELIS; DI STASI, 2012).

Independentemente do que provocou a IC, observa-se elevação nos biomarcadores de estresse oxidativo e diminuição dos agentes antioxidantes, especialmente a vitamina E. As alterações que acontecem nessa doença implicam em desequilíbrio entre a conservação antioxidante e o estresse oxidativo nesses pacientes. Atua na propagação e terminação da oxidação dos lipídios, sequestrando molécula de oxigênio e/ou reagindo com os radicais livres (FREEMAN; RUSH, 2006).

A dose recomendada é de 200 a 500 unidades internacionais (UI) a cada 24 horas, por via oral (DOVE, 2001). A toxicidade da vitamina E ainda não é totalmente esclarecida em cães, no entanto, é conhecido que elevadas concentrações prejudicam a absorção de vitaminas A e K e os relatos com dosagens altas em cães não demonstraram efeitos tóxicos (DEVARAJ et al., 2007). Efeitos indesejáveis pelo excesso da ingestão por via oral não têm sido observados, possivelmente porque quantidades excessivas na dieta são eliminadas nas fezes (NETO; D'ANGELIS; DI STASI, 2012).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As doenças que acometem o coração são de fisiopatogenia variada, e podem evoluir para ICC, agravando o curso clínico e contribuindo para um prognóstico reservado. É importante ressaltar que os suplementos são importantes nos protocolos de tratamento e estudos realizados na administração dos mesmos têm mostrado efeitos benéficos, porém, não substituem as drogas farmacológicas instituídas e a sua recomendação deve ser individual, avaliando clinicamente o paciente visando à adequação terapêutica.

As pesquisas com os nutracêuticos vêm ganhando espaço e demonstrando a sua eficácia nas doenças cardíacas, ainda que alguns mecanismos de atuação ainda não estejam completamente elucidados, já se sabe dos benefícios nos animais. Objetiva-se com a

suplementação proporcionar um melhor bem-estar, retardar a progressão, reduzir a morbidade e a mortalidade, contribuindo para a longevidade do paciente.

4 REFERÊNCIAS

ALROY, J. et al. Inherited infantile dilated cardiomyopathy in dogs: genetic, clinical, biochemical, and morphologic findings. **American Journal of Medical Genetics**, v. 95, n. 1, p. 57–66, 2000.

ANDLAUER, W.; FÜRST, P. Nutraceuticals: A piece of history, present status and outlook. **Food Research International**, v. 35, n. 2–3, p. 171–176, 2002.

ATKINS, C. et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 6, p. 1142–1150, 2009.

BAUER, J. E. Timely topics in nutrition therapeutic use of fish oils. **Veterinary Medicine Today**, v. 239, n. 11, p. 1441–1451, 2011.

BELARDINELLI, R. et al. Coenzyme Q10 and exercise training in chronic heart failure. **European Heart Journal**, v. 27, n. 22, p. 2675–2681, 2006.

BENOVA, T. E. et al. Protection of cardiac cell-to-cell coupling attenuate myocardial remodeling and proarrhythmia induced by hypertension. **Physiological research**, v. 65, p. S29-42, 2016.

BONAKDAR, R. A.; GUARNERI, E. Coenzyme Q10. **American Family Physician**, v. 72, n. 6, p. 1065–1070, 2005.

BORGARELLI, M. et al. Survival characteristics and prognostic variables of dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease. **Journal Veterinary Internacional Medicine**, v. 22, p. 120–128, 2008.

BOUCKENOOGHE, T.; REMACLE, C.; REUSENS, B. Is taurine a functional nutrient current opinion in clinical nutrition and metabolic care. **Journal Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 9, n. 6, p. 728–733, 2006.

BRAGG, R. R. et al. Composition, disintegrative properties, and labeling compliance of commercially available taurine and carnitine dietary products. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 234, n. 2, p. 209–213, 2009.

CALDER, P. C. Long-chain n-3 fatty acids and inflammation: potential application in surgical and trauma patients. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, n. 4, p. 433-446, 2003.

CHAGAN, L. et al. Use of Alternative pharmacotherapy in management of cardiovascular diseases. **American Journal of Managed Care**, v. 8, n. 3, p. 270-285, 2002.

- CRANE, F. L. Biochemical functions of coenzyme Q10. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 20, n. 6, p. 591–598, 2001.
- DA CUNHA, D. N. et al. N-3 (Omega-3) polyunsaturated fatty acids prevent acute atrial electrophysiological remodeling. **British Journal of Pharmacology**, v. 150, n. 3, p. 281–285, 2007.
- DEVARAJ, S. et al. Effect of high-dose α -tocopherol supplementation on biomarkers of oxidative stress and inflammation and carotid atherosclerosis in patients with coronary artery disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 86, n. 5, p. 1392-1398, 2007.
- DOVE, R. Nutritional therapy in the treatment of heart disease in dogs. **Alternative Medicine Review**, v. 6, p. 38 - 45, 2001.
- FASCETTI, A. J. et al. Taurine deficiency in dogs with dilated cardiomyopathy: 12 cases (1997-2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 223, n. 8, p. 1137–1141, 2003.
- FERASIN, L. et al. Feline idiopathic cardiomyopathy: A retrospective study of 106 cats (1994-2001). **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 5, n. 3, p. 151–159, 2003.
- FLANAGAN, J. L. et al. Role of carnitine in diseases. **Nutrition & Metabolism**, v. 7, n. 30, p. 1-14, 2010.
- FRANÇA, J. et al. Avaliação de ingredientes convencionais e alternativos em rações de cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 222–231, 2011.
- FREEMAN, L. M. Beneficial effects of omega-3 fatty acids in cardiovascular disease. **Journal of Small Animal Practice**, v. 51, n. 9, p. 462–470, 2010.
- FREEMAN, L. M. Cardiac supplements: critical evaluation of efficacy. **Forum American College of Veterinary Internal Medicine**, Washington USA, p. 132, 2013.
- FREEMAN, L. M. Nutritional management of heart disease. In: BONAGURA, J. D.; TWEDT, D. C. **Kirk's Current Veterinary Therapy XIV**, 14. ed. St. Louis: Saunders, 2009. p. 704-708.
- FREEMAN, L. M.; RUSH, J. E. Cardiovascular diseases: nutritional modulation. In: **Encyclopedia of canine clinical nutrition**. Paris: Aniwa SAS, 2006. p. 335-367.
- FREEMAN, L. M. et al. Evaluation of dietary patterns in dogs with cardiac disease. **Journal American Veterinary Medicine Association**, n. 9, v. 223, p. 1301–1305, 2003.
- FREEMAN, L. M. et al. Dietary patterns of dogs with cardiac disease. **The Journal of Nutrition**, v. 132, n. 6, p. 1632S–1633S, 2002.
- FRENCH, A. Feline cardiomyopathy- an update. In: Proceedings of the **33rd World Small Animal Veterinary Congress**, Dublin, Ireland, 2008. p. 104-106. Disponível em: <<http://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?meta=Generic&pId=11268&catId=32744&id=3866618>>. Acesso em: 05 de setembro de 2018.

GRAY, K. et al. The effect of 48-hour fasting on taurine status in healthy adult dogs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, p. 532–536, 2016.

HAND, M. S.; THATCHER, C. D.; REMILLARD, R. L. **Nutrición Clínica en Pequeños Animales**. 4. ed. Buenos Aires: Mark Morris Institute, 2000. 1368 p.

KUMAR, A. et al. Role of coenzyme Q10 (CoQ10) in cardiac disease, hypertension and meniere-like syndrome. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 124, n. 3, p. 259–268, 2009.

KROLL, F. S. A. et al. A importância do sódio no manejo nutricional de cães e gatos cardiopatas. **Medvep - Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação**, v. 8, n. 27, p. 608–614, 2010.

LEAF, A. et al. Prevention of fatal arrhythmias in high-risk subjects by fish oil n-3 fatty acid intake. **Circulation**, v. 112, p. 2762–2768, 2005.

LENOX, C. E.; BAUER, J. E. Potential adverse effects of omega-3 fatty acids in dogs and cats. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v. 27, p. 217–226, 2013.

MADRON, E. Cardiology fact sheet ACVIM fact sheet: hypertrophic cardiomyopathy in cats. **American College Medicine Internal Veterinary**, 2014. Disponível em: <<http://www.acvim.org/Portals/0/PDF/Animal%20Owner%20Fact%20Sheets/Cardiology/Cardio%20Hypertrophic%20cardiomyopathy%20in%20cats.pdf>> Acesso em: 29 de outubro de 2018.

MARIN-GARCIA, J.; GOLDENTHAL, M. J.; MOE, G. W. Mitochondrial pathology in cardiac failure. **Cardiovascular Research**, v. 49, n. 1, p. 17–26, 2001.

NETO, A. Q.; D'ANGELIS, F. H. F.; DI STASI, L. C. Nutracêuticos e substâncias ergogênicas. In: BARROS, C. M.; DI STASI, L. C. **Farmacologia veterinária**, São Paulo: Manole, 2012. p. 40-55.

NOONAN, W. P.; NOONAN, C. Legal requirements for “functional food” claims. **Toxicology Letters**, v. 150, n. 1, p. 19–24, 2004.

PACIORETTY, L. et al. Kinetics of taurine depletion and repletion in plasma, serum, whole blood and skeletal muscle in cats. **Amino Acids**, v. 21, n. 4, p. 417–427, 2001.

PAIGE, C. F. et al. Prevalence of cardiomyopathy in apparently healthy cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 234, n. 11, p. 1398–1403, 2009.

PETERSON, M. E.; TALCOTT, P. A. Mercury. In: _____ **Small Animal Toxicology**, 2. ed. St. Louis: Ed. Saunders, 2006. p. 822–829.

RUSH, J. E. Chronic Valvular Heart Disease in Dogs. In: **Small animal cardiology 26º simpósio**, Waltham USA anual, Ohio, 2002.

SAMPEDRANO, C. C. et al. Prospective echocardiographic and tissue doppler imaging screening of a population of Maine Coon cats tested for the A31P mutation in the myosin -

binding Protein C gene : A specific analysis of the heterozygous status. **American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, p. 91–99, 2009.

SARRAZIN, J. F. et al. Reduced incidence of vagally induced atrial fibrillation and expression levels of connexins by n-3 polyunsaturated fatty acids in dogs. **Journal American College Cardiology**, v. 50, p. 1505–1512, 2007.

SISSON, D. et al. Doença Miocárdica Primária no Cão. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 925-943.

SCHILLINGER, W. et al. Relevance of Na⁺ – Ca²⁺ exchange in heart failure. **Cardiovascular Research**, v. 57, p. 921–933, 2003.

SMITH, C. E. et al. Omega-3 fatty acids in boxer dogs with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 2, p. 265–273, 2007.

SPITZE, A. R. et al. Taurine concentrations in animal feed ingredients; cooking influences taurine content. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 87, n. 7–8, p. 251–262, 2003.

TORRES, C. L. et al. Taurine status in normal dogs fed a commercial diet associated with taurine deficiency and dilated cardiomyopathy. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 87, n. 9–10, p. 359–372, 2003.

TIANO, L. et al. Effect of coenzyme Q10 administration on endothelial function and extracellular superoxide dismutase in patients with ischaemic heart disease: a double-blind, randomized controlled study. **European Heart Journal**, v. 28, n. 18, p. 2249–2255, 2007.

TORIN, D. S.; FREEMAN, L. M.; RUSH, J. E. Dietary patterns of cats with cardiac disease. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 230, n. 6, p. 862–7, 2007.

TREPANIER, L. Idiopathic inflammatory bowel disease in cats: rational treatment selection. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 11, n. 1, p. 32-38, 2009.

WARE, W. A. Doenças Miocárdicas do Cão. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. p. 223- 235.

XU, Y. J. et al. The potential health benefits of taurine in cardiovascular disease. **Experimental and Clinical Cardiology**, v. 13, n. 2, p. 57–65, 2008.

ZAINE, L.; MONTI, M.; VASCONCELLOS, R. S. Nutracêuticos imunomoduladores com potencial uso clínico para cães e gatos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 4, p. 2513–2530, 2014.



Capítulo
17

**Fibropapilomatose em tartarugas verdes (*Chelonia mydas*): morfologia,
histopatologia e histoquímica**

Adriano Lima Stelzer Bindaco¹
Antônio de Calais Júnior²
Louisiane de Carvalho Nunes³

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: adrianostelzer48@gmail.com

² Universidade Estadual do Norte Fluminense, e-mail: vetcalais@hotmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: louisianecn@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

A fibropapilomatose é uma doença infecciosa de distribuição mundial que acomete tartarugas marinhas de todos os oceanos, principalmente indivíduos da espécie *Chelonia mydas* (JACOBSON et al., 1989; MATUSHIMA et al., 2001). É caracterizada por únicas ou múltiplas massas neoplásicas cutâneas benignas (HERBST, 1994), apresentando uma provável etiologia viral, com envolvimento de um herpesvírus (herpesvírus quelônio 5, ChHV-5), associado a fatores como poluição ambiental e temperatura da água (RODENBUSCH et al., 2012).

As neoformações podem ser verrucosas ou lisas, sésseis ou penduculadas e ainda apresentar áreas de necrose e ulceração (HERBST, 1994). Os fibropapilomas são observados em qualquer região do corpo, sendo mais comum em nadadeiras, pescoço, cabeça, região inguinal e axilar e base da cauda (MATUSHIMA et al., 2001). A localização tumoral afeta a locomoção, alimentação, respiração, visão e a condição geral de saúde dos animais, tornando esses indivíduos propensos a doenças secundárias, predação e até mesmo a morte (KNÖBL; REICHE; MENÃO, 2011)

O tamanho dessas neoplasias é variável, e diante desta característica Work e Balazs (1999), classificaram os fibropapilomas com base em quatro tamanhos aproximados: “A”

(tamanho menor que 1 cm); “B” (tamanho entre 1 e 4 cm); “C” (tamanho entre 4 cm e 10 cm) e “D” (tamanho maior que 10 cm).

Histologicamente, a fibropapilomatose é dividida de acordo com as lesões proliferativas presentes, sendo classificada como papiloma cutâneo, quando há apenas proliferação de tecido epitelial, fibroma, quando há proliferação restrita ao tecido conjuntivo e fibropapiloma, quando observa-se proliferação de ambos os tecidos (HERBST, 1994).

A maior população de tartarugas marinhas, encontradas nos mares brasileiros, é pertence à espécie *Chelonia mydas* (LINNAEUS, 1758) e a fibropapilomatose é bastante frequente nestes animais (KNÖBL; REICHE; MENÃO, 2011). De acordo com dados de Baptistotte et al. (2001), no ano de 2000, apenas na área da cidade de Vitória, Espírito Santo, foram registrados 40% de casos de fibropapilomatose em tartarugas verdes. Além do mais, estudos preliminares junto a empresa CTA Meio Ambiente, localizada no município de Anchieta, Espírito Santo evidenciaram alta prevalência de fibropapilomatose em tartarugas verdes encontradas mortas no litoral sul capixaba.

Tendo em vista que a fibropapilomatose é uma doença frequente e que compromete a sobrevivência das tartarugas verdes em seu habitat natural, torna-se de extrema importância o conhecimento das alterações morfológicas teciduais causadas por esta neoplasia. Diante disso, este estudo teve como objetivo caracterizar macro e microscopicamente fibropapilomas de *Chelonia mydas*, encontradas mortas no litoral sul do Espírito Santo, determinando seus padrões macroscópicos de apresentação e caracterizando histomorfologicamente e histoquimicamente os tumores. Além disto, obter dados sobre a prevalência da doença quanto ao sexo, biometria, *causa mortis* e condição corpórea.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados fibropapilomas previamente coletados durante procedimentos de necropsias de tartarugas verdes realizadas na empresa CTA Meio Ambiente, localizada no município de Anchieta, Espírito Santo, no período de 2013 a 2014 (SISBIO 39329-1 e protocolo CEUA 53/2015). O material foi fixado em formaldeído a 10% e armazenado em frascos de boca larga no Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Espírito Santo.

O material foi inicialmente lavado em água corrente. Após este período, o material foi avaliado quanto às características macroscópicas, realizando-se a mensuração dos tumores com

auxílio de paquímetro e adotando-se a classificação de tamanho de Work e Balazs (1999). Foram avaliados ainda a forma, o aspecto e a coloração.

Após esta etapa o material foi clivado e passou pelo processamento histológico de rotina para inclusão em parafina. Após a confecção dos blocos estes foram cortados em micrótomo rotativo manual em secções de 3 a 5 µm de espessura. Os cortes foram depositados em lâminas de vidro e em seguida foram corados pelo método de hematoxilina e eosina (HE) para a avaliação microscópica geral. Cortes do mesmo material foram também corados por técnicas histoquímicas de Tricrômico de Masson, Reticulo-Reticulina e Picrosirius Red, para identificação dos componentes do tecido conjuntivo fibroso e caracterização das fibras colágenas. Os componentes identificados foram avaliados por método semi-quantitativo baseado em escores: discreto (+), moderado (++) e acentuado (+++).

Todos os dados foram avaliados por estatística descritiva e as alterações macro e microscópicas foram também avaliadas pelo teste de G de independência seguido do teste exato de Fisher a nível de 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 20 fibropapilomas recuperados, apenas 13 estavam viáveis para avaliação macroscópica e processamento histológico e histoquímico. As outras sete amostras se encontravam em avançado estado de autólise impossibilitando as mesmas de serem utilizadas.

Os 13 tumores avaliados foram provenientes de animais, sendo 84,62% (11/13) fêmeas e 15,38% (2/13) machos, com peso variando de 3,8 a 13,75 Kg ($7,91 \text{ Kg} \pm 2,80$). Duarte et al. (2012) e Kondak (2011) também verificaram maior prevalência de fêmeas em seus estudos. Pelo fato da população de fêmeas desta espécie ser mais numerosa na costa brasileira, justifica-se maior incidência da fibropapilomatose em fêmeas.

A biometria dos quelônios apresentou comprimento curvilíneo da carapaça (CCC) variando entre 55,5 cm e 35,3 cm ($40,63 \pm 13,55$) e a largura curvilínea da carapaça (LCC) entre 35,6 e 49,1 cm ($37,00 \pm 12,35$), sendo classificados como quelônios jovens. Rossi (2007) obteve valores semelhantes ao analisar a biometria de 29 tartarugas verdes com fibropapilomatose no litoral de São Paulo, com comprimento curvilíneo da carapaça (CCC) de 68,5 a 30,0 cm ($44,49 \pm 9,39$) e largura curvilínea da carapaça (LCC) de 28,5 a 63,0 cm ($40,5 \pm 8,91$). Durante a fase juvenil, indivíduos da espécie *Chelonia mydas* são comuns na região costeira do mar brasileiro (SANTOS et al., 2011) e estas áreas possivelmente apresentam

fatores que contribuam para a ocorrência da doença (WASSMANSDORF, 2009). Sabe-se que estes animais quando são submetidos a alguma injúria que interfere na sua saúde, passam a encalhar na costa. Por isso observa-se a maior incidência de tartarugas verdes jovens encontradas mortas nas praias brasileiras. Um estudo sobre lesões esofágicas em tartarugas verdes encontradas mortas naturalmente no litoral do Espírito Santo também observou que todos os animais avaliados eram juvenis (CALAIS JÚNIOR, 2015).

Em relação ao estado dos animais no momento do resgate, 53,85% (7/13) estavam mortos enquanto 46,15% (6/13) vivos. Sobre a condição corpórea dos mesmos, 61,54% (8/13) possuíam um estado corporal ruim, 23,08% (3/13) bom e 15,38% (2/13) médio. A *causa mortis* ou processo patológico principal indicados nas fichas de registro foram de parasitose em 23,08% (3/13) dos casos, 23,08% (3/13) interação com pesca, 23,08% (3/13) processo infeccioso, 15,38% (2/13) neoplasias e 15,38% (2/13) indeterminada. Geralmente, tartarugas acometidas com fibropapilomatose encontram-se debilitadas, caquéticas e com dificuldade de flutuação. Há ainda situações em que a proliferação neoplásica pode comprometer diretamente a saúde do animal e levá-lo a óbito, principalmente nos casos em que a localização do fibropapiloma dificulta a visão, locomoção e alimentação (KNÖBL; REICHE. R.; MENÃO, 2011). Assim, pode-se inferir que a fibropapilomatose pode predispor a tartaruga a outras doenças, além de aumentar as chances de o animal ser vítima de atividades antrópicas.

Na avaliação macroscópica, todos os fibropapilomas, 100% (13/13), apresentavam aspecto verrucoso (FIGURA 1). Wassmansdorf (2009) também constatou predomínio do aspecto verrucoso (81,6%) nos fibropapilomas analisados em seu estudo. Em relação à coloração, os tumores apresentaram uma variação de esbranquiçado ao enegrecido (FIGURA 2), semelhantes aos achados de Rossi (2007) que cita que a variação passava pelos tons de rosa claro, rosa escuro e cinza.

Figura 1 – Fotomacrografia do aspecto macroscópico do fibropapilomado tipo verrucoso de tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) provenientes de encalhe no litoral do Espírito Santo.



Fonte: Nunes (2015)

Figura 2 – Fotomacrografia do aspecto macroscópico dos fibropapilomas de tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) provenientes de encalhe no litoral do Espírito Santo evidenciando em A) coloração enegrecida e B) coloração esbranquiçada e rósea.



Fonte: Nunes (2015)

Em relação à localização anatômica e distribuição dos tumores verificou-se que 100% (13/13) dos neoplasmas se localizavam nas nadadeiras anteriores e posteriores, 61,54% (8/13) pescoço, 30,77% (4/13) olhos, 23,08% (3/13) região da cloaca, 7,70% (1/13) plastrão, 7,70% (1/13) região inguinal e 7,70% (1/13) cabeça (TABELA 1). Verificou-se ainda que em um mesmo animal foi possível observar vários tumores em locais distintos. Esses dados podem justificar a maior prevalência de animais com condições corporais ruim, uma vez que a localização e distribuição dos fibropapilomas podem prejudicar a locomoção, visão, alimentação e respiração dos animais, interferindo na condição geral de saúde do animal (HERBST, 1994).

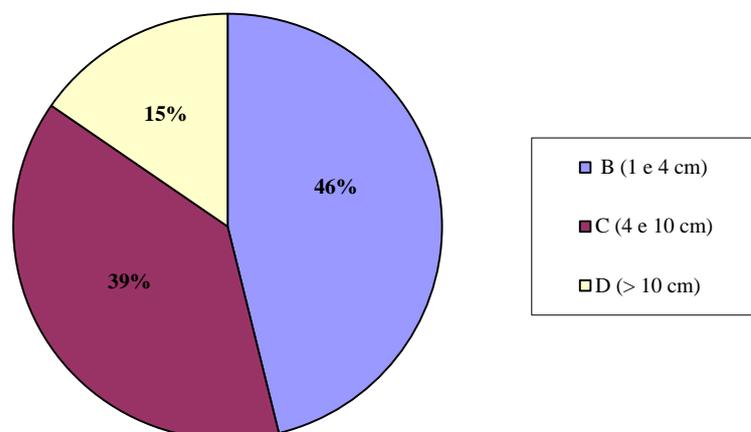
Tabela 1 - Localização e distribuição anatômica dos fibropapilomas e condição corpórea das tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) provenientes de encalhe no litoral do Espírito Santo.

Animal	Localização e distribuição anatômica do fibropapiloma	Condição
P 15/14	Todas as nadadeiras, pescoço e olhos.	Boa
P 16/14	Todas as nadadeiras	Ruim
P 19/14	Todas as nadadeiras	Ruim
P 20/14	Todas as nadadeiras e olhos	Ruim
P 21/14	Todas as nadadeiras e pescoço	Ruim
P 22/14	Todas as nadadeiras, olhos, pescoço, plastrão e cloaca	Ruim
P 24/14	Todas as nadadeiras, pescoço, plastrão, cloaca e região inguinal	Ruim
P 30/14	Todas as nadadeiras e pescoço	Média
P 38/14	Todas as nadadeiras, pescoço e olhos	Ruim
P 65/14	Todas as nadadeiras, pescoço e cloaca	Boa
P 90/14	Todas as nadadeiras e pescoço.	Média
P 93/14	Todas as nadadeiras, cabeça e olhos	Boa
P 131/14	Todas as nadadeiras	Ruim

Fonte: o autor

O tamanho dos tumores foi classificado como B em 46,16% (6/13) das amostras, C em 38,46% (5/13) e D em 15,38% (2/13) (FIGURA 3).

Figura 3 - Valores percentuais do tamanho dos fibropapilomas encontrados em tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) provenientes de encalhe no litoral do Espírito Santo.



Fonte: O autor

Work e Balazs (1999) propuseram a classificação para os tamanhos dos tumores baseada em escores, em que o grau A se refere aos tumores menores que 1 cm, o B variando de 1 cm a 4 cm, o C entre 4 cm e 10 cm e o D quando o tamanho é maior do que 10 cm. No presente estudo, embora tenha se observado maior prevalência de tumores com tamanho entre 1 cm a 4 cm, verificou-se também uma distribuição e localização de 100% destes em todas as nadadeiras, o que prejudica a condição geral de saúde. Portanto, verifica-se que a avaliação do tamanho do tumor isoladamente não é tão importante uma vez que a quantidade, distribuição e localização podem gerar um grau de acometimento maior. Também deve-se ressaltar que a presença de um tumor único em localização ocular, por exemplo, dificulta a sobrevivência do animal.

Dos 13 fibropapilomas, 61,54% (8/13) tiveram proliferação epitelial, enquanto 38,46% (5/13) apresentaram proliferação de tecido conjuntivo fibroso, sendo classificados como papilomas cutâneos e fibromas respectivamente. 7,70% (1/13) apresentaram pigmentação microscópica, com a presença de melanócitos no estroma.

Os tumores apresentaram intensidade acentuada de fibras colágenas no estroma, evidenciadas pela técnica histoquímica de Tricrômico de Masson, em 76,92% (10/13) dos casos, enquanto 15,38% (2/13) apresentaram intensidade moderada e 7,70% (1/13) discreta. A alta prevalência de fibras colágenas em intensidade acentuada pode ser explicada pelos achados de Zwarg et al. (2014). Os autores em questão observaram, microscopicamente, que os fibropapilomas de aspecto verrucoso, apresentaram abundante base fibrovascular, contendo principalmente tecido conjuntivo fibroso em todo o estroma.

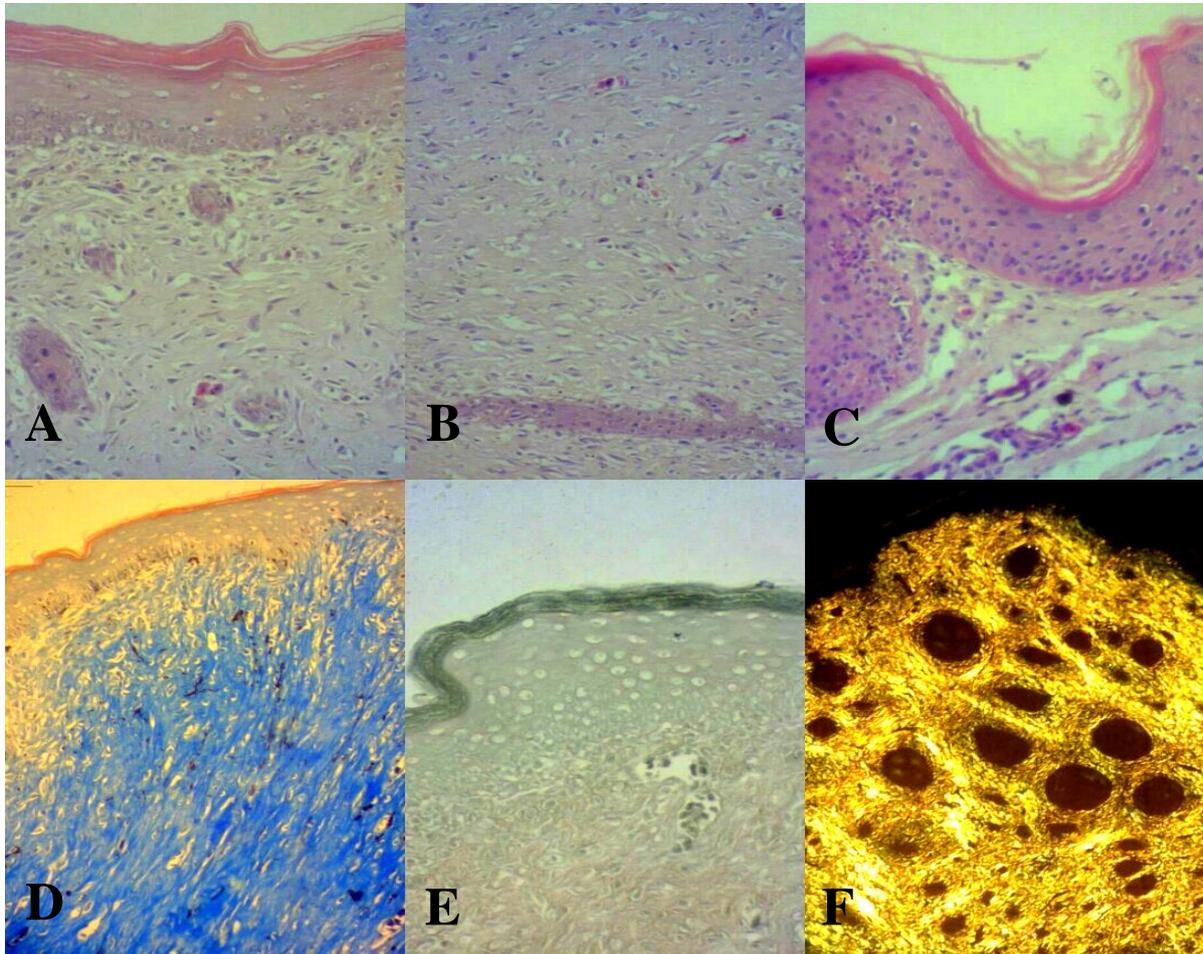
Apenas 7,70% (1/13) dos tumores evidenciaram a presença de fibras reticulares no estroma tumoral pela técnica histoquímica de Reticulo-Reticulina. Segundo Junqueira, Carneiro e Abrahamsohn (2017), as fibras reticulares são compostas principalmente por fibras de colágeno tipo III associado ao elevado teor de glicoproteínas e proteoglicanos. Assim, em processos cicatriciais, o colágeno tipo III é o primeiro a ser depositado e após a maturação é substituído por fibras colágenas tipo I (RIBEIRO et al., 2015).

A avaliação pela técnica histoquímica de Picrosirius Red sob polarização de luz, revelou que houve prevalência de colágeno tipo misto, ou seja fibras delgadas, tipo III (evidenciadas em tons de verde) e fibras densas, tipo I, (evidenciadas em tons de amarelo) em 92,30% (12/13) das amostras. Em apenas uma amostra verificou-se predomínio de fibras densas, representando 7,70% (1/13). Estes achados indicam que a maioria dos tumores estava em processo de transformação/maturação do tecido conjuntivo, com as fibras densas (tipo I) ainda sendo depositadas. Desta forma, pode-se inferir que os tumores encontrados sejam processos “antigos” nos animais acometidos.

De acordo com Cheng e Leung (2011), o colágeno tipo I é altamente expressado em tumores invasivos e metastáticos, sendo o componente estrutural mais abundante em tumores sólidos. Bedoya (2015) observou o predomínio de colágeno tipo I no estroma de carcinomas de células escamosas em cães, este sendo dominante nos diferentes graus de diferenciação da neoplasia. No caso da fibropapilomatose, por tratar-se de um tumor benigno, acredita-se que a presença do colágeno misto, ou seja, deposição de 50% de colágeno tipo I e 50% de colágeno tipo 3, esteja relacionada com o grau de maturação da neoplasia.

A figura 4 ilustra a avaliação histomorfológica e histoquímica dos tumores analisados.

Figura 4 - Fotomicrografia dos fibropapilomas de tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) provenientes de encalhe no litoral do Espírito Santo evidenciando em A) papiloma cutâneo (HE, objetiva 10X); B) estroma tumoral (HE, objetiva 40X); C) proliferação epitelial (HE, objetiva de 10X); D) intensidade acentuada de colágeno (Tricrômico de Masson, objetiva 10X); E) ausência de fibras reticulares (Retículo-Reticulina, objetiva 10X) e F) fibras de colágeno tipo I (amarelo) e tipo III (verdes) (Picosirius Red sob luz polarizada, objetiva 10X).



Fonte: o autor

A análise estatística revelou que classificação tumoral não é dependente do tamanho tumoral ($p>0,05$). Esse fato pode ser justificado pelos achados do próprio estudo, onde houve variação entre os tamanhos e tipos de tumores, em que a proliferação celular observada em alguns casos foi inversamente proporcional ao tamanho da neoplasia observada macroscopicamente (TABELA 2).

Tabela 2 – Classificação quanto ao tipo e tamanho dos fibropapilomas encontrados em tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) provenientes de encalhe no litoral do Espírito Santo.

Fibropapiloma	Tipo	Classificação do tamanho
P 15/14	Fibroso	C
P 16/14	Epitelial	C
P 19/14	Epitelial	C
P 20/14	Epitelial	D
P 21/14	Epitelial	B
P 22/14	Epitelial	C
P 24/14	Fibroso	D
P 30/14	Fibroso	B
P 38/14	Fibroso	B
P 65/14	Fibroso	B
P 90/14	Epitelial	B
P 93/14	Epitelial	C
P 131/14	Epitelial	B

Também foi verificado que a intensidade do colágeno não é dependente do tamanho, nem do tipo tumoral ($p>0,05$). Neste contexto, Oldenburg et al. (2014) constatou um alto grau de deposição de colágeno em melanomas e carcinomas de células escamosas de cães, assim como em fibromas, sendo que neste a grande presença de colágeno não estava relacionada à malignidade e sim aos fibroblastos no tumor. Desta forma, a intensidade do colágeno nos fibropapilomas possivelmente é decorrente dos fibroblastos presente no estroma de cada tumor, não tendo influencia na velocidade de proliferação e no tamanho que os mesmos apresentaram.

O tipo de colágeno não foi considerado dependente da intensidade do mesmo, do tipo e tamanho de tumor ($p>0,05$). Em tumores, a deposição de colágeno é denominada desmoplasia, sendo semelhante ao de processo de cicatrização (COTRAN; KUMAR; ROBBINS, 2000), onde os fibroblastos sintetizam colágeno e as fibras tipo III são a primeiras a serem depositadas sendo posteriormente substituídas por fibras tipo I (RIBEIRO, et al. 2015). Diante do exposto, nota-se que a presença de fibras tipo I e tipo III estão relacionadas com a maturação do colágeno e não com sua intensidade. Desta vez, a presença de fibroblastos no tumor, citada anteriormente, justifica a independência do tipo de fibras colágenas com o tipo do tumor e tamanho, já que estes são responsáveis pela produção e deposição de vários tipos destas no estroma neoplásico.

Outro fato que se observou, foi que a presença de fibras reticulares não é dependente da intensidade de colágeno, tipo e tamanho do tumor ($p>0,05$). As fibras reticulares são compostas principalmente por fibras de colágeno tipo III (JUNQUEIRA; CARNEIRO; ABRAHAMSOHN, 2017), diante disso a intensidade do colágeno no tumor não indica se o mesmo possui fibras reticulares, já que a presença destas depende da quantidade de fibras colágenas tipo III. A classificação tumoral e o seu tamanho não influenciam também, já que fibras reticulares estão relacionadas com as fibras de colágeno tipo III, estas que de acordo com Ribeiro et al. (2015) estão envolvidas com o processo de maturação do tecido conjuntivo. Não foi possível estabelecer uma associação das características morfológicas com a carga viral ou outros fatores epidemiológicos.

4 CONCLUSÕES

Verificou-se que os fibropapilomas de tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) encontradas mortas no litoral sul do Espírito Santo são predominantemente do tipo verrucoso e variam bastante de coloração. Há prevalência dos tumores epiteliais (papilomas cutâneos), no entanto, a deposição de colágeno e intensidade tem um padrão de distribuição uniforme. Verifica-se ainda que os tumores são mais frequentes em fêmeas, juvenis, com condição corporal ruim e com distribuição difusa pelo corpo.

5 AGRADECIMENTOS

À empresa CTA Meio Ambiente pelo apoio na realização deste estudo e ao Programa de Iniciação Científica da Universidade Federal do Espírito Santo pelo apoio financeiro, sob forma de bolsa (Edital 2015-2016), ao estudante Adriano Lima Stelzer Bindaco.

6 REFERÊNCIAS

BAPTISTOTTE, C. et al. Prevalence of sea turtle fibropapillomatosis in Brazil. In: **XXI Annual Symposium On Sea Turtle Biology And Conservation**, 2001, Philadelphia. Proceedings... p. 24-28.

BEDOYA, S. A. O. **Caracterização de colágeno tipo I e III no estroma do carcinoma de células escamosas cutâneo em cães**. 2015. 50 f. Dissertação (Título de Magister Scientiae) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2015.

CALAIS JÚNIOR, A. **Caracterização histomorfológica e histoquímica de esôfagos de tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) com e sem alterações no litoral do Espírito Santo.** 2015. 72 f. Dissertação (Mestre em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2015.

CHENG, J. C.; LEUNG, P. C. Type I collagen down-regulates E-cadherin expression by increasing PI3KCA in cancer cells. **Cancer Letters**, Amsterdã, v. 304, p. 107- 233, 2011.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S. L. **Robbins. Patologia Estrutural e Funcional.** 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, 1268 p.

DUARTE, D. L. V. et al. Determinação sexual e maturação gonadal de fêmeas da tartaruga-verde (*Chelonia mydas*) e tartaruga-cabeçuda (*Caretta caretta*) no extremo sul do Brasil. **Acta Biológica Paranaense**, Paraná, v. 40, p. 87-103, 2012.

HERBST, L. H. Fibropapillomatosis in marine turtles. **Annual Review of Fish Diseases**, Amsterdã, v. 4, p. 391-398, 1994.

JACOBSON, E. R. et al. Cutaneous fibropapillomas of green turtles (*Chelonia mydas*). **Journal Comparative Pathology**, Amsterdã, v. 101, n. 1, p. 39-52, 1989.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J.; ABRAHAMSOHN, P. **Histologia básica: texto e atlas.** 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

KNÖBL, T.; REICHE, R.; MENÃO, M. C. Fibropapilomatose em tartarugas marinhas. **Neotropical Biology and Conservation**, São Leopoldo, v. 6, n. 32, p. 64-69, 2011.

KONDAK, H. C. **Análise da proporção sexual e do desenvolvimento gonadal da tartaruga-verde, *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758), no litoral norte e médio do Rio Grande do Sul.** 2012. 41f. Trabalho (Pós graduação em Diversidade e Conservação de Fauna) – Programa de Pós-graduação em Biologia Animal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

MATUSHIMA, E. R. et al. Cutaneous papillomas of green turtles: a morphological, ultra-structural and immunohistochemical study in Brazilian specimens. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 38, n. 2, p. 51-54, 2001.

OLDENBURG, T. S. et al. Análise histoquímica de tumores de pele em cães na região noroeste do estado. In: SALÃO DO CONHECIMENTO, 9., 2014, Ijuí. **Anais... Ijuí:** Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Editora Unijuí, 2014.

RODENBUSCH, C. R. et al. Detection and characterization of fibropapilloma associated herpesvirus of marine turtles in Rio Grande do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 11, p. 1179-1183, 2012.

RIBEIRO, F. A. Q. et al. Análise da concentração de colágeno tipo I e III presente no reparo de feridas tratadas com Mitomicina C em ratos. **Arquivos Médicos dos Hospitais e Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**, São Paulo, n. 60, p. 22-26, 2015.

ROSSI, S. **Estudo do impacto da fibropapilomatose em *Chelonia mydas* (LINNAEUS, 1758) (Testudines e Cheloniidae)**. 2007. 104 f. Dissertação (Mestre em Ciências) – Programa de Pós Graduação em Patologia Experimental, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

SANTOS, A. S. et al. **Plano de ação nacional para conservação das tartarugas marinhas: série espécies ameaçadas nº 25. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade**. Brasília: MMA, 2011. Disponível em: <www.icmbio.gov.br/portal/...plano-de...tartarugas/livro_tartarugas.pdf>. Acesso em 04 mai 2018.

WASSMANSDORF, R. **Ocorrência da fibropapilomatose em tartarugas marinhas no litoral do estado do Paraná**. 2009. 39f. Monografia (Graduação em Ciências biológicas) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

WORK, T. M.; BALAZS, G. H. Relating tumor score to hematology in green turtle with fibropapillomatosis in Hawaii. **Journal of Wildlife**, v. 35, n. 4, p. 804-805, 1999.

ZWARG, T. et al. Hematological and histopathological evaluation of wildlife green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapilloma from the north coast of São Paulo State, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 682-688, 2014.



Capítulo
18

Accipitriformes, Falconiformes e Strigiformes: aspectos importantes sobre os rapinantes brasileiros e a morfologia do seu trato digestório

Cleverson Paixão Monteiro¹
Renzo Soares²
Maria Aparecida da Silva³
Antonio de Calais Júnior⁴
Louisiane de Carvalho Nunes⁵

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: cleveson.pxmonteiro@gmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: renzosoaresvet@hotmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mvmariaaparecida@gmail.com

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: vetcalais@hotmail.com

⁵ Universidade Estadual do Norte Fluminense, e-mail: louisianecn@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado um dos países com a maior fauna avícola existente no mundo, sendo sua principal ameaça as ações antrópicas (ICMBIO, 2008). As aves rapinantes compreendem diferentes gêneros, famílias e ordens que possuem características em comum, como bico curvo e de ponta afiada, presença de pés e garras desenvolvidos para a caça e abate de suas presas. Estes animais exercem funções importantíssimas no meio ambiente, atuando como reguladores do crescimento populacional de outras espécies, indicadores ambientais, entre outras (BROWN, 1997; ICMBIO, 2008).

Dentre as aves de rapina, há algumas espécies que se alimentam de frutos e/ou de outras aves (DEL HOYO; ELLIOTT; SARGATAL, 1994), desta forma, pode ocorrer a extinção local de espécies que interagem entre si e a interferência em processos ecológicos essenciais para a preservação e manutenção de toda diversidade de flora e fauna das florestas (SANTOS;

TELLERIA, 1994). Essa relação de interdependência estabelecida entre flora e fauna constitui um dos pontos principais para preservação das espécies (JORDANO, 1987).

Devido à escassez de dados sobre estes animais, esta revisão aponta a importância de se conhecer as relações ecológicas, bem como, o funcionamento do trato digestório dos rapinantes para que se possa atuar da forma mais adequada para a preservação e conservação destes animais, assim como, do ambiente onde vivem.

2 CARACTERÍSTICAS GERAIS E CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA DOS RAPINANTES

A expressão “ave rapina” é utilizada para caracterizar aves de alimentação carnívora, diurnas ou noturnas, que possuem garras e bicos afiados, desenvolvidos para apreensão e abate de suas presas, assim como uma visão aguçada, para a localização das mesmas. Apesar disso, esta não é considerada uma classificação taxonômica, pois agrupa animais de linhagens diferentes (BROWN, 1997; ICMBIO, 2008).

Mesmo que havendo muitas características em comum entre esses animais, sugere-se que estes não surgiram de um ancestral comum, a hipótese mais aceita é a de que houve uma evolução convergente entre essas espécies (FEDUCCIA, 1996; ICMBIO, 2008).

Ao longo do tempo, muitos estudos genéticos foram feitos sobre as famílias que compunham a ordem Falconiformes, concluindo-se que Cathartidae era mais próximo aos Ciconiiformes. As famílias Accipitridae e Pandionidae foram agrupadas em uma nova ordem Accipitriformes. A família Sagittaridae passou a ser classificada como uma ordem à parte, Sagittariformes (CBRO, 2014; DEL HOYO; ELLIOT; SARGATAL, 1994; FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001; SIBLEY; AHLQUIST, 2014; REMSEN JUNIOR et al., 2013).

A discussão sobre a correta classificação e disposição taxonômica dos rapinantes diurnos não obteve um consenso durante muito tempo, fazendo com que a quantidade de ordens, infraordens e famílias, fosse muito variável (GRANZINOLLI, 2009). Devido a isto, para a elaboração deste capítulo, baseou-se na classificação taxonômica estabelecida por Ferguson-Lees e Christie (2001), e na nomenclatura das aves brasileiras feita pelo CRO - Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (2014).

Dentre as aves de rapina, os animais que não ultrapassam os 370 gramas são considerados de pequeno porte. Os que ficam entre 700 e 1200 gramas são de médio à grande

porte e os que ultrapassam os 3000 gramas são considerados de grande porte (DEL HOYO; ELLIOT; SARGATAL, 1994).

Pela classificação taxonômica estabelecida por Ferguson-Lees e Christie (2001), os rapinantes ficaram distribuídos em três ordens, os Accipitriformes, os Falconiformes e os Strigiformes (TABELA 1).

A ordem Accipitriformes possui 242 espécies divididas em duas famílias: Accipitridae e Pandionidae, estão incluídos nesta ordem os gaviões e as águias (JOPPERT, 2014). As espécies da família Accipitridae possuem tamanho pequeno a médio/grande porte, bico muito curvo, asas mais largas, longas e arredondadas, quando comparadas aos dos Falconídeos e a troca das penas é efetuada a partir das primárias do meio em direção a ponta da asa, possuem pernas de tamanho médio com artelho tendo garras fortes e curvas, estão presentes em todos os continentes, com exceção da Antártica (DEL HOYO; ELLIOT; SARGATAL, 1994; ORR, 1986; SICK, 1997). Os pandionídeos são representados pela águia-pescadora (*Pandion haliaetus*). Estes indivíduos possuem asas pontudas, as plantas dos pés apresentam espículos e garras curvas, cabeça e partes ventrais brancas, faixa larga de coloração negra atrás dos olhos em direção à parte dorsal do corpo. Na América do Sul ocorre como ave migratória que pode ser mais facilmente observada em áreas com grandes coleções de água (SICK, 2001).

Os falcões e os carcarás estão reunidos na ordem Falconiformes, esta possui um total de 63 espécies que se encontram distribuídas em três famílias: Daptriidae, Herpetotheridae e Falconidae, esta última é a que possui maior diversidade de espécies (FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001). O porte destes animais é considerado pequeno a médio e estão distribuídos por todo o mundo com exceção da Antártica (DEL HOYO; ELLIOTT; SARGATAL, 1994; ORR, 1986). Para o agrupamento das famílias dos falconídeos são levadas em consideração características como o padrão de muda, tubérculo nasal desenvolvido, exceto nos falcões florestais e carcarás, e composição química das cascas dos ovos semelhante (DEL HOYO; ELLIOTT; SARGATAL, 1994). A muda das penas nos falconídeos se inicia na quarta primária, segue até a décima e ascende até primeira (SICK, 2001).

Tabela 1. Classificação dos rapinantes diurnos segundo Ferguson-Lees e Christie (2001) e König e Weick(2008). (Continua)

Ordem	Família	Subfamília	Gênero (número de espécies)
Accipitriformes	Pandionidae		<i>Pandion haliaetus</i> (1)
	Accipitridae		<i>Aviceda</i> (5); <i>Leptodon</i> (2); <i>Henicopernis</i> (2); <i>Pernis</i> (3); <i>Elanoides</i> (1); <i>Chondrohierax</i> (1); <i>Macheiramphus</i> (1); <i>Gampsonyx</i> (1); <i>Elanus</i> (4); <i>Chelictinia</i> (1); <i>Rostrhamus</i> (2); <i>Harpagus</i> (2); <i>Ictinia</i> (2); <i>Lophoictinia</i> (1); <i>Hamirostra</i> (1); <i>Milvus</i> (3); <i>Haliastur</i> (2); <i>Circus</i> (13); <i>Accipiter</i> (47); <i>Buteo</i> (28); <i>Geranoaetus</i> (1); <i>Parabuteo</i> (1); <i>Leucopternis</i> (10); <i>Busarellus</i> (1); <i>Buteogallus</i> (5); <i>Harpyhaliaetus</i> (2); <i>Urotriorchis</i> (1); <i>Megatriorchis</i> (1); <i>Erythrotriorchis</i> (2); <i>Butastur</i> (4); <i>Kaupifalco</i> (1); <i>Geranospiza</i> (1); <i>Harpia</i> (1); <i>Morphnus</i> (1); <i>Pithecophaga</i> (1); <i>Harpyopsis</i> (1); <i>Ictinaetus</i> (1); <i>Aquila</i> (9); <i>Hieraaetus</i> (7); <i>Spizastur</i> (1); <i>Polemaetus</i> (1); <i>Lophaetus</i> (1); <i>Spizaetus</i> (10); <i>Stephanoaetus</i> (1); <i>Oroaetus</i> (1); <i>Haliaeetus</i> (8); <i>Ichthyophaga</i> (2); <i>Gypohierax</i> (1); <i>Gypaetus</i> (1); <i>Neophron</i> (1); <i>Necrosyrtes</i> (1); <i>Gyps</i> (7); <i>Aegyptius</i> (4); <i>Circaetus</i> (6); <i>Terathopius</i> (1); <i>Spilornis</i> (13); <i>Dryotriorchis</i> (1); <i>Eutriorchis</i> (1); <i>Melierax</i> (3); <i>Micronisus</i> (1); <i>Polyboroides</i> (2)
Falconiformes	Daptriidae		<i>Daptrius</i> (2); <i>Phalcoboenus</i> (4); <i>Caracara</i> (1); <i>Milvago</i> (2)
	Falconidae		<i>Falco</i> (39); <i>Polihierax</i> (2); <i>Microhierax</i> (5)

Tabela 1. Classificação dos rapinantes diurnos segundo Ferguson-Lees e Christie (2001) e König e Weick (2008). (Conclusão)

Ordem	Família	Subfamília	Gênero (número de espécies)
Falconiformes	Herpetotheridae		<i>Spizapteryx</i> (1); <i>Herpetotheres</i> (1); <i>Micrastur</i> (6)
Strigiformes	Strigidae	Asioninae	<i>Asio</i> (8); <i>Nesasio</i> (1); <i>Pseudoscops</i> (1)
		Surniinae	<i>Glaucidium</i> (25); <i>Ninox</i> (25); <i>Taenioglaux</i> (9); <i>Athene</i> (6); <i>Aegolius</i> (4); <i>Micrathene</i> (1); <i>Sceloglaux</i> (1); <i>Surnia</i> (1); <i>Uroglaux</i> (1); <i>Xenoglaux</i> (1)
		Striginae	<i>Otus</i> (51); <i>Megascops</i> (27); <i>Bubo</i> (25); <i>Strix</i> (24); <i>Pulsatrix</i> (4); <i>Ptilopsis</i> (2); <i>Psiloscopus</i> (1); <i>Pyrroglaux</i> (1); <i>Gymnoglaux</i> (1); <i>Jubula</i> (1); <i>Lophostrix</i> (1); <i>Mimizuku</i> (1)
	Tytonidae	Phodilinae	<i>Phodilus</i> (2)
		Tytoninae	<i>Tyto</i> (25)

Fonte: Joppert (2014).

A ordem Strigiformes possui duas famílias, Tytonidae e Strigidae, nelas estão distribuídas as espécies de corujas, aves de rapina de hábito noturno. Estes animais são cosmopolitas, com espécies de porte pequeno a médio, de cabeça grande e olhos voltados para frente, bico com curvatura na extremidade e com ceroma, estas aves possuem uma plumagem frouxa e críptica, podendo ter diversos tons de marrom, cinza e branco, o voo é silencioso devido à presença de uma estrutura serrilhada na borda externa das penas primárias que se localizam mais externamente, os pés desses animais possuem garras bem desenvolvidas e artelho externo reversível (ORR, 1986).

A família Tytonidae reúne um total de 27 espécies de corujas distribuídas em duas subfamílias, Tytoninae e Phodilinae, a primeira contém 25 espécies pertencentes ao gênero *Tyto*, e a segunda, possui duas espécies do gênero *Phodilus*. As aves do gênero *Tyto*, apresentam disco facial em formato de coração, possuem a margem externa da primária mais lateral com serrilhas, olhos pequenos e escuros, bico e pernas longas, dedos cobertos por cerdas e a garra mediana pectinada. As corujas do gênero *Phodilus*, possuem olhos grandes, maiores que os das suindaras, suas pernas são mais curtas e seus tarsos são emplumados (KÖNIG; WEICK, 2008).

Na família Strigidae estão incluídas as corujas de disco facial arredondado (mochos e caburés). São animais de tamanho muito variável, plumagem macia e muitas espécies possuem um topete sobre a cabeça, de hábito crepuscular a noturno, a única diferença visível entre os sexos é o tamanho, geralmente as fêmeas são maiores que os machos. Esta é uma família cosmopolita e muito diversificada, são conhecidas um total de 223 espécies (TABELA 2) (KÖNIG; WEICK, 2008; SICK, 1997).

3 RAPINANTES NO BRASIL

A fauna brasileira de vertebrados é estimada em sete mil espécies (LEWINSOHN; PRADO, 2005) e, de acordo o Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos – CBRO (2014), somente as aves somam 1901 (27,15%). Ao se comparar este número ao total de espécies de aves existentes em todo o mundo, estimado em 9021, pode-se observar que 21,07% destas localizam-se em território brasileiro. Quando comparado à América do Sul, a porcentagem de espécies brasileiras aumenta ainda mais, chegando a somar 61,32% (1901/3100) (ERIZE; MATA; RUMBOLL, 2006; SICK, 2001).

De acordo com Sick (2001), a América Latina é a região mais rica em aves de rapina no mundo e também a que menos estuda estes animais. Segundo o Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio (2008), as espécies de rapinantes totalizam 486 em todo o globo, e de acordo com o CBRO (2014), 18,31% (89/486) destas ocorrem ou visitam o Brasil. As espécies de rapinantes brasileiros segundo o CBRO encontram-se distribuídos na Tabela 2.

Tabela 2. Espécies de rapinantes brasileiros segundo o CBRO (2014) e classificação taxonômica segundo Ferguson-Lees e Christie (2001) (Continua).

Ordem	Família	Gêneros (número de espécies)
Accipitriformes	Accipitridae	<i>Buteo</i> (5); <i>Accipiter</i> (4); <i>Spizaetus</i> (3); <i>Buteogallus</i> (2); <i>Circus</i> (2); <i>Geranoaetus</i> (2); <i>Harpagus</i> (2); <i>Ictinia</i> (2); <i>Leptodon</i> (2); <i>Leucopternis</i> (2); <i>Parabuteo</i> (2); <i>Pseudastur</i> (2); <i>Urubitinga</i> (2); <i>Amadonastur</i> (1);

Tabela 2. Espécies de rapinantes brasileiros segundo o CBRO (2014) e classificação taxonômica segundo Ferguson-Lees e Christie (2001) (Conclusão).

Ordem	Família	Gêneros (número de espécies)
Accipitriformes	Accipitridae	<i>Busarellus</i> (1); <i>Chondrohierax</i> (1); <i>Elanoides</i> (1); <i>Gampsonyx</i> (1); <i>Geranospiza</i> (1); <i>Harpia</i> (1); <i>Helicolestes</i> (1); <i>Heterospizias</i> (1); <i>Morphnus</i> (1); <i>Rostrhamus</i> (1); <i>Rupornis</i> (1)
	Pandionidae	<i>Pandion</i> (1)
Falconiformes	Daptriidae	<i>Caracara</i> (2); <i>Milvago</i> (2); <i>Daptrius</i> (1); <i>Ibycter</i> (1)
	Herpetotheridae	<i>Micrastur</i> (6); <i>Herpetotheres</i> (1)
	Falconidae	<i>Falco</i> (7)
Strigiformes	Strigidae	<i>Megascops</i> (6); <i>Asio</i> (3); <i>Glaucidium</i> (3); <i>Strix</i> (3); <i>Pulsatrix</i> (2); <i>Aegolius</i> (1); <i>Athene</i> (1); <i>Bubo</i> (1); <i>Lophostrix</i> (1)
	Tytonidae	<i>Tyto</i> (1)

Fonte: Joppert (2014).

3.1 PRINCIPAIS ESPÉCIES EM RISCO DE EXTINÇÃO

A maior parte dos rapinantes brasileiros é pertencente à família Accipitridae, fato decorrente devido às inúmeras espécies nela incluídas, sendo que muitas delas encontram-se na Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção. A grande diversidade de espécies nesta família pode ser uma das explicações para este fato. Outra família que também aparece na lista de animais ameaçados é a Strigidae. Vale salientar que as espécies caracterizadas como ameaçadas, independente da classificação que apresente (criticamente em perigo, em perigo, vulnerável ou extinta na natureza), estão protegidas de modo integral, tornando-se ilegal a captura, armazenamento, guarda, transporte, beneficiamento, manejo e venda desses animais, necessitando de autorização do ICMBio para a utilização destes para fins de pesquisa ou conservação (PORTARIA Nº - 444, DE 17 DE DEZEMBRO DE 2014).

Aparecem na lista de fauna brasileira ameaçada, seis accipitrídeos, considerados em situação “vulnerável”, *Amadonastur lacernulatus* (gavião-pombo-pequeno), *Morphnus guianensis* (uiraçu-falso), *Harpia harpyja* (gavião-real), *Circus cinereus* (gavião-cinza), e “em

perigo”, *Leptodon forbesi* (gavião-de-pescoço-branco) e *Urubitinga coronata* (águia-cinzenta). As duas espécies de estrigídeos que estão ameaçadas e caracterizadas como “vulneráveis”, são: *Pulsatrix perspicillata pulsatrix* (murucututu) e *Strix huhula albomarginata* (coruja-preta) (PORTARIA Nº - 444, DE 17 DE DEZEMBRO DE 2014).

Gavião-pombo-pequeno, gavião-cinza e águia-cinzenta, aparecem como espécies ameaçadas desde 1989. Gavião-real e uiraçu-falso, também entraram na lista deste mesmo ano, porém não foram incluídos no ano de 2003, depois voltaram a ser citados em 2014. Outros, como tauató-pintado, falcão-de-peito-vermelho, gavião-pombo-grande e gavião-pato saíram da situação de espécie ameaçada. Contudo, apenas uma espécie de rapinante é tida como extinta no mundo, apesar de ter sido catalogada há pouco tempo, na família Strigidae, a espécie *Glaucidium mooreorum* (caburé-de-pernambuco) (CBRO, 2014; INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 003, DE 26 DE MAIO DE 2003; PORTARIA IBAMA Nº 1.522, DE 19 DE DEZEMBRO 1989; PORTARIA Nº - 444, DE 17 DE DEZEMBRO DE 2014).

4 HÁBITOS ALIMENTARES DOS RAPINANTES

Ao se observar as fontes ou formas de obtenção de alimento das aves de rapina, pode se constatar que estas são muito variadas, mesmo animais que sejam reconhecidos por manter um padrão em sua alimentação, esporadicamente, podem procurar outras fontes de alimento não tão comuns a sua dieta (DEL HOYO; ELLIOTT; SARGATAL, 1994; ICMBIO, 2008).

Os acipitrídeos, titonídeos e estrigídeos apresentam dieta muito semelhante. Os acipitrídeos ingerem pequenos invertebrados, como formigas, caranguejos, gafanhotos, caramujos aquáticos, vespas, percevejos, cupins e aranhas, mas algumas espécies podem ingerir ainda vertebrados, como répteis, roedores, anfíbios, peixes, e ocasionalmente, frutas ou carniça. Espécies como *Geranospiza* sp. e *Spizaetus* sp. capturam morcegos, enquanto que *Urubitinga* sp. alimenta-se de serpentes. Nos titonídeos, a suindara (*Tyto furcata*), apresenta alimentação composta por pequenos roedores, marsupiais, morcegos, répteis, anfíbios, pequenas aves (pardais) e insetos (besouros). A maioria dos estrigídeos alimentam-se de insetos, como as baratas, gafanhotos, besouros, entre outros, podendo sua dieta ser complementada pela predação de morcegos, ratos, gambás, lagartos, rãs e outras aves. Uma característica marcante das corujas é a eliminação de ossos e pelos das presas, estes são regurgitados ficando em formas de bolas de pelos ou bolos alimentares próximo aos seus ninhos. Desta forma, as partes não digeríveis eliminadas podem contribuir para avaliação das espécies de pequenos animais

silvestres local por meio da análise dos ossos (MOOJEN, 1943).

Em relação à alimentação dos pandionídeos, estes possuem hábito fortemente piscívoro, contudo existem relatos destes animais capturando outras aves ou até mesmo mamíferos. Como auxílio na captura dos peixes, estas aves desenvolveram algumas peculiaridades em seus pés. Há a presença de espículos nas plantas de seus pés, outras adaptações são as garras muito recurvadas e dedo externo reversível, assemelhando-se ao das corujas, este ajuda o hálux a segurar mais firmemente a presa lisa e escorregadia na hora da captura, devido a sua alimentação. Estes indivíduos são mais facilmente avistados em regiões com grandes coleções de água como lagos, estuários, grandes rios, e próximo à costa (CBRO, 2014; SICK, 2001).

Os falconídeos, em sua maior parte, alimentam-se preferencialmente de outras aves. Porém, espécies como *Daptrius ater* (gavião-de-anta), possui alimentação diferenciada, nas praias da Amazônia esta ave costuma alimentar-se dos ovos de tartarugas e tracajás. Esta mesma espécie e, provavelmente *Milvago* sp., fazem a retirada de ectoparasitos de outros animais silvestres, há relatos de *Daptrius ater* estabelecendo uma curiosa relação com *Tapirus terrestres* (anta), onde a ave consome os carrapatos que parasitam o mamífero. O gênero *Herpetotheres* sp., também possui aves de hábito alimentar peculiar, estes animais tem certa preferência em caçar morcegos e cobras (principalmente as corais, tanto as falsas, quanto as verdadeiras). Outras fontes de alimento como frutas, detritos e carcaças frescas, bem como insetos (cupins e larvas de marimbondos) são tidas como essenciais para *Milvago* sp., *Daptrius* sp., e *Caracara* sp. (SAZIMA; ABE, 1991; SICK, 2001).

5 PAPEL BIOLÓGICO DOS RAPINANTES

Devido a sua alimentação diversificada, os rapinantes desempenham importantes papéis ecológicos, tanto como regulando o crescimento populacional de pequenos vertebrados e invertebrados, como na dispersão de sementes (ICMBIO, 2008).

Apesar das aves de rapina serem reconhecidas como carnívoras, algumas espécies como gavião-tesoura (*Elanoides forficatus*) e gavião carrapateiro (*Milvago chimachima*), entre outras, alimentam-se também de frutas e sementes. As famílias Tytonidae, Strigidae e Herpetotheridae, apresentam hábito exclusivamente carnívoro, deste modo, estas aves controlam as populações de pequenos vertebrados, como pequenos mamíferos, aves, répteis, e/ou ainda de pequenos invertebrados (CBRO, 2014; JOPPERT, 2014; SICK, 2001).

De modo geral, o hábito frugívoro de algumas aves é extremamente importante para a manutenção do equilíbrio entre as comunidades animais e vegetais (FADINI; MARCO

JUNIOR, 2004). Os dispersores de sementes retiram as sementes das proximidades das plantas-mães, onde muitos insetos e/ou mamíferos transitam, podendo vir a alimentar-se delas, levando-as para locais mais distantes, aumentando as chances delas virem a se desenvolver (AUGSPURGER, 1984; HOWE; PRIMACK, 1975; JANZEN et al., 1976).

Além das relações exercidas com as plantas, alguns rapinantes ainda fazem o controle de ectoparasitos em alguns mamíferos. Caso de *Mivalgo* sp. e *Daptrirus ater*, que consomem os carrapatos e os bernes que parasitam o gado e a anta, esta interação torna-se importante, pois esses ectoparasitos podem conter diversos microrganismos causadores de doenças, que podem ser transmitidos tanto entre os animais, quanto destes para o homem (SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE, 2013; SICK, 2001).

As corujas têm como principal componente de suas dietas os roedores, podendo compor cerca de 90% desta. Sabe-se que nas cidades brasileiras, as corujas suindaras consomem roedores das espécies *Rattus rattus* (ratos-de-casa), *Rattus norvegicus* (ratazanas) e *Mus musculos* (camundongos), estes animais são tidos como problemáticos, pois competem diretamente com o homem por alimento, atacando culturas ou produtos armazenados (SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE, 2013). Estes roedores ainda podem transmitir patógenos para o homem e para outros animais. A Organização Mundial da Saúde cita cerca de 200 doenças que podem ser transmitidas por esses animais, tais como a leptospirose, tifo, peste bubônica, entre outras (INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE DOUTOR RICARDO JORGE, 2014; SICK, 2001).

Devido ao fato dos rapinantes estarem no topo da cadeia alimentar, por muito tempo assumiram o papel de indicadores de contaminação e acúmulo de substâncias nocivas, tais como agrotóxicos (DDT e Aldrin). Durante a década de 1960, o falcão peregrino (*Falco peregrinus*) teve uma grande redução de sua população, com a diminuição do uso destas substâncias a quantidade destes animais voltou a crescer, fazendo com que esta espécie pudesse se recuperar. No Brasil pouco se sabe sobre o real número destes animais, bem como os efeitos dos agrotóxicos nestes, mesmo assim o país é o maior consumidor de agrotóxicos do mundo (ICMBIO, 2008; RIGOTTO; VASCONCELOS; ROCHA, 2014).

O avanço da ocupação humana desordenada fez com que muitas espécies silvestres perdessem parte de seu hábitat, tornando limitados os recursos naturais essenciais para a sua permanência e sobrevivência nestes locais (CARVALHO-FILHO; CARVALHO; CARVALHO, 1998). Essas alterações no ambiente reduziram a distância entre as áreas que não sofreram interferência humana, das áreas antropizadas (zonas rurais e urbanas), onde

comumente se criam animais domésticos (pintinhos, frangos, pombos, entre outros), gerando disponibilidade de presas não naturais. Quando há ausência ou redução das presas naturais dos rapinantes, estes animais passam a se alimentar das presas domésticas, fazendo com que o produtor entenda estas aves como animais problema e tente eliminá-las (ICMBIO, 2008; SICK, 2001).

Apesar disso, por fazerem o controle do crescimento populacional, espécies que possuem potencial prejudicial às criações domésticas, as aves de rapina são benéficas tanto para o ambiente de floresta quanto para o meio antropozado (SICK, 2001).

6 FALCOARIA: TÉCNICA MILENAR E SUAS APLICAÇÕES NA ATUALIDADE

A falcoaria é considerada uma arte de caça originária no Oriente, onde os primeiros locais em que suas práticas ocorreram foram os vales dos rios Tigres e Eufrates, cerca de 4000 anos atrás. Mas somente a partir do século XII que os primeiros tratados sobre esses animais, produzidos pelo árabe Maomim e o persa Ghatrif, começaram a ser traduzidos para as línguas orientais, continham técnicas de adestramento, caça, informações relacionadas à medicina veterinária, farmacologia e botânica (GUEDES; CRESPO, 2015).

O uso destas aves para a caça exigia treinamento próprio, onde durante a realização desta atividade utilizavam-se do auxílio de cães e/ou furões para a localização, perseguição e captura das presas (FERREIRA, 2006).

Para o processo de domesticação, os rapinantes eram primeiramente capturados na natureza, passando posteriormente por processo de amansamento, até que ficassem habituados a comer na mão do falcoeiro. A partir daí, começava-se o treinamento de voos curtos, retornando para o punho do falcoeiro, utilizando o alimento como fator condicionante. Atualmente, a altanaria é muito praticada nos Emirados Árabes. Esta prática é tão importante para a região, que em 2011 foi inaugurado o Abu Dhabi Falcon Hospital, o único hospital para aves de rapina do mundo, que conta com médicos veterinários especialistas em diversas áreas da medicina veterinária. Em 2010, a UNESCO classificou a falcoaria como Patrimônio Imaterial da Humanidade (GUEDES; CRESPO, 2015).

Além da aplicação para a caça, as técnicas de falcoaria podem ter outras utilidades. Em trabalho realizado por Nogueira, Oliveira e Fedullo (2015), foi proposto o uso destas técnicas para a reabilitação de um gavião-caboclo (*Heterospizias meridionalis*), encontrado atropelado e resgatado com diversas fraturas. Esses autores, afirmam que o tipo de tratamento veterinário dado a esses animais compromete os hábitos naturais dos mesmos, sendo a falcoaria uma

alternativa para a recuperação e fortalecimento da musculatura das asas e da capacidade de voo, possibilitando assim o retorno deste para a natureza.

Outra aplicação para as técnicas de falcoaria seria na redução do risco aviário em aeroportos. Um dos grandes problemas enfrentados pela aviação civil e militar na atualidade é a presença de aves nos aeroportos, aumentando consideravelmente o risco de colisão destes com as aeronaves, representando um risco tanto para as aves quanto para a tripulação (DOLBEER, 2006). Os aeroportos são locais muito atrativos para as aves, isso ocorre devido a apresentarem muitos recursos disponíveis para esses animais, principalmente para as espécies mais adaptadas ao ambiente urbano (MARATEO et al., 2011).

As aves treinadas monitoram as pistas de pousos e decolagem, afugentando muitas espécies de aves que os reconhecem como predadores. Aeroportos muito movimentados utilizam a falcoaria como técnica de prevenção de acidentes, no Brasil, alguns aeroportos, como o Aeroporto Carlos Drummond de Andrade/Pampulha e o Aeroporto Internacional Tancredo Neves/Confins em Belo Horizonte, e o Aeroporto Internacional Tom Jobim/Galeão no Rio de Janeiro, entre outros, também utilizam esta técnica como forma de prevenção contra acidentes aéreos (MAMEDE FILHO, 2016).

7 ANATOMIA E MORFOLOGIA DO TUBO DIGESTÓRIO DOS RAPINANTES

As aves de rapina possuem muitas variações em diversos aspectos, como as adaptações nos bicos e nos pés, que as tornam especializadas para a forma pela qual se alimentam e se locomovem, a estrutura do trato digestório que está relacionada ao tipo de dieta e a morfologia das asas retrata as peculiaridades do voo de cada espécie. Porém, apesar destas variações, a estrutura corpórea desses animais difere pouco entre as espécies, sendo mais uniforme quando comparada aos mamíferos (POUGH; JAINS; HEISER, 2008).

Com relação ao trato digestório desses animais, este possui muitas modificações, algumas das quais se relacionam com a adaptação dos membros peitorais para o voo, impedindo que estes auxiliem na captura de suas presas, ficando os bicos e os pés responsáveis por tal tarefa. A redução do tamanho e peso deste sistema é outra modificação que favorece o voo, deixando estes animais mais leves, devido ao curto trato digestório (GODOY, 2017; POUGH; JAINS; HEISER, 2008).

As aves não possuem dentes, estes foram substituídos pelo bico. Desta forma, como não ocorre redução das partículas de alimento na cavidade oral, este é engolido inteiro, vindo a

sofrer redução no seu tamanho na moela ou ventrículo (GODOY, 2017; ORR, 1986). Dessa maneira, o sistema digestório das aves é composto por bico, orofaringe, língua esôfago, inglúvio ou papo, estômago glandular ou pró-ventrículo, moela, intestino delgado, intestino grosso (cecos, reto e cloaca), além das glândulas anexas, fígado e pâncreas (BOARO, 2009; FRAGA, 2013; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

Além da ausência dos dentes, as aves também não apresentam lábios, não existindo também glândulas labiais na cavidade oral, bem como as glândulas intermaxilares, no entanto, há a presença das glândulas sublinguais (ORR, 1986).

Nos rapinantes, o bico tem como função arrancar pequenos pedaços das carcaças para que possam ser engolidos e, em algumas espécies de falcões possui formato curvo, pode ser utilizado para o abate das presas. No gênero *Falco*, existe uma projeção pontiaguda na extremidade da maxila superior, chamada dente tomial. Nos gaviões, corujas e águias, o abate das presas é feito pelas garras (ICMBIO, 2008; POUGH; JAINS; HEISER, 2008).

Devido ao fato das aves não terem palato mole e nenhuma outra estrutura que faça a separação da cavidade oral da faringe, estas se juntam dando origem a orofaringe. Esta cavidade estende-se da borda interna do bico até a entrada do esôfago. Em seu teto, está localizado o palato, que possui uma fenda longitudinal denominada coana, esta faz a comunicação da cavidade oral com a cavidade nasal, caudalmente a ela, existe outra fenda chamada infundibular, nela estão presentes as aberturas das tubas auditivas. No assoalho da cavidade oral estão localizadas a mandíbula, a língua e a elevação faríngea (DYCE; SACK; WENSING, 2004).

A língua dos rapinantes é de formato triangular, compõe-se de musculatura estriada esquelética, recoberta por um epitélio estratificado pavimentoso contínuo com o restante da mucosa da cavidade oral (BOARO, 2009), em sua base tem início à elevação faríngea, esta possui uma fenda medial denominada glote (DYCE; SACK; WENSING, 2004).

Na orofaringe há a presença de inúmeras papilas mecânicas localizadas em suas paredes, podendo ser observadas individualmente ou formando fileiras transversais, estão orientadas caudalmente, tendo como função o direcionamento do alimento para o esôfago, estão presentes em toda submucosa desta região as glândulas salivares (DYCE; SACK; WENSING, 2004; ROMÃO, 2011).

O esôfago comunica a orofaringe com o proventrículo, transportando o alimento entre essas estruturas. Este órgão possui formato cilíndrico, grande capacidade de distensão e na sua camada mucosa existem glândulas mucosas que secretam substâncias lubrificantes para facilitar a passagem do bolo alimentar (PENZ; MAGRO, 1998).

Segundo Pough, Jains e Heiser (2008), frequentemente as aves podem ingerir grandes quantidades de alimento em um curto período de tempo, se este não puder ser processado rapidamente, fica armazenado no esôfago, devido a isso, alguns destes animais desenvolveram uma dilatação neste órgão, denominada papo ou inglúvio, estrutura esta, especializada na armazenagem de alimento. Nas espécies granívoras e herbívoras, o papo auxilia na digestão dos alimentos, pois nele ocorre a hidratação e amolecimento da ingesta, facilitando a fragmentação desta nos próximos órgãos do trato digestório (GODOY, 2017).

No papo não existem glândulas digestivas, logo não ocorre digestão nele (ORR, 1986). Com o alimento ficando retido neste órgão, as aves que possuem filhotes, podem fazer transporte deste para alimentá-los por meio da regurgitação (POUGH; JAINS; HEISER, 2008).

O estômago das aves é dividido em duas porções distintas, uma glandular, o proventrículo, e outra muscular, a moela (ORR, 1986). Porém, a morfologia deste órgão possui variações entre as espécies, devido ao tipo de alimento às quais ingerem. Nas aves carnívoras e piscívoras, há a necessidade de expansão deste órgão para acomodar grandes volumes de alimento, enquanto as que consomem insetos ou sementes necessitam de um órgão muscular para auxiliar na trituração mecânica da ingesta (POUGH; JAINS; HEISER, 2008). Desta forma, tanto o proventrículo quanto o ventrículo podem possuir tamanhos diferentes dependendo do hábito alimentar do animal (GODOY, 2017).

No proventrículo tem início a digestão química, que ocorre por meio da secreção de suco gástrico, composto de enzimas digestivas (pepsina) e ácido clorídrico, e secreção de muco, todas essas substâncias são secretadas pelas células da parede deste órgão (GODOY, 2017; ITO, 1997; ROMÃO, 2011). A mucosa possui coloração esbranquiçada, o epitélio é do tipo colunar, ainda existem muitas elevações macroscópicas, denominadas papilas, onde passam os ductos coletores da camada de glândulas (DYCE; SACK; WENSING, 2004). Na junção deste órgão com o ventrículo há uma constrição, denominada istmo (ROMÃO, 2011).

As substâncias secretadas pelas células do epitélio do proventrículo têm funções distintas. A secreção de muco, composto de água, glicoproteínas e lipídeos, se adere firmemente ao glicocálice destas células protegendo-as dos efeitos do baixo pH deste local, estas mesmas células secretam bicarbonato, este forma um gradiente de pH, sendo de 1 na superfície mais luminal e de 7 na superfície celular, auxiliando ainda mais na barreira de proteção (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). O ácido clorídrico ajuda na digestão fazendo a conversão do pepsinogênio, em pepsina ativa, este ácido também auxilia na absorção de ferro, cálcio, vitamina B12 e alguns medicamentos, como também evita o crescimento bacteriano exagerado.

A pepsina é uma enzima que possui ação proteolítica secretada pelas células pépticas, liberada na forma inativa, vindo a se tornar ativa na luz do órgão (CHU; SCHUBERT, 2012; SCHUBERT, 2000).

A moela das aves é o órgão responsável pela trituração mecânica dos alimentos, onde podem ser encontradas pedras ou areia em seu interior, ingeridas intencionalmente para auxiliar na moagem do alimento ingerido. Dessa maneira, este órgão assume função semelhante à realizada pelos dentes dos mamíferos. Além de triturar o alimento, este órgão possui outras funções, como a estocagem e continuidade da digestão química do alimento, iniciada no proventrículo, enquanto é triturado (POUGH; JAINS; HEISER, 2008; ROMÃO, 2011).

A moela possui forma biconvexa e divide-se em três porções, a porção proximal ou corpo, e os sacos cegos craniodorsal e cranioventral. Na região do corpo há a presença de pregas longitudinais, nos sacos cegos as pregas são longitudinais e transversais. Há ainda a presença de uma membrana interna ou cutícula que recobre internamente esse órgão, sendo espessa na região do corpo e delgada nos sacos cegos, esta membrana compõe-se de proteínas e glicídios, é segregada pelas células da mucosa e possui consistência rígida, assemelhando-se à queratina. Este órgão é composto por quatro músculos lisos, os músculos laterais dorsal e ventral, estão localizados no corpo, são espessos e suas fibras possuem disposição circular, nos sacos cegos, estão presentes os músculos intermediários craniodorsal e caudoventral, são menos espessos e as fibras da camada mais interna, são longitudinais, e as da camada mais externa, são circulares (ROMÃO, 2011).

Os intestinos concentram-se na porção caudal da cavidade celomática, ventral ao sinsacro, estabelecendo contato com a moela e órgãos reprodutivos, tendo fim com a abertura para cloaca (DYCE; SACK; WENSING, 2004).

O intestino delgado, por meio da produção e liberação de enzimas, bem como as produzidas pelo pâncreas e a bile, potencializam a digestão química, fazendo com que o alimento possa ser degradado à pequenas moléculas podendo então ser absorvidas pelas células da parede intestinal. A mucosa deste órgão possui uma série de dobras, lamelas e vilosidades, as quais tem grande importância no aumento da área de superfície do órgão que fica em contato com o bolo alimentar (POUGH; JAINS; HEISER, 2008). Este órgão é formado por três porções: duodeno, jejuno e íleo (PIRLOT, 1976).

O duodeno compõe a primeira porção do intestino delgado, ao sair do contato da superfície direita da moela segue em direção caudal na cavidade celomática, compõe-se de duas alças formando um “U” que circunda o pâncreas, ao final deste, tem-se a porção final do duodeno, onde os ductos pancreáticos e hepáticos abrem-se. O jejuno se estende da porção final

do pâncreas indo até o divertículo vitelínico ou divertículo de Meckel, essa estrutura mais facilmente observada em aves jovens. O íleo corresponde à porção final do intestino delgado, sua delimitação é feita pelo divertículo vitelínico ou pelos vértices dos cecos, terminando na válvula íleo-ceco-cólica (GODOY, 2017; ROMÃO, 2011).

Segundo Fraga (2013), em análise histológica do intestino delgado de carcarás foi observado que a camada mucosa está presente em todas as porções, e que possui muitas vilosidades longas do tipo digitiformes compostas por epitélio colunar simples com a presença de enterócitos, células que tem como função a absorção dos nutrientes, de núcleos centrais, onde seu citoplasma apresentam projeções, formando as microvilosidades, que formam a borda em escova. Ainda segundo esse mesmo autor, entremado aos enterócitos há a presença das células caliciformes produtoras de muco.

O intestino grosso é composto pelos cecos e pelo cólon (ROMÃO, 2011). Os cecos estão localizados paralelos ao íleo, originam-se na junção íleo-cólica, geralmente as aves possuem duas destas estruturas. Entre as espécies de aves, os cecos possuem muitas variações, podendo ser volumosos ou rudimentares. De certa forma, o tamanho destes órgãos aparenta ter relação com os hábitos alimentares das aves, espécies carnívoras, insetívoras e granívoras, tem seus cecos de tamanho reduzido, nas espécies herbívoras ou onívoras, possuem estes órgãos mais desenvolvidos (GODOY, 2017; POUGH; JAINS; HEISER, 2008; ROMÃO, 2011). Sugere-se que ocorra a fermentação do material vegetal por microrganismos simbioses neste local (POUGH; JAINS; HEISER, 2008), devido a isto, as aves que ingerem grandes quantidades de matéria vegetal tem cecos maiores. De acordo com Godoy (2017), em algumas espécies ainda ocorre absorção de água e nitrogênio neste órgão, além deste atuar na imunomodulação.

Na região de origem de cada um dos cecos, há a presença de uma camada muscular, considerada como um esfíncter, ainda nesta mesma região, tem-se a presença de tecido linfoide, que da origem a uma estrutura denominada tonsila cecal (ROMÃO, 2011). Godoy (2017) cita que os cecos das corujas apresentam grande quantidade de glândulas.

De acordo com Silva (2016), os cecos de gaviões-carijós (*Rupornis magnirostis*), constituem-se de vilosidades, em pouca quantidade, sua luz é reduzida e sua camada mucosa é espessa devido à grande quantidade de tecido de sustentação (lâmina própria), que ainda conta com a presença de nódulos linfáticos com centros germinativos em grande quantidade.

O cólon/reto constitui a porção final do intestino grosso, este possui tamanho muito pequeno em aves como pombos e galinhas, representando cerca de três a quatro por cento do tamanho do intestino, e no avestruz pode compor 50% do comprimento do intestino (GODOY,

2017). Seu início se dá a partir da porção final do íleo, estendendo-se até o coprodeu na cloaca (MORAN JUNIOR, 1982). A principal função deste órgão é a absorção de água e eletrólitos, bem como o estoque do material a ser excretado (BOARO, 2009).

Segundo Fraga (2013), o reto nos carcarás (*Caracara plancus*), possui pregas longitudinais de onde saem vilosidades digitiformes compostas por enterócitos e pelas células caliciformes. Nestes animais não são observadas células de Paneth, a lâmina própria apresenta tecido conjuntivo do tipo frouxo contendo muitos linfócitos e outras células da imunidade, e a camada muscular possui uma única camada de fibras musculares dispostas em sentido longitudinal.

A cloaca compõe a porção final do tubo digestório das aves, esta região tem comunicação com os sistemas digestório, urinário e reprodutor (MORAN JUNIOR, 1982). Este órgão divide-se em três partes: urodeu, coprodeu e proctodeu, relacionados com o sistema urogenital, digestório e bolsa de Fabricius (GODOY, 2017). Este órgão faz o estoque temporário de material fecal, enquanto a água deste é reabsorvida e devolvida à circulação sanguínea. Com a reabsorção da água da urina, ocorre a precipitação do ácido úrico, assumindo a forma de uratos (POUGH; JAINS; HEISER, 2008).

O coprodeu é a porção mais cranial da cloaca, nela se acumulam as fezes, separa-se do cólon/reto por meio de uma prega anular, muito semelhante a um esfíncter. O urodeu, porção seguinte, é curto e apresenta duas pregas, a coprourodeal e a urodeoproctodeal, que o separam das outras porções. Neste local abrem-se os ureteres na parede dorsolateral do órgão e, abaixo deste, têm-se as papilas, onde desembocam os ductos deferentes no macho, que também apresentam um corpo vascular que contém linfa, que auxilia na intumescência na ereção do pênis. Nas fêmeas, próximo ao ureter esquerdo, abre-se em uma fenda larga ventrolateral, o oviduto esquerdo. O proctodeu compõe a porção mais caudal da cloaca, seu término ocorre no orifício cloacal, nesta região está presente a abertura para bolsa cloacal (bolsa de Fabricius), estrutura de tecido linfoide mais desenvolvida em animais jovens, caudal a bolsa, existem glândulas mucosas associadas a tecido linfoide, denominadas glândulas proctodeais, distribuídas dorsolateralmente (ROMÃO, 2011).

De acordo com Silva (2016), a mucosa da cloaca dos gaviões-carijós compõe-se por duas porções distintas de epitélio. Em sua porção inicial, o epitélio é estratificado colunar, tornando-se estratificado pavimentoso na sua região mais distal, vindo a apresentar queratinização próximo à transição com a pele, apenas neste órgão a camada submucosa está presente. Segundo Fraga (2013), nas cloacas de carcarás, há presença de glândulas mucosas que reduzem gradualmente sua quantidade ao se aproximar da região distal; a submucosa compõe-

se por tecido conjuntivo denso não modelado, com presença de vasos sanguíneos; a camada muscular possui fibras musculares orientadas em dois sentidos, as mais internas em sentido circular, formando uma camada espessa, e as mais externas, dispostas longitudinalmente, originando uma camada delgada e a serosa é composta por mesotélio, tecido adiposo e vasos sanguíneos calibrosos.

8 AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo e Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelo apoio financeiro.

9 REFERÊNCIAS

AUGSPURGER, C. K. Seedling survival of tropical tree species: interactions of dispersal distance, light-gaps, and pathogens. **Ecology**, v. 65, p. 1705-1712, 1984.

BOARO, M. Morfofisiologia do trato intestinal. In: Conferência Facta de ciência e tecnologia avícolas, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre, RS: FACTA, p. 261-274, 2009.

BRASIL. Instrução Normativa nº 003, de 26 de maio de 2003. **Ministério do Meio Ambiente**. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/179/_arquivos/179_05122008034002.pdf>. Acesso em: 22 de novembro de 2017.

_____. Portaria IBAMA nº 1.522, de 19 de dezembro 1989. **Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA**. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/179/_arquivos/lista_1989.pdf>. Acesso em: 22 de novembro de 2017.

_____. Portaria nº - 444, de 17 de dezembro de 2014. **Diário Oficial União**, Brasília, 18 dez. 2014. Seção 1, p. 121.

BROWN, L. **Birds of prey**. 2. ed. London: Chancellor Press, 1997. 256 p.
CARVALHO-FILHO, E. P. M.; CARVALHO, C. E. A.; CARVALHO, G. D. M. Descrição da nidificação de *Micrastur semitorquatus* (Falconiformes: Falconidae) no interior de uma habitação rural, no município de Sete Lagoas-MG. **Atualidades Ornitológicas**, n. 86, p. 12, 1998.

CHU, S.; SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 28, n. 6, p. 587-593, 2012.

- CBRO - COMITÊ BRASILEIRO DE REGISTROS ORNITOLÓGICOS. **Listas das aves do Brasil**. 11. ed. 2014. Disponível em: <<http://www.cbro.org.br>>. Acesso em: 12 de outubro de 2018.
- DEL HOYO, J.; ELLIOTT, A.; SARGATAL, J. **Handbook of the birds of the world: new world vultures to guineafowl**. v. 2. Barcelona: Lynx Edicions, 1994. 638 p.
- DOLBEER, R. A. Height distribution of birds as recorded by collisions with civil aircraft. **USDA National Wildlife Research Center – Staff Publications**, v. 70, p. 1345–1350, 2006.
- DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 840 p.
- ERIZE, F.; MATA, J. R. R.; RUMBOLL, M. **Birds of South America non-passerines: rheas to woodpeckers**. Princeton: Princeton University Press, 2006. 371 p.
- FADINI, R. F.; MARCO JUNIOR, P. M. Interações entre aves frugívoras e plantas em um fragmento de mata atlântica de Minas Gerais. **Ararajuba**, v. 12, n. 2, p. 97-103, 2004.
- FEDUCCIA, A. Birds of prey. In: _____. **The origin and evolution of birds**. 1. ed., London: Yale University Press, 1996. 420 p.
- FERGUSON-LEES, J.; CHRISTIE, D. A. **Raptors of the world**. New York: Houghton Mifflin, 2001. 992 p.
- FERREIRA, D. F. **A arte da caça de altaneria**. Lisboa: Livros Horizonte, 2006. 300 p.
- FRAGA, K. B. **Descrição morfométrica, análise parasitológica e histológica do intestino do carcará (*Caracara plancus*, Miller, 1777)**. 2013. 77f. Dissertação (Mestrado em Saúde Humana e Meio Ambiente) – Programa de Pós-graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente, Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2013.
- GODOY, M. F. **El sistema digestivo en diferentes especies de aves**. Disponível em: <<https://bionotas.files.wordpress.com/2014/09/sist-dig-diferentes-especiesaves.pdf>>. Acesso em: 28 de novembro de 2017.
- GRANZINOLLI, M. A. M. **Levantamento, área de vida, uso e seleção de hábitat de Falconiformes da região central do estado de São Paulo**. 2009. 224f. Tese (Doutorado em Ecologia) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- GUEDES, N. C.; CRESPO, C. **A arte da falcoaria de oriente a ocidente**. Lisboa: Fundação Oriente Museu, 2015. 88 p.
- HOWE, H. F.; PRIMACK, R. B. Differential seed dispersal by birds of the tree casearia nitida (Flacourtiaceae). **Biotropica**, v. 7, p. 278-283, 1975.
- ICMBIO - INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. **Plano de ação nacional para a conservação de aves de rapina**. 5. ed., Brasília: ICMBIO, 2008. 136 p.

INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE DOUTOR RICARDO JORGE. **Doenças associadas a artrópodes vetores e roedores**. Lisboa: Guide – Artes Gráficas Ltda, 2014. 186 p.

ITO, N. M. K. Fisiologia do Sistema Gastroentérico. In: **Patologia do Sistema Gastroentérico**: editado por Elanco Saúde Animal, 1997. p. 9-52.

JANZEN, D. H. et al. Two Costa-Rican bat-generated seed shadows of *Andira inermis* (Leguminosae). **Ecology**, v. 57, p. 1068-1075, 1976.

JOPPERT, A. M. Accipitriformes, Falconiformes e Strigiformes (gaviões, águias, falcões e corujas). In: CUBAS, Z. S.; RAMOS SILVA, J. C.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Silvestres: medicina veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2014. 2470 p.

JORDANO, P. Patterns of mutualistic interactions in pollination and seed dispersal: connectance, dependence asymmetries, and coevolution. **American Naturalist**, v. 129, p. 657-677, 1987.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 507 p.

KÖNIG, C.; WEICK, F. Owls of the world. In: CUBAS, Z. S.; RAMOS SILVA, J. C.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Silvestres: medicina veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2014. 2470 p.

LEWINSOHN, T. M.; PRADO, P. I. Quantas espécies há no Brasil?. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 36-42, 2005.

MAMEDE FILHO. **A arte milenar que ensina falcões a prevenir acidentes aéreos**. Lisboa: BBC Brasil, 2016. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/noticias/2016/01/160121_falcoaria_aviao_rm>. Acesso em: 28 de junho de 2018.

MARATEO, G. et al. Diagnóstico de riesgo aviario en un aeródromo de un Área Megadiversa de Perú. **Revista Conexão SIPAER**, v. 2, p. 203–227, 2011.

MOOJEN, J. **Captura e preparação de pequenos mamíferos para coleções de estudo**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1943. 98 p.

MORAN JUNIOR, E. T. Comparative nutrition of the fowl and swine. In: **The Gastrointestinal Systems**, University of Guelph, Guelph, Ontário, Canada, 1982.

NOGUEIRA, N. F.; OLIVEIRA, M. S.; FEDULLO, L. P. L. Emprego das técnicas de falcoaria na recuperação de falconiformes acidentados. In: Congresso da Sociedade de Zoológicos e Aquários do Brasil. **Anais...** Pomerode, SC, 2015.

ORR, R. T. **Biologia dos Vertebrados**. 5. ed., São Paulo: Roca Ltda., 1986. 508 p.

PENZ, A. M.; MAGRO, N. Granulometria de rações: aspectos fisiológicos. Simpósio sobre granulometria de ingredientes e rações para suínos e aves. **Anais...** Concórdia: EMBRAPA-

CNPSA, p. 1-12, 1998. PIRLOT, P. **Morfologia evolutiva de lós cordados**. Barcelona: Omega, 1976. 996 p.

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A vida dos vertebrados**. 4. ed., São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

REMSEN JUNIOR, J. V. et al. **A classification of the bird species of South America**. American Ornithologists' Union. 2013. Disponível em: <<https://www.museum.isu.edu/~Remsen/SACC-Baseline.html>>. Acesso em: 06 de junho de 2018.

RIGOTTO, R. M.; VASCONCELOS, D. P.; ROCHA, M. M. Uso de agrotóxicos no Brasil e problemas para a saúde pública. **Caderno de Saúde Pública**, v. 30, n. 7, p. 01-03, 2014.

ROMÃO, R. **Esplâncnologia nas aves**. Évora: Universidade de Évora, 2011. 19 p.

SANTOS, T.; TELLERIA, J. L. Influence of forest fragmentation on seed consumption and dispersal of Spanish Juniper *Juniperus thurifera*. **Biological Conservation**, v. 70, n. 2, p. 129-134, 1994.

SAZIMA, L.; ABE, A. S. Habits of five Brazilian snakes with coral-snake pattern, including a summary of defensive tactics. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 26, n. 3, p. 159-164, 1991.

SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 16, n. 6, p. 463-468, 2000.

SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE. **Caderno de Educação Ambiental: fauna urbana**. 17. ed. São Paulo: Imprensa Oficial do Estado de São Paulo, 2013. 216 p.

SIBLEY, C. G.; AHLQUIST, J. E. Phylogeny and classification of birds. In: CUBAS, Z. S.; RAMOS SILVA, J. C.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais silvestres: medicina veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2014. 2470 p.

SICK, H. **Ornitologia brasileira**. 2. ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. 912 p.

_____. **Ornitologia Brasileira**. 3. ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 2001. 912 p.

SILVA, E. F. A. **Análise microbiológica e morfológica do trato intestinal de gaviões carijós (*Rupornis magnirostris* Gmelin, 1788) provenientes do CETAS-IBAMA/PE**. 2016. 84f. Dissertação (Mestrado em Saúde Humana e Meio Ambiente) – Programa de Pós-graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente, Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2016.

A graphic element consisting of a light green shield-like shape with a dark green border. Inside the shield, the word "Capítulo" is written in a bold, black, sans-serif font, and the number "19" is written below it in a larger, bold, black, sans-serif font.

Produtos de higiene e embelezamento para uso veterinário

Suzana Gonçalves Carvalho¹
Elisabeth Maria López de Prado²
Caroline Teixeira Bonifácio³
Felipe Martins Pastor⁴
Maria Larissa Bitencourt Vidal⁵
Mayara Mezabarba Riva⁶
Rhaíra Nazário Ribeiro⁷
Thais Martins Silva⁸
Janaína Cecília Oliveira Villanova⁹

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: suzana2994@gmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: elisabeth.prado7@gmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: carolteixeira.bonifacio@hotmail.com

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: felipempastor@gmail.com

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: larissabvidal@gmail.com

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mayarariva@yahoo.com.br

⁷ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: rhanazario@hotmail.com

⁸ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: thais_andreanni@hotmail.com

⁹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: farmacotecnica@yahoo.com.br

1 INTRODUÇÃO

Segundo dados da ABINPET (Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação), o Brasil é o quarto país do mundo em população de animais de estimação, somando 52,2 milhões de cães e 22,1 milhões de gatos. De acordo com o IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), a taxa de crescimento de animais domiciliados é da ordem de 3% ao ano contra pouco mais de 1% do crescimento da população brasileira, conferindo ao Brasil o segundo lugar no número absoluto de cães e gatos. Em relação ao faturamento do mercado para pequenos animais de estimação (PETS), o Brasil ocupa a terceira posição mundial, com um faturamento de 18,9 bilhões de reais no ano de 2016 e crescimento de 4,9% em relação ao ano de 2015. Os produtos chamados pet care, isto é, para o cuidado dos

animais, correspondem a 8,1% do mercado pet total. Nessa categoria enquadram-se os produtos veterinários de higiene e beleza, dentre outros (ABINPET, 2018).

A higienização dos animais se faz necessária por motivos sanitários e estéticos. A superfície da pele animal, habitualmente, é revestida por produtos advindos da secreção das glândulas sebáceas e sudoríparas e, da descamação natural dos queratinócitos, originando os ácidos graxos. O suor e o sebo formam a emulsão epicutânea, naturalmente encontrada recobrando a pele, pelos e penas dos animais. Aderidas à esta emulsão se encontram partículas de sujidades, oriundas do meio ambiente e micro-organismos que naturalmente colonizam estas regiões. Além da colonização da microbiota normal, podem ocorrer bactérias patogênicas e subprodutos de infecção como soro, hemácias, leucócitos, exsudatos e células inflamatórias degeneradas. A persistência de todos esses componentes de forma duradoura pode levar à ocorrência de odores desagradáveis, à comprometimento da higidez tegumentar, e se constituir em potencial fonte de infecção para os humanos que convivem com o animal (LARSSON; LARSSON-JUNIOR, 2011).

Para tal, diversos produtos são desenvolvidos tanto para promover a higienização rotineira dos animais, como os cosméticos, quanto para tratar de afecções locais, como os medicamentos empregados na dermatologia veterinária. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), cosméticos ou Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes, são preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e ou corrigir odores corporais e ou protegê-los ou mantê-los em bom estado (BRASIL, 2000). Sendo assim, no presente capítulo dar-se-á ênfase na abordagem dos produtos de higiene e beleza de uso veterinário, sem deixar de fazer menção ao uso de produtos tópicos dermatológicos.

2 PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS RELATIVAS AO LOCAL DE APLICAÇÃO DOS PRODUTOS DE HIGIENE E BELEZA

2.1 PELE E PELOS

A pele é o maior órgão de todo o organismo, representando de 12 a 24% do peso do animal. Constituída por uma variedade de componentes teciduais e celulares, é de fundamental importância para manutenção do organismo. Forma uma barreira fisiológica entre o ambiente

interno do animal e o meio exterior, permitindo a manutenção da homeostase interna e protegendo contra agentes externos de natureza física, química e microbiana. Desempenha ainda, funções metabólicas e sensoriais. Os pelos, uma estrutura característica dos mamíferos, desempenham um papel importante na proteção, isolamento térmico e percepção sensorial. A pele e os pelos variam quantitativa e qualitativamente entre as diferentes espécies animais, entre as raças e também entre os indivíduos de uma mesma raça (LUCAS, 2008).

A epiderme é composta por várias camadas de queratinócitos em diferentes estados de diferenciação, sendo dividida, no sentido da derme para o meio externo, em camada basal, camada espinhosa, camada granulosa, camada lúcida (presente apenas em coxins palmo-plantares e narinas) e camada córnea. Além dos queratinócitos, a epiderme possui outros tipos celulares relacionados a função de proteção e defesa, como os melanócitos e as células de Langerhans e com funções táteis e sensitivas, como as células de Merkel. A derme é constituída por diferentes tipos celulares, nessa camada estão alojadas as glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas, os folículos pilosos, os músculos eretores de pelos, vasos sanguíneos, linfáticos e estruturas nervosas. Nos animais, a derme é subdividida em superficial e profunda. Seus constituintes proporcionam estruturação e arranjo arquitetônico da pele, além de participarem da adesão dermo-epidérmica e permitirem a comunicação entre as diferentes camadas do tecido. A hipoderme, camada mais profunda da pele, é também chamada de tecido celular subcutâneo ou de pânículo adiposo, sendo constituída basicamente por adipócitos, suas funções são: reserva, isolamento térmico, proteção mecânica contra traumatismos e facilitar o deslizamento da pele em relação aos tecidos subjacentes (LUCAS, 2008; PINHO; MONZON; SIMÕES, 2003).

Para o desenvolvimento e utilização de produtos de higiene e limpeza, é de especial importância conhecer algumas particularidades da camada mais externa da epiderme, a camada córnea, bem como dos pelos, folículos pilosos e glândulas anexas. A camada córnea é composta por algumas camadas de corneócitos (também denominadas queratinócitos) envoltos em uma matriz lipídica. Os corneócitos são constantemente perdidos por um processo de descamação e são repostos pela reprodução celular da camada basal da epiderme, mantendo a espessura da epiderme. Apresentam uma estrutura altamente queratinizada e impermeável em sua periferia, chamada de envelope celular, que oferece suporte estrutural às células, bem como proteção a invasão de microorganismos e agentes ambientais nocivos. Os corneócitos são cobertos por um filme formado por lipídeos intracelulares e secreções sebáceas. As células da camada córnea contêm concentração de lipídeos seis vezes maior que as da camada basal. Essas evidências sugerem que os lipídeos da superfície da pele de animais originam-se da epiderme,

diferentemente dos humanos, que se originam das glândulas sebáceas. A queratina intracelular, o envelope celular queratinizado e os lipídeos intracelulares tem importante papel na estabilidade estrutural e funcional da epiderme, com funções de coesão e proteção (LUCAS, 2008; PINHO; MONZON; SIMÕES, 2003).

Os pelos são característicos dos mamíferos, exercendo as mesmas funções protetoras da pele, além de termorregulação, proteção contra os raios solares e percepção sensorial. A coloração e brilho dos pelos estão relacionados à reflexão dos raios solares e à regulação térmica. A principal substância constituinte dos pelos é a queratina. Anexos ao folículo piloso estão a glândula sebácea e o músculo eretor do pelo. Há dois tipos de pelos, os primários e os secundários. Cada pelo primário possui uma glândula sebácea e um músculo eretor e emerge individualmente em um poro; já os pelos secundários são acompanhados apenas por uma glândula sebácea e emergem em grupos em um mesmo poro. Cada pelo primário é acompanhado por 5 a 20 pelos secundários. As diferenças entre as proporções e qualidades entre os dois tipos de pelos é que determinam os tipos de pelames observados nas diferentes raças de animais, independente da espécie. Felinos, caninos, caprinos, suínos e ovinos apresentam pelos primários e secundários; bovinos e equinos apresentam apenas pelos primários. O aspecto dos pelos sempre deve ser observado, uma vez que reflete o estado de saúde do animal (LUCAS, 2008).

Entre as características mais relevantes acerca da pele dos animais, destaca-se o pH. Estudos *in vitro* e *in vivo* comprovaram que o pH pode afetar o crescimento da microbiota da pele. Achados mais recentes mostram que o pH também influencia a barreira de permeabilidade da pele e o processo normal de queratinização. Foi demonstrado que um gradiente de pH normal é importante na restauração de barreiras no tecido, após um trauma. O pH tem papel importante no controle de enzimas envolvidas no processamento de lipídios e na adesão de corneócitos. Algumas enzimas presentes nos queratinócitos exibem maior atividade em pH ácido. A influência do pH também é demonstrada em estados patológicos. Algumas patologias estão associadas ao aumento do pH da pele, como dermatites atópica e seborreica. Em muitas doenças a patogênese da alcalinização não é clara, mas o pH mais alto provavelmente predispõe a pele a infecções secundárias. Supõe-se que à medida que o pH da pele se torna mais alcalino, ocorre coagulação de proteínas no estrato córneo, resultando em diminuição da estabilidade e da resistência à infecção (DLUJNEWSKY; JAVIER, 2014; MATOUSEK; CAMPBELL, 2002)

O pH cutâneo difere entre espécies e também dentro da mesma espécie. O pH da pele humana é relativamente ácido (4,0 a 4,9) em relação ao pH da pele de muitas espécies animais. Informações relativas ao pH cutâneo em animais ainda são escassas. Os valores variam

conforme a região anatômica, o tipo de manto piloso, a raça e o *status* sexual. O pH da pele canina difere da pele humana e tende a ser o mais alto das espécies de mamíferos. O pH comum para a pele canina é de 5,5 a 7,2, mas há registros de pH variando entre 4,84 e 9,95. Alguns autores também observaram maior faixa de pH cutâneo na área torácico-lombar dorsal de cães, em relação a outras áreas. Existem poucos relatos de faixas de pH cutâneo para gado. O pH mais baixo relatado é de 4,5 e o mais alto é 8.8. No gado, há uma diferença significativa nos níveis de pH entre os indivíduos e entre os locais anatômicos de um indivíduo. O pH mais alto foi encontrado no focinho, seguido pela teta e pelo úbere. A lactação pode afetar o pH cutâneo em bovinos, inclusive do úbere. Vacas lactantes por períodos inferiores a seis meses apresentaram menor pH na pele e pelos em relação a vacas em lactação por períodos superiores a seis meses (MATOUSEK; CAMPBELL, 2002).

Os produtos veterinários de higiene e limpeza devem respeitar as faixas fisiológicas de pH de cada espécie, uma vez que a alteração de pH pode modificar a permeabilidade da barreira epidérmica e o equilíbrio da microbiota cutânea. Deve-se observar que o pH da pele dos humanos não é o mesmo dos animais, portanto produtos de higiene para uso humano muitas vezes não são adequados para utilização veterinária (MAKINO et al., 2014). Cabe ressaltar que o conhecimento do pH dos produtos veterinários torna mais adequada a prescrição médico-veterinária para cada espécie e raça, pois as formulações de uso tópico podem alterar o pH fisiológico da pele, favorecendo ou inibindo o desenvolvimento microbiano na superfície tegumentar (MATTOS; LIMA, 2015).

O pH da pele resulta de uma combinação de substâncias liberadas pelas células, pelas glândulas sebáceas e sudoríparas. A presença de moléculas ácidas e alcalinas forma um sistema de tamponamento que mantêm o pH da pele dentro de um intervalo normal. A maioria das informações sobre as origens do pH cutâneo são derivadas de estudos em humanos e roedores. Moléculas que contribuem para a acidez da pele incluem produtos derivados do suor, do sebo e do estrato córneo. Pode-se citar: produtos de decomposição da filagrina (ácido urocânico, ácido carboxílico, pirrolidona); aminoácidos e alfa-hidroxiácidos (ácidos láctico e butírico) derivados do suor; lipídeos ácidos, como o sulfato de colesterol e os ácidos graxos livres. Estes últimos são produzidos a partir das secreções sebáceas, pela degradação bacteriana do sebo, ou sintetizados pela epiderme a partir de fosfolipídeos durante a diferenciação terminal dos queratinócitos. Moléculas que aumentam a alcalinidade da pele também estão presentes, como a amônia, o bicarbonato e o dióxido de carbono (MATOUSEK; CAMPBELL, 2002).

2.2 CAVIDADE BUCAL E DENTES

A cavidade oral executa função primordial no sistema digestório. Sua principal função consiste em apreender e triturar os alimentos através da mastigação. A boca inclui: os lábios; cavidade oral e suas paredes; língua; dentes e glândulas salivares (HORST; HANS-GEORG, 2016). Na cavidade bucal se inserem os dentes, que são estruturas localizadas nos alvéolos dos ossos incisivos, do osso maxilar e da mandíbula. O dente consiste em: coroa, raiz, esmalte, dentina, cemento e polpa (sistema endodôntico), tecidos esses que estão sujeitos às alterações metabólicas tóxicas e infecciosas (GUEDES; NUNES, 2006).

O periodonto é o conjunto de tecidos integrados que sustentam e protegem o dente, os quais consistem em: gengiva (periodonto de proteção); osso alveolar; cemento e o ligamento periodontal (periodonto de sustentação) (DEBOWES, 2004). A gengiva é a parte da mucosa mastigatória que cobre o processo alveolar e circunda a porção cervical dos dentes, forma-se um revestimento em torno de cada dente e divide-se em gengiva livre, que se adapta perfeitamente a superfície do dente, e gengiva inserida, firmemente aderida ao periosteio subjacente ao osso alveolar (GORREL et al., 2004; LINDHE; LANG; KARRING, 2010). A gengiva está fixada ao dente por meio do epitélio juncional (EJ), o qual se fixa ao esmalte dentário. Em processos patológicos à medida que o osso é lesionado e, por conseguinte, reabsorvido, há formação de bolsa periodontal, entre o dente e o osso, pois o epitélio juncional migra em direção apical (GORREL, 2010). O osso alveolar no qual estão inseridos os dentes, é formado pelas cristas dos ossos da mandíbula ou maxila que sustentam os dentes. Desenvolve-se durante a erupção dentária e sofre atrofia quando os dentes caem, além de sofrer influências externas e sistêmicas (DEBOWES, 2004). O cemento radicular é um tecido avascular, não inervado, mineralizado, altamente especializado, que recobre, por aposição de camadas, a dentina radicular e que fixa às fibras do ligamento periodontal a raiz do dente (LANZA; HENRIQUES; MARTINS, 2003). O ligamento periodontal é um importante componente do periodonto de sustentação, formado por tecido conjuntivo frouxo, ricamente vascularizado e celular, que circunda as raízes dos dentes e une o cemento radicular à lâmina dura ou ao osso alveolar. Funciona como um ligamento suspensor para os dentes e está em permanente atividade fisiológica (LINDHE; LANG; KARRING, 2010).

A doença periodontal (DP) é a patologia mais comum da cavidade oral de cães e, se inicia pelo acúmulo de micro-organismos na superfície dos dentes, podendo progredir até os tecidos de sustentação que formam o periodonto. A DP pode apresentar diversos graus de inflamação e de infecção dos tecidos bucais, causando dor, sendo a halitose, o principal sintoma clínico da doença. Gengivite, com formação de edema e sangramento, também pode estar associada à DP. Eventualmente, pode haver perda do dente ou fratura da mandíbula ou maxila,

além do surgimento de efeitos sistêmicos, com comprometimento cardíaco, hepático e urinário (GARCIA et al., 2008; GORREL et al., 2004). A prevalência da DP aumenta com a idade e atinge cerca de 80% dos cães com mais de cinco anos. Considera-se que a DP é a principal causa de perdas dentárias nos animais de companhia, sendo também responsável por diminuir a qualidade de vida dos pequenos animais (WILLIAMS, 1997).

A região bucal dos cães se caracteriza como um ambiente úmido, hidratado pela presença de saliva, um fluido constantemente produzido e removido da cavidade oral. A saliva tem o papel de iniciar a digestão enzimática dos alimentos na cavidade oral no momento da mastigação, além de regular o pH dos alimentos, umidificar, amaciar e formar o bolo alimentar, tornando mais fácil a sua digestão. Ainda, a saliva auxilia na limpeza mecânica dos dentes em função da presença de imunoglobulinas (A e G) e enzimas que inibem a ação bacteriana (lisozima, peroxidase e lactoferrina). O valor do pH da saliva nos cães é de cerca de 9,0 (alcalina). Além da constante produção e remoção de saliva, os cães são estimulados a mastigarem alimentos duros com frequência, uma vez que a abrasão física entre estes e os dentes, permite a limpeza da superfície dentária, contribuindo para a remoção mecânica da placa bacteriana e controle da doença periodontal (PAIVA, 2007).

O início da doença periodontal se dá pelo acúmulo de placa bacteriana sobre a superfície dentária, na qual induz a resposta inflamatória nos tecidos gengivais. A formação da placa dental acontece pela formação do biofilme, este é composto por colônias de bactérias e seus subprodutos, componentes salivares e células epiteliais. O acúmulo de placa dental acontece logo após a higienização da superfície dentária e ocorre primariamente na região supragengival e progredindo para região subgengival, na qual estende-se para a parte interna do suco, e a não remoção promove aderência e acúmulo de mais micro-organismos e células inflamatórias. A placa que se encontra associada com a gengiva saudável é composta, predominantemente, por bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas. Com o estabelecimento da gengivite, a placa estende-se subgengivalmente. Os micro-organismos aeróbios consomem o oxigênio existente, criando um ambiente com baixa disponibilidade de oxigênio, tornando-o mais propício ao crescimento de espécies anaeróbias. O aparecimento de microrganismos anaeróbios não descarta a presença de microrganismos aeróbios, porém a relação aeróbios/anaeróbios diminui. Logo a microbiota subgengival associada à periodontite é predominantemente anaeróbia e consiste em *Porphyromonas* spp., *Prevotella* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Fusobacterium* spp. e espiroquetas (GARCIA et al., 2008; GORREL; BIERER, 1999). Bactérias das espécies *Bacteroides asaccharolyticus* e *Fusobacterium nucleatum* são comumente encontradas (SYED; SVANBERG; SVANBERG; SVANBERG, , 1981).

Dentre os fatores predisponentes da patologia, cabe destacar a raça, a idade, a dieta, a mastigação e o estado de saúde do animal. Entretanto, o acúmulo da placa bacteriana na superfície dos dentes é a principal causa da DP. A placa dentária, por sua vez, pode ser caracterizada como um biofilme que se forma sobre a superfície do esmalte do dente e por toda a boca, sendo caracterizada como um material amarelado e pegajoso e constituída por diversos micro-organismos. Restos de alimentos não removidos podem se associar ao biofilme formando a matéria alba (CAVALCANTE et al., 2002; SANTOS; CARLOS; ALBUQUERQUE, 2012). Os metabólitos oriundos do metabolismo dos alimentos pelos micro-organismos, especialmente, os sulfurosos, são os responsáveis pela halitose característica da DP (CORRÊA; VENTURINI, 1996).

O tratamento da DP se baseia na eliminação da placa bacteriana, consistindo em impedir a progressão da doença. Entre as principais medidas destacam-se a remoção física do biofilme associada ao uso de agentes de limpeza como os colutórios contendo antissépticos e dentifrícios e, o tratamento farmacológico sistêmico com antimicrobianos, em casos mais severos. A escovação dos dentes dos cães deve ser realizada diariamente, com dentifrícios contendo zinco, hexametáfosfato de sódio e enzimas (tiocianato, peroxidase, glico-oxidase), capazes de desestabilizar as ligações químicas existentes no biofilme e inibir a adesão da placa ao dente. O uso regular de antissépticos também é recomendável (CORRÊA; VENTURINI, 1996; GORREL, 2010). Apesar de já ter sido demonstrado que a escovação diária é o meio mais eficaz para remover a placa dentária e diminuir a possibilidade de ocorrer gengivite e a DP, somente cerca de 2% dos proprietários de PETs nos Estados Unidos, praticam a escovação dental em seus animais, regularmente (AAHA, 2003). Não foram encontrados relatos semelhantes no Brasil.

3 PRINCIPAIS PRODUTOS DE HIGIENE E BELEZA DE USO ANIMAL

3.1 XAMPUS

A pele e os pelos acumulam impurezas, tais como a oleosidade produzida pelas glândulas sebáceas, células mortas descamadas e sujidades do meio ambiente. Os pelos sujos perdem brilho e adquirem odor desagradável. Os xampus devem ser elaborados de forma a ter um poder detergente capaz de eliminar as sujidades, porém respeitando o conteúdo graxo e a fisiologia da pele do animal. É necessário proporcionar além da limpeza do pelame e do tegumento, também maleabilidade, brilho e odor agradável aos pelos. Os xampus veterinários

devem ainda ser atóxicos, não-irritantes, facilmente removíveis e enxaguáveis a fim de não deixar resíduos (LARSSON; LARSSON-JUNIOR, 2011; MAKINO et al., 2014).

Portanto, ao desenvolver a formulação de um xampu, deve-se considerar características desejáveis como detergência, formação de espuma, viscosidade adequada, pH fisiológico, boa remoção por enxague (solubilidade em água), baixa agressividade aos pelos e pele, baixa irritabilidade aos olhos. Os componentes utilizados são: água deionizada (veículo), tensoativos (agentes de limpeza), estabilizadores de espuma, sobre-engordurantes, espessantes (agentes de viscosidade), reguladores de pH, conservantes, quelantes, corantes, fragrâncias, agentes opacificantes, aditivos como silicones, proteínas e extratos vegetais (CORREA, 2012; LARSSON; LARSSON-JUNIOR, 2011; SOUZA et al., 2015). A escolha dos diferentes componentes e de suas concentrações é feita considerando as características desejadas para o produto final.

Os tensoativos são os principais componentes dos xampus, uma vez que são os responsáveis pela ação de limpeza. Também proporcionam formação de espuma e conferem espessamento à formulação. Eles têm a capacidade de diminuir a tensão superficial da água, proporcionando um contato maior entre a água e o substrato a ser limpo, facilitando a remoção de sujidades. Além disso, suas moléculas possuem uma parte apolar, com afinidade por substâncias graxas e uma parte polar, com afinidade pela água. Portanto, são capazes de ligar-se tanto a água como a substâncias oleosas, removendo a gordura dos pelos e pele, que é eliminada através do enxague com a água. Existem vários tipos de tensoativos, que proporcionam diferentes graus de detergência, viscosidade, agressividade aos cabelos e irritabilidade aos olhos. Os tensoativos aniônicos (possuem carga negativa) são os mais utilizados, sendo atualmente representados principalmente pelo lauril éter sulfato de sódio e pelo lauril éter sulfo-succinato de sódio. Possuem alto poder de detergência e de formação de espuma, porém são irritantes para os olhos. Enquanto os tensoativos anfóteros (possuem carga positiva ou negativa, dependendo do pH do meio) apresentam menor detergência e espuma, porém proporcionam baixa irritabilidade para os olhos (BARBOSA; SILVA, 1995). Buscando equilibrar essas características, usualmente os xampus combinam tensoativos aniônicos e anfóteros. Exemplos de tensoativos anfóteros são os cocoanfocarboxiglicinatos e as cocoamidopropilbetaínas. Estas últimas podem ser usadas como co-tensoativos, conferindo ao xampu efeito estabilizador de espuma e aumento da viscosidade, além de proporcionar condicionamento aos cabelos. Também podem ser utilizados tensoativos não iônicos (carga neutra), por exemplo os alquilpoliglicosídeos. Como possuem menor detergência e são pouco espumógenos, em geral são utilizados como co-tensoativos, com funções de aumentar a

viscosidade, estabilizar a espuma e amenizar a irritabilidade aos olhos. As alcanolamidas de ácidos graxos de coco, como a dietanolamida de ácido graxo de coco, são co-tensoativos não iônicos utilizados com as funções de aumentar a solubilidade do tensoativo principal, a viscosidade do xampu e proporcionar efeito sobre-engordurante aos cabelos (CORREA, 2012; SOUZA et al., 2015).

Os xampus para uso veterinário devem observar as particularidades dos animais. Via de regra é recomendada a utilização de tensoativos mais suaves, a fim de evitar problemas como ressecamento da pele e até queda da pelagem, além de coceiras e escamação. Podem ser utilizados aditivos, como alfa bisabolol (anti-inflamatório e calmante), alantoína (cicatrizante), além de opções hidratantes como pantenol, glicerina, PCA-Na ou mesmo um polímero hidratante. As fragrâncias devem ser utilizadas com cuidado, pois o olfato dos animais é mais sensível que o nosso, principalmente o do cão. Os corantes devem ser evitados, pois podem causar alergias. É preciso considerar as características particulares de cada espécie, utilizando-se xampus que se adequem ao comprimento e tipo de pelos, bem como às características de sua pele quanto à sensibilidade. Cuidado especial deve ser observado em relação aos produtos para felinos. O uso de xampus, condicionadores, ou qualquer outro produto que deixe vestígios no pelo, precisa ser criterioso, devido aos riscos de causar alergias ou intoxicações, pelo hábito frequente do gato em se lamber. Como já mencionado no item 3 deste capítulo, é importante que os xampus não modifiquem o pH natural da pele dos animais, de modo a não interferir na microflora e na função de barreira cutânea. Preconiza-se que os xampus devem possuir pH neutro ou levemente ácido, se aproximando do pH fisiológico (GONÇALVES, 2016).

Ao contrário dos produtos desenvolvidos para humanos, os produtos de higiene e limpeza veterinários não são regulamentados com relação à verificação de segurança e tolerância. Portanto, os fabricantes são livres para definir os padrões de qualidade e as composições qualitativas e quantitativas dos produtos dependem da responsabilidade do fabricante. Petit et al., (2017) avaliaram o desconforto ocular causado por xampus comerciais caninos, verificando que todos os xampus veterinários avaliados induziram alguma irritação da mucosa ocular, com desconforto leve a grave, devidos provavelmente ao tensoativo mais comumente utilizado nessas formulações, o lauril éter sulfato de sódio. Makino e colaboradores (2014) analisaram o pH de 65 xampus caninos (40 cosméticos e 25 terapêuticos) encontrando 10,8% dos xampus com pH entre 3 e 4, o que pode provocar irritação cutânea; 69,2% apresentaram pH entre 5 e 6, considerados ligeiramente ácidos; e por último, 20% dos xampus apresentaram pH 7, o que não interfere na microbiota cutânea. Mattos e Lima (2015) analisaram o pH de 74 xampus veterinários cosméticos e terapêuticos, encontrando valores aceitáveis de

pH entre 6,1 e 7,7 na maioria das amostras (67,5%). Dlujnewsky e Javier (2014) realizaram medição do pH de 36 xampus caninos cosméticos, verificando uma faixa de pH entre 3 e 7, sendo que a maioria das amostras (77,7%) apresentou pH 7, adequado para uso animal. Na análise de 14 xampus terapêuticos, ou seja, contendo substâncias com ação farmacológica, os autores verificaram valores de pH entre 3 e 9, sendo que 42,8% das amostras apresentaram pH 6 (levemente ácido) e somente 28,7% apresentaram pH 7. As faixas mais amplas de pH encontradas para os xampus terapêuticos podem ser explicadas pelo fato de que muitos ativos alteram a faixa de pH do xampu, tanto por suas características ácidas ou básicas, como pela necessidade de adequar o pH da fórmula a fim de solubilizar o ativo ou proporcionar maior estabilidade do mesmo na fórmula. Os resultados desses estudos apontam para a necessidade de uma maior regulamentação sobre esse tipo de produto, a fim de disponibilizar ao consumidor xampus mais adequados às características de pH e sensibilidade de cada espécie.

Banhos secos são alternativas que visam evitar a trabalhosa secagem dos animais de pelame longo, sendo feito através do uso de produtos especiais, comercializados em lojas e estabelecimentos especializados, a exemplo de talcos e de pós contendo ácido bórico, que devem ser polvilhados por sobre o corpo e, a seguir, removidos. Visa-se, assim, obter certa limpeza e brilho. Contudo, deve ser empregado em situações especiais quando se necessita de uma rápida e superficial limpeza cosmética. O banho seco na verdade é totalmente ineficiente e não substitui o banho tradicional, pois corriqueiramente se denota um aumento na eletricidade estática do pelame, assim como evidente ressecamento (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2011). Após a limpeza, produtos condicionantes e desembaraçantes, com ou sem enxágue, devem ser utilizados.

3.2 CONDICIONADORES

Os emaranhados de pelos e os nós, são problemas comuns em animais de pelagem média e longa. Os produtos condicionantes ou desembaraçantes de pelos prometem, de forma rápida, indolor e eficaz, ajudar a desembaraçar e desfazer os nós presentes na pelagem, perfumar e ainda promover maciez e brilho aos pelos, facilitando a tarefa de escovar o animal e evitando também que se formem novos emaranhados e nós. Após o banho, principalmente em animais de pelame seco, mantidos em ambientes de baixa umidade relativa ou submetidos à constante escovadura, tem-se um incremento de carga elétrica negativa. Isto gera, em pelos adjacentes carregados isoeletricamente, o fenômeno de eriçamento (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2011). Os condicionadores têm como objetivos reduzir a eletricidade estática, evitando o

ericação e o emaranhamento piloso; encorpar o pelame; suplementar o pelame com óleos e ácidos graxos; carrear e liberar bases medicamentosas no tegumento através de veículo que não é removido pelo enxágue; e promover o brilho da pelagem (SPINOSA; GÓRNIAK; BERNARDI, 2011).

Os condicionadores são emulsões catiônicas formadas por tensoativos, agentes de estabilização, álcoois graxos, emolientes, umectantes, fragrância, quelantes e conservantes, que conferem aos pelos maciez, restauração, brilho e hidratação, entre outros atributos (AMARILIAN; FERNANDEZ, 2018). Estes produtos contêm surfactantes catiônicos (carregados positivamente) que neutralizam a carga elétrica negativa dos pelos, especialmente após a lavagem com xampus baseados em tensoativos aniônicos. Por serem dotados de componentes oleosos, propiciam um pelame luzidio, assentado e penteável (SPINOSA; GÓRNIAK; BERNARDI, 2011).

O tensoativo catiônico é o agente principal desse tipo de formulação, pois é adsorvido pela superfície dos pelos, garantindo a repulsão eletrostática entre eles, o que origina a sensação de maciez. Os tensoativos mais utilizados em condicionadores são os sais de quaternário de amônio, como o cloreto de cetrimônio, o cloreto de berrentrimônio, o metossulfato de berrentrimônio, a estearamidopropil dimetilamina e, mais recentemente, o éster quat. São funções dos tensoativos catiônicos: diminuir a tensão superficial da água, atuar como bactericidas e auxiliar na estabilidade da emulsão, além de ter ação condicionante dos pelos, por aderirem-se às fibras dos pelos (AMARILIAN; FERNANDEZ, 2018).

3.3 PRODUTOS DE HIGIENE ORAL

A saúde oral é uma importante preocupação veterinária em razão da alta prevalência de afecções dentárias e de doenças periodontais, sobretudo nos cães. A escovação dos dentes é recomendada para os PETs, mas dificilmente há aceitação da atividade por parte dos mesmos. Logo, surge a necessidade do desenvolvimento de produtos farmacêuticos de uso oral com ação antimicrobiana local eficaz e que proporcionem uma fácil administração e boa aceitação por parte do paciente. As bactérias que colonizam a mucosa bucal se reproduzem e acumulam sobre a superfície dentária, formando um biofilme que origina o tártaro posteriormente (ROSAN; LAMONT, 2000).

Em se tratando de produtos de higiene oral destinados ao uso veterinário, existem diversas alternativas de mercado, desde pastas dentais, brinquedos mastigáveis e produtos naturais. Produtos desenvolvidos exclusivamente para higiene oral contêm, em sua maioria,

agentes antibacterianos em sua formulação. No entanto, também existem as tiras e brinquedos de mastigação que desagregam as colônias bacterianas apenas através do atrito (GALLAGHER, 2013).

Segundo Quest (2013), ofertar petiscos mastigáveis (*dental chews*) para os cães é uma alternativa viável para os donos que querem realizar a profilaxia bucal em seus cães, já que estes podem conter sabor e odor agradáveis, promovendo fácil aceitação. Pomadas denominadas orabases se configuram como alternativas viáveis para uso na higienização da cavidade bucal, uma vez que são de fácil dispersão, se aderem ao local de aplicação, podem conter flavorizantes que melhoram a adesão dos cães ao uso do produto e, podem veicular fármacos com diferentes atividades, tais como antifúngicos, anti-inflamatórios, antimicrobianos, anestésicos e eletrólitos, entre outros. Possuem também capacidade mucoprotetora, atuando como barreira física em caso de presença de úlceras orais (PRIPREM et al., 2014)

As pastas dentais enzimáticas para cães, em sua maioria, contêm enzimas como glicose oxidase e lactoperoxidase, que são produtoras de peróxido de hidrogênio, uma substância com potencial bactericida (BANKAR et al., 2009). Segundo Hennet (2002), o gluconato de clorexidine sob a forma de gel é eficiente em reduzir o acúmulo de placa dentária em cães em curto prazo, podendo ser benéfico na melhora de quadros de gengivites e doenças periodontais, se utilizado em longo prazo. Em relação à utilização de produtos naturais, Dias e colaboradores (2015) descreveram a eficácia de uma pasta dental para cães à base de hidróxido de cálcio, com veículo a base de óleo de copaíba. De acordo com os resultados encontrados pelos autores, a pasta com óleo de copaíba teve eficácia antimicrobiana similar àquela preparada com base de solução fisiológica, sendo ambas igualmente eficazes na prevenção da contaminação oral e na formação de ponte dentinária. Independente do método e dos produtos escolhidos para a higiene oral, a escovação dos dentes deve ser realizada sempre que possível a fim de evitar o aparecimento de doenças periodontais e manter a saúde dos dentes e gengivas dos PETs.

3.4 REMOVEDORES DE CERÚMEM

A otite canina é um dos principais motivos de consultas a médicos veterinários devido ao grande desconforto físico causado nos pacientes (LEITE, 2000). Variadas sacudidas da cabeça, prurido, dor, odor e exsudação são sinais clínicos associados à otite externa (NEVES et al., 2012). As características anatômicas da orelha externa dos cães favorecem a proliferação

de micro-organismos (MUELLER et al., 2013): esses animais possuem um canal auditivo estreito e curvo, com excesso de pelos e, orelhas pendulares em algumas raças (GREENE, 2006; GRIFFIN, 2006; HARVEY; HARARI; DELAUCHE, 2004; MACTAGGART, 2008).

Um dos principais causadores de otite externa em cães e gatos, conhecida como otoacariase, é o ácaro *Otodectes cynotis* transmitido por contato direto, sendo altamente contagioso (LUZ et al., 2014; SOUZA et al., 2006). Ácaros produtores de sarna como a *Demodex* sp., *Sarcoptes scabiei* e *Notoedres cati*, carrapatos ixodídeos, como o *Rhipicephalus sanguineus*, também são causadores de otite em animais de companhia (LUZ et al., 2014).

Para o tratamento das otites em cães, além da aplicação de medicamentos tópicos associados ou não à terapia sistêmica, faz-se necessário realizar a limpeza frequente do canal auditivo com ceruminolíticos (FARIAS, 2002; GREENE, 2006; HARVEY; HARARI; DELAUCHE, 2004; JACOBSON, 2002). A função destas soluções, denominadas otológicas, não é reduzir a quantidade de micro-organismos, presentes no local, porém reduz os sinais clínicos de otite externa, principalmente mau cheiro na concha acústica e quantidade de cerume na otoscopia (MUELLER et al., 2013). Geralmente, os ceruminolíticos ou removedores de cerúmem, são soluções otológicas aquosas contendo elevado teor de glicerina ou propilenoglicol, excipientes que doam viscosidade ao veículo. Componentes convencionais como conservantes, antioxidantes e complexantes são utilizados. Os ceruminolíticos podem ser acrescidos de extratos vegetais como a tintura de calêndula, *Aloe vera*, zerdoária, tília, entre outras. Óleos essenciais e fármacos sintéticos como o ácido láctico e/ou salicílico também podem ser incorporados. No caso da adição de fármacos, pode-se preparar a forma farmacêutica gel que, por sua consistência mais elevada será mais difícil a remoção, permanecendo maior tempo em contato com o local de aplicação.

3.5 SOLUÇÃO LIMPA LÁGRIMAS

Cães das raças *poodles* miniatura e *toy*, assim como os malteses são comumente afetados pela síndrome da mancha lacrimal, que é o acometimento por manchas amarronzadas em pelos e pele ao redor do canto medial do olho causado por constante epífora, segundo Slatter e colaboradores (2005). Esse problema é mais evidenciado em cães de pelagem clara, pois o pelo e a pele na região nasal e ventral da pálpebra sofrem alteração de coloração (PETERSEN-JONES, 1994). Slatter e colaboradores (2005) descrevem também que a mancha pode decorrer da presença de pigmento semelhante às lactoferrinas na lágrima. Além disso, alterações como conjuntivite, prolapso da terceira pálpebra (HERRERA, 2008) e outras alterações causam essas

descargas aquosas, como pregas nasais proeminentes, entrópio, distúrbios dos cílios, dermatite alérgica a inalantes, que em gatos principalmente da raça persa apresenta maior frequência, por causa da obstrução do ducto nasolacrimal (SLATTER et al., 2005). Por outro lado, de acordo com Gussoni e Barros (2003), o pH ácido da lágrima não é responsável pela mancha colorida junto à região nasal do cão, sendo a terminologia “lágrima ácida”, considerada inadequada. Essa mancha fica ao redor dos olhos, principalmente no canto nasal e chama atenção dos proprietários desses animais, que constantemente buscam uma solução, podem acarretar problemas dermatológicos na região (READ et al., 1996). De acordo com Gussoni e Barros (2003) há relação entre alguns princípios ativos de medicamentos com a diminuição da mancha colorida junto à região nasal. Com isso a utilização de produtos para limpeza e clareamento dessas áreas tem sido fonte de estudos e aplicação.

Assim como os ceruminolíticos, as formulações ditas limpa lágrimas, são soluções preparadas mediante isotonização e tamponamento de veículos aquosos, com o intuito de não causar irritação local. Podem conter glicerina e espessantes, como a hidroxipropilmetilcelulose, além de conservantes de uso oftálmico e EDTA. Fármacos como o extrato de camomila e hamamélis podem ser incorporados às soluções.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Um bom resultado na escolha dos produtos para a higiene e embelezamentos dos animais depende, além da escolha adequada da formulação, do conhecimento dos parâmetros fisiológicos do local de aplicação, como a constituição da pele e dos pelos, do pH e da microbiota natural. Ainda, faz-se importante que as diferentes opções de produtos sejam conhecidas e que exista cooperação entre médicos veterinários e farmacêuticos, com o objetivo de escolher o melhor produto, com vistas à obtenção de uma fórmula farmacêutica que otimize os cuidados do animal.

5 REFERÊNCIAS

AAHA – American Animal Hospital Association. **The path to high quality care: practical tips for improving compliance.** 2003.

AMARILIAN, L. FERNANDES, C. R. Condicionadores. **Cosmetics & Toiletries**, v. 30, p. 28-30, 2018.

ABINPET - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO. **Dados de Mercado**. Disponível em: <<http://abinpet.org.br/site/mercado/>>. Acesso em 11 de jun. 2018.

BANKAR, S. B. et al. Glucose oxidase – an overview. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 4, p. 489-501, 2009.

BARBOSA, A. B.; SILVA, R. R. Xampus. **Química Nova na Escola**, v. 2, p. 3-6, 1995.

BRASIL. **Resolução da diretoria colegiada RDC nº 79 de 28 de agosto de 2000**. Brasília: ANVISA. 2000.

CAVALCANTE, C. Z. et al. Doença periodontal em cães: anatomia, etiologia e fisiopatologia. **Revista Nosso Clínico**, v. 29, n. 5, p. 8-12, 2002.

CORREA, M. A. **Cosmetologia ciência e técnica**. São Paulo: Medfarma, , 2012. 492 p.

CORRÊA, H. L.; VENTURINI, M. A.F. A. Cálculo dentário subgingival. **Clínica Veterinária**, v. 1, n. 5, p. 6-7, 1996.

DEBOWES, L. J. Problems with the gengiva. In: NIEMIEC, B. A. **Small animal dental oral and maxillo facial disease, a color handbook**, London: Manson, 2010. p. 159-181.

DIAS, F. G. G. et al. Endodontics pastes formulated with copaiba oil: action on oral microbiota and dentin bridge formation in dogs. **Ciência Rural**, v. 45, n. 6, p. 1073-1078, 2015.

DLUJNEWSKY, M. V, JAVIER, H. Medición de pH en champús y jabones, nacionales e importados destinados al uso en perros disponibles en Venezuela. **Revista del Colegio del Médicos Veterinarios del Estado Lara**, v. 7, n.1, jan.-jun, 2014.

FARIAS, M. F. Terapêutica otológica. In: ANDRADE, S. F. **Manual de terapêutica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca. 2002.

GALLAGHER, L. The effect of dental products and natural chews on canine oral bacteria. **Letters in General Microbiology**, v. 1, p. 1-4, 2013.

GARCIA, C. Z. et al. Doença periodontal em cães. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 11, p. 1-11, 2008.

GONÇALVES, V. Cosmética – aliada ao bem estar. **Revista Anfarmag**, v. 23, n. 108, p. 30-31, 2016.

GORRELL, C.; BIERER, T. L. Long term effects of a dental hygiene chew on the periodontal health of dogs. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 16, p. 109-113, 1999.

GORREL, C. et al. **Doença Periodontal no Cão**. Ed. Especial. Paris: Aniwa Publishing. 2004.

GORREL, C. **Odontologia em Pequenos Animais**. Série Clínica Veterinária na Prática. Rio de Janeiro: Elsevier. 2010.

GREENE, C. E. Otitis externa. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3. ed.: Missouri: Saunders Elsevier, 2006. p. 815-823.

GRIFFIN, C. E. Otitis techniques to improve practice. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 21, p. 96-105, 2006.

GUEDES, R. M. C.; NUNES, V.A. Patologias do Sistema Digestivo. In: SERAKIDES, R. **Caderno didático: Patologia Veterinária**. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2006. p. 269-318.

GUSSONI, F. R. A.; BARROS, P. S. M. Epífora no cão: mensuração do pH da lágrima. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, p. 87-94, 2003.

HARVEY, R. G.; HARARI, J.; DELAUCHE, A. J. **Doenças do ouvido de cães e gatos**. Rio de Janeiro: Revinter. 2004.

HENNET, P. Effectiveness of a dental gel to reduce plaque in beagle dogs. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 19, n. 1, p. 11-14, 2002.

HERRERA, D. H. Enfermidades palpebrais. In: _____. **Oftalmologia clínica em animais de companhia**. São Paulo: MedVet. 2008. p. 115-225.

HORST, E. K.; HANS-GEORG, L. **Anatomia dos Animais Domésticos - Texto e Atlas Colorido**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed. 2016.

JACOBSON, L. S. Diagnosis and medical treatment of otitis extern in dogs and cats. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 73, n. 4, p. 162-170, 2002.

LANZA, M. D.; HENRIQUES, S. E. F.; MARTINS, F. F. Limites cervicais dos preparos de dentes com finalidade restauradora. In: HENRIQUES, S. E. F. **Reabilitação oral: filosofia, planejamento e oclusão**. São Paulo: Santos. 2003.

LARSSON, C. E.; LARSSON-JUNIOR, C. E. Farmacologia dermatológica. In: SPINOSA, H. S. et al. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Kogan. 2011.p. 673-681.

LEITE, C. A. L. As otites de cães e gatos. Parte 1 – Epidemiologia. **Cães e Gatos**, v. 15, p. 22-26, 2000.

LINDHE, J.; LANG, N. P.; KARRING, T. **Tratado de periodontia clínica e implantologia**. Oral. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2010.

LUCAS, R. Semiologia da pele. In: FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária – A Arte do Diagnóstico**. 2. ed. São Paulo: Roca, p. 581-612, 2008.

LUZ, G. P. et al. Avaliação da eficácia da associação de tiabendazol, sulfato de neomicina, dexametasona e cloridrato lidocaína no tratamento da otoacariase. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 12, n. 4, p. 260-269, 2014.

- MACTAGGART, D. Assessment and management of chronic ear disease. **Practice**, v. 30, p. 450-458, 2008.
- MAKINO et al. Valores de pH de xampus de uso em cães. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 19, p. 1869-1884, 2014.
- MATOUSEK, J. L.; CAMPBELL, K. L. A comparative review of cutaneous pH. **Veterinary Dermatology**, v. 13, p. 293-300, 2002.
- MATTOS, V. LIMA, M. Avaliação do pH de xampus de uso veterinário no Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 13, n. 3, p. 1869-1884, 2015.
- MUELLER, E. N. et al. Efeito auxiliar do ceruminolítico na terapia tópica de cães (*Canis lupus familiaris*) com otite externa ceruminosa. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, n. 1, p. 59-64, 2013.
- NEVES, R. C. S. M. et al. Efeito acaricida do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* sobre *Otodectes cynotis*. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 19, n. 3, p. 144-148, 2012.
- PAIVA, A. C. Coadjuvantes de higiene bucal na alimentação de cães. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 5, p. 1177-1183, 2007.
- PETERSEN-JONES, S. M. The differential diagnosis and treatment of wet eye in dogs. **Veterinary Annuary**, v. 34, p. 201-210, 1994.
- PETIT, J. Y. et al. Assessment of ocular discomfort caused by 5 xampus using the slug mucosal irritation test. **Toxicology in vitro**, v. 40, p. 243-247, 2017.
- PINHO, R.; MONZÓN, M. F.; SIMÕES. Veterinária em animais de companhia: (I) a pele e seus aspectos relevantes na prática clínica. **Jornal de Dermatologia**, v. 5, n. 1-2/2, p. 1-26, 2003.
- PRIPREM, A. et al. Effect of polymeric combinations on mucoadhesive and swelling properties of orabase gel formulations. **Advanced Materials Research**, v. 853, p. 3-8, 2014.
- QUEST, B. W. Oral health benefits of a daily dental chew in dogs. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 30, n. 2, p. 84-87, 2013.
- READ, R. A. et al. A histological study of nictitans glands from dogs with tear overflow of unknown cause. **Veterinary and Comparative Ophthalmolog**, v. 6, n. 3, p. 195-204, 1996.
- ROSAN, B.; LAMONT, R. J. Dental plaque formation: microbes and infection. **Institute Pasteur**, v. 2, n. 13, p. 1599-1607, 2000.
- SANTOS, N. S.; CARLOS, R. S. A.; ALBUQUERQUE, G. R. Doença periodontal em cães e gatos- revisão de literatura. **MEDVEP- Revista Científica de Medicina Veterinária. Pequenos Animais e Animais de Estimação**, v. 10, n. 32, p. 631-637, 2012.

SLATTER, D. Sistema Lacrimal. In: SLATTER, D. **Fundamentos de oftalmologia veterinária**. 3.ed. São Paulo: Roca. 2005.

SOUZA, A. A. et al. Preparações Cosméticas para Cabelos. In: LEONARDI, G. R.; SPERS, V. R. E. **Cosmetologia & Empreendedorismo – Perspectivas para Criação de Novos Negócios**. São Paulo: Pharmabooks. 2015. p. 151-178.

SOUZA, C. P. et al. Eficácia do diazinon em uma formulação de uso otológico no tratamento da sarna otodécica em cães. **Parasitology Latinoamericana**, v. 61, p. 176-178, 2006.

SPINOSA, H. de S.; GÓRNIAC, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

SYED, S. A.; SVANBERG, M.; SVANBERG, G. The predominant cultivable dental plaque flora of beagle dogs with periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 8, n. 1, p. 45-56, 1981.

WILLIAMS, R. C. Odontologia. Afecção periodontal. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária. Moléstias do cão e do gato**. 4. ed. São Paulo: Manole. 1997. p. 1523-1524.



ISBN 978-85-54343-12-5